Dermatofitosis en Costa Rica.

I. Observaciones sobre 76 casos*

por

Grace G. de Mata y Leonardo Mata**

(Trabajo recibido para su publicación el 11 de Septiembre de 1959)

A las infecciones por dermatofitosis se les ha comenzado a dar, de unos años a esta parte, la importancia que realmente tienen, no sólo en el campo de la Micología Médica sino también en el de la Salud Pública.

No existe entre nuestros profesionales relacionados con la dermatología, un conocimiento detallado de las especies ocurrentes y predominantes en el territorio de Costa Rica, ni de su relación con los diversos cuadros clínicos o las conexiones epidemiológicas existentes entre el tipo de dermatofito y las áreas del cuerpo afectadas.

La revisión de la literatura existente en nuestro país nos ha indicado que fue Picado (29) en 1915 quien primero refirió dos casos de dermatofitosis, a juzgar por las fotografías de las lesiones y de las escamas de las mismas que muestran el micelio del hongo. A pesar de que no se identificó ninguna especie, la evidencia del material fotográfico nos basta para considerar estos casos como tiñas. Rotter (32) en 1934 presentó al Segundo Congreso Médico Centroamericano su informe "Micosis en Costa Rica" en el que menciona varios tipos clínicos de dermatofitosis (favus, herpes tonsurans y trichophytia) y la presencia de Achorion schoenleinii, Trichophyton tonsurans y Microsporum felineum en nuestro medio. Hasta la fecha no hemos observado favus ni comprobado la existencia de Trichophyton schoenleinii. En 1940 BOLAÑOS (5) comunicó 5 casos de tiña e incriminó al M. lanosum de ser el agente etiológico;

^{*} Trabajo realizado en el Laboratorio Bacteriológico del Hospital San Juan de Dios, Costa Rica.

^{**} Sección de Bacteriología, Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), Guatemala.

sugirió además que las dermatofitosis no eran frecuentes y que era posible que las infecciones provinieran de animales importados al país. Romero y Castro (30) en 1948, publicaron trece nuevos casos de tiña de la cabeza que fueron tratados con acetato de talio. Clínicamente reconocieron tres formas: "microspórica a pequeñas placas", "microspórica a grandes placas" y "a grandes placas de pelada"; en lo concerniente a la investigación micológica sólo se practicó examen directo demostrándose el parasitismo de tipo endotbrix. En 1953, Ruiz (33) comunicó un caso de tinea unguium producido por Microsporum gypseum aportando excelente material al conocimiento de nuestras dermatofitosis. Vietto (34) en 1955 realizó la primera investigación de un pequeño brote de tinea capitis entre escolares del Zapote (San José), encontrando cuatro casos de un mismo grupo escolar con parasitismo de los pelos tipo microsporum. Para concluir, Jiménez-Quirós (23) reporta haber observado un predominio alto de "pie de atleta" entre la población pre-universitaria, sin que se haya realizado hasta la fecha una investigación etiológica al respecto.

De la bibliografía revisada se desprende que poco se ha hecho sobre el tema en nuestro país, por lo que nuestra intención es comunicar algunas observaciones clínicas, epidemiológicas y micológicas en 76 pacientes tiñosos, con el fin de aportar material para el mejor conocimiento de las dermatofitosis en Costa Rica.

MATERIAL Y METODO

El estudio abarcó la observación de 76 pacientes positivos ya al examen directo del material de las lesiones, ya al cultivo, o con ambas condiciones a la vez. Los enfermos fueron enviados al Laboratorio por los médicos dermatólogos de las Consultas y Servicios del Hospital para su estudio. Los casos no fueron seleccionados adrede, sino que se tomaron todos los observados desde 1957 hasta marzo de 1959, descartándose aquellos que presentaron negativo el examen directo y el cultivo a la vez. En una fórmula especial se recogieron los siguientes datos: nombre, edad, sexo, localidad, ocupación; localización y edad de la infección; cuadro clínico, resultado del examen directo, del cultivo y otros datos que se consideraran de interés.

Como criterio de clasificación de las formas clínicas seguimos el enunciado por CONANT et al. (10), considerando, para efectos de tabulación en los casos en que se presentó más de una forma clínica, a uno de los cuadros como principal, de acuerdo con su gravedad o con referencias que obtuvimos del médico o del paciente mismo.

El examen directo se llevó a cabo removiendo las escamas o porciones de piel con bisturí y los pelos mediante pinzas pequeñas, aclarando el material con hidróxido de potasio al 10 por ciento y observando luego al microscopio. Tanto en los casos positivos como en los negativos al examen directo, se hizo rutinariamente un cultivo en agar Sabouraud y en agar actidiona-cloromicetina (1). Ocasionalmente se emplearon el agar bilis de buey de LITTMAN (25) y

el medio de GOLDMAN (21). Las placas sembradas con el material y selladas con tela adhesiva, se incubaron a la temperatura del laboratorio para ser observadas dos veces por semana y las colonias típicas o sospechosas se transplantaron a terreno fresco para su estudio definitivo. Las placas negativas se guardaron un máximo de 6 semanas.

La identificación final de los cultivos se hizo con base en la morfología colonial y microscópica y también mediante un estudio fisiológico cuando fue necesario. En ciertas ocasiones se usó el agar harina de maíz-dextrosa para incrementar la producción de pigmento por parte del *Trichophyton rubrum*, como recomiendan Bocobo y Benham (4), el medio de arroz (10) para inducir la esporulación de cultivos pleomórficos o en vías de pleomorfización y el agar mosto (11) para incrementar el desarrollo de esporas. Además se comparó el crecimiento de varias cepas en el agar harina de maíz y agar infusión de corazón-dextrosa. El estudio microscópico se realizó tomando una porción de una colonia para montarla en lactofenol y, cuando fue preciso, se hizo cultivo en lámina por la técnica de Rivalier y Seydel, en cuyo caso se inocularon tres láminas que se sacaron del frasco de Coplin a los 8, 15 y 22 días de incubación a la temperatura del laboratorio.

Las características fisiológicas de los cultivos se estudiaron siguiendo las recomendaciones que sobre este aspecto han hecho GEORG y CAMP (19) y GEORG (18). En lo que atañe al estudio del poder queratinolítico sobre pelo humano *in vitro*, se siguió la técnica de AJELLO y GEORG (2).

Finalmente, las cepas identificadas hasta especie se transplantaron a agar Sabouraud en pie y se cubrieron con aceite mineral estéril para su conservación en la micoteca (3).

RESULTADOS

OBSERVACIONES CLINICAS

Del total de 76 casos que presentaban uno o más cuadros clínicos definidos de tiña, se aislaron 64 cultivos de dermatofitos sin demostrarse ninguna infección mixta. No observamos *tinea imbricata, tinea favosa* ni *tinea barbae* v creemos que las dos primeras condiciones no se presentan en nuestro medio. La distribución de los casos de acuerdo con el cuadro clínico puede apreciarse en el cuadro 1.

TINEA CAPITIS. Se estudiaron 28 casos (36,8% del total) exclusivamente en niños, distribuídos principalmente en el sexo masculino (75%). La edad de los pacientes osciló entre 2 y 10 años y el período de evolución de la lesión se extendió entre los límites de 10 días y 3 años.

Del total, 19 niños manifestaron lesiones secas descamativas poco molestas, con o sin alopecia, de las que casi siempre se aisló *Microsporum canis* (figs. 1B, 1C). Seis niños presentaron lesiones keriónicas (*Kerion Celsi*), elevadas, supurantes, inflamadas y dolorosas, solas o en número de dos, abarcando áreas

CUADRO 1

Distribución de las formas clínicas en 76 pacientes con dermatofitosis

Cuadro clínico		mero casos
nea capilis		23
nea capitis + tinea corporis	- 14	5
nea corporis		17
inea corporis + tinea pedis		1
nea corporis + tinea cruris		3
inea corporis + tinea cruris + tinea u	ngnium	1
nea cruris		1
inea cruris + tinea unquium + tinea	corporis	1
inea cruris + tinea axillaris + ti <mark>ne</mark> a co	rporis	1
inea mamis	,04 2	3
inea pedis		2
inea pedis + tinea cruris		2
inea pedis + tinea manus	100	1
inea pedis + tinea unguium		1
inea pedis + tinea unguium + tinea :	nan11s	1
inea pedis + tinea cruris + tinea axill	aris	1
inea unguium		10
inea unguium + tinea corporis		1
inea unguium + tinea pedis + tinea m	anus + tinea corporis	1

de 2 a 5 cm. de diámetro (fig. 1A), y de las cuales se aislaron cuatro cepas de *Microsporum gypseum*, una de *Trichophyton rubrum* y una de *T. tonsurans*, esta última de un niño con lesiones en el cuerpo además de las de la cabeza. Los otros tres niños manifestaron lesiones "amiantiáceas" (asbestos-like tinea) que al cultivo dieron *Microsporum canis*, *Trichophyton tonsurans* y *T. verrucosum*. La tiña amiantiácea es una afección relativamente aguda que se-caracteriza porque las zonas afectadas exudan ligeramente, formándose costras de color blanco-amarillento, húmedas, "olorosas a ratón" como ocurre con la *tinea favosa*, pero perfectamente bien caracterizada y diferenciable de ésta. La tabulación del aspecto clínico con referencia al agente etiológico puede verse en el cuadro 2.

Correlación entre el agente etiológico y el cuadro clínico en 28 casos de tinea capitis

CUADRO 2

Cuadro clínico	N° de casos	Dermatofito	Nº de cepas	
tinea capitis descamativa con o sin alopecia	15	Microsporum canis	15	
tinea capitis "amiantiácea"	3	Microsporum canis Trichophyton tonsurans Trichophyton verrucosum	1 1 1	
tinea capitis keriónica	÷ 5	Microsporum gypseum Trichophyton rubrum	4	
tinea capitis keriónica + tinea corporis	1	Trichophyton tonsurans	1	
tinea capitis + tinea corporis	4	Microsporum canis Microsporum gypseum Trichophyton tonsurans	2 1 1	
TOTAL	28	()	28	

TINEA CORPORIS. Fue la forma clínica observada mayor número de veces (31 pacientes), tanto en hombres como en mujeres, existiendo toda una gama de variación en cuanto a gravedad, sin que lográramos comprobar ningún caso de diseminación a las capas profundas de la piel. El aspecto indicó por lo menos dos grupos generales de lesiones. Uno, el clásico descrito como tinea circinata (figs. 1D, 2A, 2C) que se distingue por tener bordes circinados, ligeramente levantados, eritematosos y bien delimitados; el otro corresponde a zonas o placas extendidas, grandes, con abundante descamación, bordes no eritematosos y planos (fig. 2B); el primer tipo generalmente es agudo, mientras que el segundo es crónico. Las especies identificadas fueron, de acuerdo con su frecuencia, Trichophyton rubrum, Microsporum gypseum, M. canis, T. tonsurans, T. verrucosum y T. mentagrophytes.

TINEA CRURIS. Se presentaron 10 casos, generalmente acompañados de otros cuadros clínicos. El aspecto varió ampliamente desde los tipos agudos, con placas de bordes eritematosos y pustulados, muy pruriginosos (fig. 2D) hasta los cuadros crónicos, con zonas extensas cubiertas de finas escamas (fig. 2E).

Los dermatofitos aislados fueron Trichophyton rubrum (5 casos), T. tonsurans, T. mentagrophytes var. "vellosa" y Epidermophyton floccosum (un caso de cada uno); en dos pacientes no se pudo determinar el agente.

TINEA AXILLARIS. Sólo se estudiaron dos casos, asociados ambos a tinea cruris y cuyas lesiones fueron semejantes clínicamente a las de esa entidad; se aisló Trichophyton rubrum.

TINEA MANUS. Tres pacientes manifestaron este cuadro como única afección, y tres más tenían otra u otras formas clínicas asociadas. Se aislaron cuatro cepas de *Trichophyton rubrum* y una de *Epidermophyton floccosum*, y de un caso no se cultivó el hongo. En este tipo de tiña se encontró compromiso de una o ambas manos (fig. 3C), generalmente en las zonas palmares y a veces en el dorso. La gravedad fue variable, pero en general los pacientes se quejaron de molestias.

Tinea pedis. Se estudiaron 10 casos, generalmente con otras localizaciones (tinea cruris, tinea unguium, etc.) además de la tiña de los pies. La mayoría fueron lesiones leves, del tipo hiperqueratósico crónico con períodos de atenuación y exacerbación (fig. 3D). En pocas oportunidades observamos casos agudos (fig. 3E) con maceración profunda, dolor acentuado y mal olor. La tinea pedis se presentó principalmente en adultos; el único niño afectado tenía tres años de edad y contrajo la enfermedad desde los 6 meses; de este caso se aisló una cepa de Trichophyton rubrum. Los hongos identificados fueron T. rubrum (4 cepas), T. mentagrophytes (dos) y Epidermophyton floccosum (una); en tres casos no se determinó el agente.

TINEA UNGUIUM. Se presentaron 16 casos en adultos sin ninguna peculiaridad en la distribución en cuanto a sexo. La mayoría de las mujeres indicaron trabajar en oficios domésticos; los hombres trabajaban en las más diversas ocupaciones. El período de evolución de la tiña al momento del estudio fluctuó entre tres meses y 15 años, siendo la mayoría de las veces crónica. Gran parte de los pacientes no se quejaron de molestias, pero algunos pocos casos fueron dolorosos, inclusive con paroniquia. El número de uñas comprometidas varió desde una hasta todas las de las manos y los pies; en lo referente al cuadro clínico se presentaron variados matices ya que algunas uñas presentaron zonas blancas opacas en la base ("novias") (fig. 3A), mientras otras tenían abundantes detritos en el borde libre (fig. 3F) que podía estar resquebrajado o bien aparecer engrosado; la superficie presentaba estrías (fig. 3B) o estaba corrugada y engrosada (fig. 3G); el color fluctuó desde el blanco, crema o amarillo hasta el pardo oscuro. Con respecto a la etiología, casi la totalidad (diez casos) fueron a Trichophyton rubrum; se identificó una cepa de T. tonsurans, una de Epidermophyton floccosum y en los cuatro restantes no se pudo aislar el dermatofito.

OBSERVACIONES EPIDEMIOLOGICAS

La mayoría de las tiñas que comprometían las zonas cubiertas del cuerpo

se debieron a dermatofitos antropofílicos como Trichophyton rubrum, T. tonsurans y E. floccosum; las lesiones en las partes expuestas como cuero cabelludo, cara y brazos fueron producidas ya por especies zoofílicas (Microsporum canis y T. verrucosum) o por el dermatofito geofílico M. gypseum. Se identificó una cepa de T. mentagrophytes de una lesión en una pierna de un adulto, comprobándose que era la "variedad vellosa" característica del hombre.

No obstante la estrecha relación entre las especies zoofílicas y las áreas expuestas, por un lado, y la de los hongos antropofílicos y las áreas cubiertas por otro, se observaron varios casos en que la correlación no fue evidente desde el primer momento. En algunas ocasiones se identificaron hongos no antropofílicos en regiones cubiertas del cuerpo, pero siempre se encontró relación con lesiones de partes expuestas o se demostró contacto de las áreas afectadas con un animal enfermo (cuadro 3). Varios cuadros de tinea capitis fueron producidos por dermatofitos antropofílicos de donde se deduce que la infección se realizó por contacto directo o indirecto entre humanos.

En ningún caso de tinea pedis, tinea unguium, tinea cruris, tinea manus o tinea axillaris se logró aislar un dermatofito que no perteneciera al grupo antropofílico.

CUADRO 3

Relación entre la localización de las lesiones y el dermatofito identificado en 31 casos de tinea corporis

Zona del cuerpo afectada		Nº de casos	Dermatofito	
	abdomen, pecho, espalda, etc.	10	T. rubrum	
Zonas no	ídem	1	T. tonsurans	
	abdomen y pecho	1	M. canis	
	dorso	1	M. gypseum	
Zonas	(cara y pecho	1	M. canis	
cubiertas y	cara y dorso	1	M. canis	
descubiertas	cara y varias regiones del cuerpo	1	T. tonsurans	
[car	(cara	2	7. verrucosum	
	cara	2	M. gypseum	
	brazo	1	M. gypseum	
Zonas	pierna	1	T. mentagrophytes	
expuestas	{ '		var. vellosa	
	cara y cabeza	1	T. tonsurans	
	cara y cabeza	2	M. gypseum	
	cara y cabeza	2	M. canis	
tinea corporis		4	Desconocido	

MICOLOGIA

Examen directo de escamas y pelos. Las escamas aclaradas con hidróxido de potasio mostraron en un buen número de casos cadenas de artrosporas y micelio de los dermatofitos (figs. 4A, 4B). Los pelos parasitados generalmente se desprendieron con facilidad y en ellos pudimos apreciar varios tipos de arreglo de las esporas. Generalmente en tinea capitis las esporas presentaron una disposición tipo microsporum (Microsporum canis y M. gypseum) (fig. 4D); en otras oportunidades se observó la disposición endothrix (Trichophyton tonsurans) y ectothrix "a esporas grandes" (T. verrucosum), así como la presencia de micelio interno y de burbujas dentro del pelo, como fue notado en un caso debido a M. canis (fig. 4C).

AISLAMIENTO PRIMARIO. De los medios usados rutinariamente en el aislamiento de los dermatofitos, agar Sabouraud y agar actidiona-cloromicetina, el último resultó ser el más ventajoso, sobre todo cuando se trataba de aislar hongos de tinea pedis y tinea unguium. A pesar del poder bacteriostático del medio con antibióticos, en varias ocasiones (sobre todo en tinea unguium) las placas se contaminaron con hongos y estafilococos resistentes.

El crecimiento en ambos medios varía ligeramente con la especie. M. canis crece mucho mejor y exhibe una morfología más típica en agar Sabouraud que en agar con antibióticos; T. rubrum por el contrario, desarrolla un pigmento rojo intenso más rápidamente en este último; el crecimiento de M. gypseum es algo más circunscrito en el agar con antibióticos. Tres cepas de T. verrucosum que se lograron identificar en este estudio crecieron bien en agar Sabouraud; las especies restantes, T. mentagrophytes, T. tonsurans y E. floccosum crecieron bien en ambos medios.

Se comparó experimentalmente el crecimiento de algunos dermatofitos en el agar de Littman y en el medio de Goldman, encontrándose que en el primero la morfología varía y el crecimiento de la colonia es mucho más lento, sobre todo en las tres primeras semanas de incubación; con respecto al medio de Goldman no encontramos sus ventajas si se compara con los usados rutinariamente. En los agares de harina de maíz, harina de maíz-dextrosa e infusión de corazón-dextrosa, el desarrollo es lento y a veces casi nulo, según la especie.

El número total de cepas aisladas durante este estudio fue 64, de las cuales 22 (34,4 %) correspondieron a Trichophyton rubrum, 21 (32,8 %) a Microsporum canis, 8 (12,5 %) a M. gypseum, 5 (7,8 %) a T. tonsurans, 3 (4,7 %) a T. mentagrophytes, 3 (4,7 %) a T. verrucosum y 2 (3,1 %) a Epidermophyton floccosum.

Morfología de los cultivos. Microsporum canis Bodin. Es un dermatofito de rápido desarrollo que a las dos o tres semanas de incubación presenta una superficie lisa, algodonosa o aterciopelada, blanca, en algunas zonas amarillenta (Maerz & Paul 11-J-7) (27), anaranjada (Maerz & Paul 11-J-11) y en ocasiones parduzca en el centro; los bordes son irregulares, generalmente ciliados; el reverso es liso o presenta surcos radiados a partir del centro que no llegan a los bordes; el pigmento va desde naranja pálido hasta rojo parduzco

(fig. 5A). Microscópicamente hay presencia de micelio septado y ramificado en el cual se observa a menudo micelio en raqueta y clamidosporas; hay también a veces hifas pectinadas, cuerpos nodulares y raramente estructuras espirales. Se presentan microconidias en pequeña cantidad (en algunas cepas no las observamos) a lo largo de las hifas y tienen forma de maza o son semibacilares; las macroconidias son numerosas en el cultivo primario, en forma de huso y con varios septos, generalmente de 5 a 8, a veces 10 y con paredes gruesas y ásperas (fig. 5B).

Microsporum gypseum (Bodin) Guiart & Grigorakis. La colonia es de rápido crecimiento, tornándose muy pronto pulverulenta o granulosa, de superficie lisa color crema (Maerz & Paul 12-B-8); los bordes son irregulares, a veces festoneados o ciliados; el reverso se presenta liso, con pigmento no difusible que varía entre el pardo amarillento y el pardo rojizo (fig. 5C). Microscópicamente se ven numerosas macroconidias grandes elipsoides (fig. 5D) de dimensiones menores que las de M. canis y de paredes más finas pero ásperas, con múltiples septos, generalmente de 4 a 6. Las microconidias se presentan en la mayoría de las cepas en el cultivo primario, pero es posible encontrar cultivos viejos que todavía producen microconidias en buena cantidad.

Trichophyton mentagrophytes (Robin) Blanchard. Dos de las cepas estudiadas son de tipo "velloso" y la otra es la variedad "granulosa". Las colonias vellosas son de rápido desarrollo, de superficie algodonosa, de color blanco a crema y bordes irregulares; el reverso presenta algunos pliegues hacia el centro, con pigmento que varía entre el pardo y el pardo-naranja. La colonia granulosa es de color blanco-crema (Maerz & Paul 9-B-1); presenta una depresión central pequeña, tiene bordes irregulares y el reverso plegado ligeramente. Microscópicamente la cepa granulosa presenta enorme cantidad de esporas, mientras que las cepas vellosas casi no tienen. Se observan abundantes espirales (fig. 6C), clamidosporas, cuerpos nodulares y microconidias que son pequeñas, esféricas en su mayoría y a veces clavadas (fig. 6A). Las macroconidias se presentan en escaso número, sobre todo en las cepas vellosas en las que difícilmente se observaron; su forma es alargada, de paredes finas, con 3 a 6 septos, y a menudo con el extremo libre ligeramente más abultado que el extremo fijo (fig. 6B).

Trichophyton rubrum (Castellani) Sabouraud. Todos los cultivos de esta especie desarrollaron colonias rápidamente, de superficie lisa, algodonosa y blanca, con bordes irregulares, a veces ciliados. El reverso es liso, con pigmento difusible raramente amarillo-naranja o anaranjado y generalmente rojo pálido hasta cereza oscuro; en algunas ocasiones el borde de la colonia toma el color intenso del reverso. Los cultivos viejos presentan una superficie aterciopelada pudiendo ser también granulosa (figs. 6D, 6E). La morfología microscópica revela gran cantidad de micelio y algunas pocas microconidias ovoides o clavadas, elipsoides o globosas, que se disponen a lo largo de las hifas o en racimos en hifas terminales (figs. 6F, 6G); las macroconidias raramente se observan y son alargadas y multiseptadas, de paredes finas y lisas.

Trichophyton tonsurans Malmsten. Las cepas de esta especie son de crecimiento moderado; la colonia es plana al principio y luego presenta pliegues que le dan un aspecto cerebriforme, crateriforme o acuminado. La superficie es aterciopelada, con micelio aéreo fino con una coloración que varía desde el crema (Maerz & Paul 9-D-1) hasta el pardo (Maerz & Paul 12-E-7), (fig. 7A). Microscópicamente se ven clamidosporas, espirilos, cuerpos nodulares y numerosas microconidias piriformes dispuestas en tirsos o en racimos (figs. 7B, 7C); también se observan casualmente macroconidias de 3 a 4 células, generalmente clavadas aunque pueden presentar diversidad de formas (fig. 7D). La producción de macroconidias se acentúa en cultivos en agar mosto.

Trichophyton verrucosum Bodin. Las colonias de esta especie presentan crecimiento moderado, a pesar de que con el tiempo las dimensiones son semejantes a las de otros dermatofitos, con excepción de Microsporum canis y M. gypseum. La superficie colonial es aterciopelada, cerebriforme, de color crema (Maerz & Paul 10-D-1) y bordes irregulares; el reverso es muy plegado, de color anaranjado oscuro sin que haya difusión de pigmento. Microscópicamente se observan solamente micelio y numerosas clamidosporas (fig. 7E), sin que se desarrollen macro ni microconidias en los medios usuales. En medios suplementados con inositol se desarrollaron microconidias clavadas o bacilares (fig. 7F). No se observaron macroconidias.

Epidermophyton floccosum (Harz) Langeron & Milochevitch. La colonia típica se desarrolla en los primeros cultivos. Es de crecimiento rápido, con una zona central algodonosa y surcos radiales tenues que con la edad de los cultivos desaparecen, llenándose la superficie de micelio abundante algodonoso de color blanco-crema o crema amarillento (Maerz & Paul 9-D-1) (fig. 8A). El reverso es liso y de color anaranjado parduzco. El pigmento típico amarillo verdoso fue observado únicamente en los cultivos primarios. Al microscopio se observan clamidosporas y macroconidias en forma de huevo, globosas, con uno o dos septos que nacen a lo largo de las hifas, solas o en grupos característicos (fig. 8B); también se encuentran al final de las hifas. En cultivos muy jóvenes se observan conidias pequeñas piriformes o clavadas que pueden ser confundidas con microconidias, pero que son macroconidias en desarrollo (fig. 8C) puesto que esta especie carece de microconidias.

ESTUDIO FISIOLÓGICO. Todos los cultivos de Trichophyton rubrum produjeron pigmento rojo característico en el agar harina de maíz-dextrosa, mientras que las tres cepas de T. mentagrophytes no lo produjeron.

Las cepas de T. rubrum y T. mentagrophytes se probaron en agar nitrato de amonio con ácido nicotínico y sin él, sin que ninguna de ellas mostrara requerimientos para esa vitamina.

Los tres cultivos de *T. verrucosium* se probaron en una serie de cuatro tubos (caseína, caseína + tiamina, caseína + inositol y caseína + tiamina + inositol) demostrándose que todas requieren inositol para su desarrollo, pero no tiamina, lo que puede explicar el haber aislado estas cepas en agar no fortificado (fig. 8E).

Los dermatofitos T. tonsurans (5 cepas), T. rubrum (22 cepas) y T. mentagrophytes (3 cepas) se probaron en una serie de dos tubos (caseína y

caseína + tiamina) encontrándose que los dos últimos son autotróficos para la tiamina, mientras que *T. tonsurans* la requiere (fig. 8D).

Todos los cultivos sospechosos o dudosos en cuanto a su clasificación, así como cepas pleomórficas se probaron en agar nitrato de amonio con ácido nicotínico y en agar nitrato de amonio con histidina sin encontrar cepas que necesitaran estas vitaminas.

Finalmente se realizaron pruebas de crecimiento *in vitro* sobre pelo humano estéril con todas las cepas de *T. mentagrophytes* y *T. rubrum*, encontrándose que las primeras producen órganos perforantes, mas no así *T. rubrum* (fig. 8H). Otros dermatofitos como *M. canis* y *E. floccosum* producen perforaciones iguales a las de *T. mentagrophytes* (figs. 8F, 8G).

Conservación de los cultivos y pleomorfización. Las cepas se guardaron en la micoteca lo más pronto posible bajo aceite mineral estéril. Bajo estas condiciones un buen número de cultivos de todas las especies se pleomorfizaron conforme se transplantaban de nuevo a terreno fresco. M. canis mostró más alteraciones que los demás dermatofitos y también E. floccosum y T. mentagrophytes, pero no tanto M. gypseum, T. tonsurans y T. verrucosum.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

El análisis de la literatura costarricense demuestra la escasez de estudios en el campo de las dermatofitosis y la necesidad de trabajar y hurgar más en este interesante problema.

A pesar del pequeño número de pacientes considerados en el presente estudio, se puede concluir que las dermatofitosis son frecuentes en todas las localidades de nuestro país y en todas las edades y ocupaciones de los individuos. Una gran parte de los enfermos no se presenta a la consulta hospitalaria por diversas causas, y otros son tratados sin haberse realizado la investigación micológica.

Los hallazgos clínicos fueron semejantes a los encontrados por otros autores. Los tipos generales de lesión observados en el cuero cabelludo fueron la tiña seca descamativa con o sin alopecia, el Kerion Celsi (lesiones agudas, inflamatorias y supurantes) y formas "amiantáceas". En las tiñas del cuerpo se distinguieron las lesiones pequeñas de bordes delimitados, ligeramente levantados y eritematosos y las crónicas grandes, de bordes planos, no eritematosos. Las tiñas de los pies fueron generalmente crónicas e hiperqueratósicas, aunque se observaron varios casos agudos con maceración profunda y contaminación bacteriana. La tinea cruris y tiña de la axila mostraron el mismo aspecto clínico, muy semejante al observado en la tinea corporis. En cuanto al aspecto clínico de las onicomicosis, varió mucho en cuanto a número de uñas parasitadas y forma y color de las mismas.

La tinea corporis fue la forma observada mayor número de veces, siguiéndole la tiña de la cabeza, uñas, regiones inguinales, pies, manos y axila. MACKINNON (26) en el Uruguay, al igual que nosotros, encontró mayor incidencia de

tinea capitis. Burke y Bumgarner (8) demostraron una relación semejante en un estudio hecho en 1000 veteranos de la guerra. Wissel (35) demostró en un grupo de recluídos que la tinea pedis interdigital es el tipo de dermatofitosis que aparece con mayor frecuencia. Con respecto a este último punto, es probable que el pie de atleta predomine también en nuestro ambiente, ya que Jiménez-Quirós (23) ha notado, de acuerdo a un estudio clínico, un índice bastante alto en los estudiantes universitarios. Por otro lado, el hecho de que un buen número de nuestros casos fueron acentuados o severos puede ser un indicio de que hay numerosas formas leves que escapan al estudio llevado a cabo en las consultas de hospital. El trabajo reciente de Gibson (20) en Inglaterra, viene a fortalecer la idea de que la tinea pedis es considerablemente predominante en la población en general.

Considerando las formas combinadas, más del 70 por ciento de nuestros casos presentaron una sola forma clínica, en contraste con el resto que tenía dos o más tipos de dermatofitosis. La tiña de la cabeza y la de los uñas aparecieron solas con mayor regularidad, mientras que las combinaciones entre tiñas del cuerpo, pies y regiones inguinales ocurrieron a menudo. Datos similares han sido comunicados por Burke y Bumgarner (8).

No se encontró ningún caso de tinea favosa ni de tinea imbricata en este estudio y creemos que dichas formas no se presentan en Costa Rica.

Con referencia a los dermatofitos aislados, en tinea capitis se encontró según su orden, Microsporum canis (64.3 %), M. gypseum (17.8 %), Trichophyton tonsurans y T. verrucosum. Estudios realizados en otros países demuestran que M. canis es el agente más frecuente de tiña del cuerpo cabelludo, siendo menor o raro el aislamiento de M. gypseum, como lo indican Carrión y Silva (9), Mackinnon (26) y Borelli (6).

La ausencia de *Microsporum audoninii* no implicó la de un pequeño brote epidémico observado por nosotros en cuatro pacientes (tres niños y su madre), infectados por *M. canis*. Un brote semejante en 12 personas que contrajeron la enfermedad posiblemente de un gatito fue descrito por FERGUSON (13) en los Estados Unidos.

En tinea corporis se aislaron Trichophyton rubrum (37 %), Microsporum gypseum (22.2 %), M. canis (14.8 %), T. tonsurans, T. verrucosum y T. mentagrophytes. Otros autores han encontrado una relación diferente; Mackinnon (26) demostró un predominio de M. canis y M. gypseum en lesiones de la piel glabra, mientras que Burke y Bumgarner (7) una mayor incidencia de T. mentagrophytes, dejando en segundo lugar a T. rubrum. El elevado porcentaje de casos por T. rubrum encontrado por nosotros en contraste con un único cultivo obtenido de T. mentagrophytes puede deberse a una paulatina disminución de éste último, como han sugerido Maskin et al. (28). Es posible que la mayor incidencia de T. rubrum en comparación con los otros agentes se deba a la circunstancia de la infectividad de este hongo con relación a los hábitos de vida, puesto que English (12) ha demostrado un considerable número de infecciones entre los "contactos" de tiñosos con T. rubrum.

En el resto de las formas clínicas se aislaron dermatofitos antropofílicos principalmente *T. rubrum* y con menos frecuencia *T. tonsurans*. Casi todos los casos de *tinea unguium* fueron debidos a *T. rubrum*, pero de uno de ellos se aisló *T. tonsurans* y de otro *E. floccosum*. González-Ochoa y Orozco (22) en México encontraron una relación menor entre estos dos agentes y, al igual que nosotros, un porcentaje elevado de casos que dieron cultivo negativo.

Como se consiguió en los resultados, los hongos más incidentes, en general, fueron T. rubrum (34.4 %), M. canis (32.8 %) y M. gypseum (12.5 %). Se ha indicado en muchos países una elevada incidencia de M. canis y T. rubrum pero no de M. gypseum, hecho que aparentemente no sucede en nuestro medio.

No obstante que se han publicado infecciones mixtas en otras regiones (31) no fue posible determinar ninguna en Costa Rica.

De acuerdo con Kaplan, Georg y Ajello (24), los hallazgos epidemiológicos concluyen en el sentido de que hay tres grupos generales de dermatofitos: antropofílico, zoofílico y geofílico, el primero de los cuales produce en el hombre el pie de atleta, la tiña inguinal y la tiña de las uñas principalmente; los dermatofitos zoofílicos y el geofílico (M. gypseum) infectan generalmente las partes expuestas del cuerpo. En nuestro estudio la mayoría de las lesiones en áreas no cubiertas como cráneo, cara, cuello y extremidades fueron causadas por M. canis, T. verrucosum y T. mentagrophytes (zoofílicos), o por el M. gypseum (geofílico), lo cual podría correlacionarse, desde el punto de vista epidemiológico, con la fuente de infección que sería los animales y el suelo.

De las tiñas de manos, uñas, pies y regiones crurales se aislaron únicamente especies antropofílicas, tales como *T. rubrum, T. tonsurans, T. mentagro-phytes* y *E. floccosum.* A pesar de que la zona del cuerpo afectada nos puede sugerir el origen de la infección, pueden presentarse infecciones por dermatofitos de animales o del suelo en zonas cubiertas, o dermatofitos antropofílicos causando infecciones en áreas descubiertas. Esta última condición no es rara y como ejemplos pueden citarse las comunes onicomicosis debidas a *T. rubrum*, o la *tinea capitis* epidémica causada por *M. audouinii* y *T. tonsurans*.

El estudio micológico de las especies no indicó variaciones con respecto a lo clásicamente establecido. La observación de los pelos reveló en una infección por *M. canis* un arreglo de las esporas de tipo *endothrix*, hecho que ya había sido observado por FUENTES *et al.* en *M. gypseum* (14).

La comparación de los diversos medios para aislamiento de dermatofitos hizo resaltar la superioridad del agar actidiona-cloromicetina, aunque es recomendable inocular conjuntamente una placa de agar Sabouraud.

Morfológicamente las cepas aisladas siguieron los patrones de clasificación descritos por Conant et al. (10) y por Georg (15, 16, 17).

Concerniente al estudio del comportamiento fisiológico comprobamos que todas las cepas de *T. rubrum* produjeron pigmento rojo en el agar harina de maíz-dextrosa, como fue sustentado por BOCOBO y BENHAM (4). Las cepas de *T. verrucosum* fueron autotróficas para la tiamina pero no para el inositol,

mientras que las de *T. tonsurans* requirieron parcial o totalmente de tiamina para su desarrollo. Además, los cultivos de *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* y algunos dudosos en su clasificación, fueron autotróficos para la histidina y el ácido nicotínico, lo que excluye la presencia de *T. megninii* y *T. equinum* entre nuestros cultivos. Las pruebas de crecimiento *in vitro* sobre cabello humano confirmaron lo establecido por AJELLO y GEORG (2) en cuanto a la diferenciación entre *T. mentagrophytes* y *T. rubrum*. Además se encontró que *M. canis* y *E. floccosum* pueden formar órganos perforantes semejantes a los de *T. mentagrophytes*.

Una evaluación del estado de los cultivos guardados en la micoteca bajo aceite mineral estéril, indicó que la especie que tiende más a la pleomorfización es el M. canis; el otro extremo está ocupado por el M. gypseum, T. tonsurans y T. verrucosum. El T. rubrum casi siempre produjo colonias vellosas que con el tiempo perdían fácilmente la habilidad de formar microconidias y de producir el pigmento rojo.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su reconocimiento al Dr. Alfonso Trejos y al Lic. Hernán Badilla, jefes del Laboratorio Bacteriológico del Hospital San Juan de Dios, quienes permitieron la realización de este trabajo en el laboratorio a su cargo; al Prof. Renato Soto, quien aportó valiosas sugerencias y al Dr. John de Abate, quien amablemente revisó el manuscrito original.

RESUMEN

Se hicieron observaciones clínicas, epidemiológicas y micológicas en 76 casos comprobados de dermatofitosis que fueron examinados en 1957, 1958 y principios de 1959.

Se observaron todas las formas clínicas (exceptuando tinea favosa, tinea barbae y tinea imbricata) en el siguiente orden: tinea corporis, tinea capitis, tinea unguium, tinea cruris, tinea pedis, tinea manus y tinea axillaris. Alrededor del 30 por ciento de los pacientes presentaron dos o más cuadros combinados, pero no se logró descubrir ninguna infección causada por dos o más dermatofitos.

Los hongos aislados, según su frecuencia, fueron: T. rubrum, M. canis, M. gypseum, T. tonsurans, T. mentagrophytes, T. verrucosum y E. floccosum. La mayoría de las lesiones en regiones descubiertas del cuerpo se debieron a dermatofitos de los grupos zoofilico y geofilico, mientras que aquellas de zonas no expuestas generalmente fueron causadas por hongos antropofilicos.

Morfológicamente, los cultivos encajaron en los patrones ya establecidos. El estudio fisiológico indicó que el T. rubrum desarrolla fácilmente pigmento rojo en el agar harina de maíz-dextrosa, pero no así el T. mentagrophytes. El T. tonsurans manifestó requerimiento parcial o total de tiamina, mientras que el T. verrucosum, requerimiento total de inositol. Ninguna cepa fue estimulada

por el ácido nicotínico ni por la histidina. Tanto el T. mentagrophytes como el M. canis y E. floccosum fueron capaces de producir (in vitro) perforaciones en el cabello humano; el T. rubrum no perforó el pelo.

SUMMARY

Clinical, epidemiological and mycological observations were made on 76 overt cases of dermatophytosis which were examined in 1957, 1958 and early 1959.

All clinical forms were observed (except tinea favosa and tinea imbricata) in the following order of frequency: tinea corporis, tinea capitis, tinea unguium, tinea cruris, tinea pedis, tinea manus and tinea axillaris. Around 30 per cent of the patients showed two or more combined forms, but it was not possible to detect any infection which was caused by two or more dermatophytes.

The isolated fungi were, according to their frequency, T. rubrum, M. canis, M. gypseum, T. tonsurans, T. mentagrophytes, T. verrucosum and E. floccosum. The majority of the lesions in exposed areas of the body were due to dermatophytes of the zoophilic and geophilic groups, while those lesions in unexposed areas were generally caused by anthropophilic fungi.

Morphologically, the cultures matched well established patterns. The physiologic study indicated that *T. rubrum* produces red pigment in corn meal-dextrose agar easily, not so *T. mentagrophytes*. *T. tonsurans* showed partial or total requirement for inositol. No strain was stimulated either by nicotinic acid or histidine. *T. mentagrophytes* as well as *M. canis* and *E. floccosum* were capable of producing *in vitro* perforations in the human hair. *T. rubrum* did not perforate the hair.

BIBLIOGRAFIA

- AJELLO, L. 1957. Cultural methods for human pathogenic fungi. J. Chronic Diseases, 5: 545-551.
- AJELLO, L. & L. K. GEORG
 1957. In vitro hair cultures for differentiating between atypical isolates of Trichophysion mentagrophyses and Trichophysion rubrum. Mycopath. et Mycol. app.,
 8: 3.17
- Ajello, L., V. Q. Grant & M. A. Gutzke
 Use of mineral oil in the maintenance of cultures of fungi pathogenic for humans. Arch. Derm. Syph., 63: 747-749.
- BOCOBO, F. C. & R. W. BENHAM
 1949. Pigment production in the differentiation of Trichophyton mentagrophytes and T. rubrum. Mycologia, 41: 291-302.
- BOLAÑOS, L.
 1940. Nuevos casos de micosis diagnosticados en el Laboratorio del Hospital San Juan de Dios. Rev. Méd. Gosta Rica, 7: 182-187.

- BORELLI, D.
 1957. Micosis de Venezuela. Rev. Inst. Salubridad & Enferm. Trop., 17: 129-139.
- BURKE, R. C. & F. E. BUMGARNER
 Superficial mycosis of veterans. I. Survey of one thousand veterans with a service diagnosis of dermatomycosis. Arch. Dermat. Syph., 60: 742-749.
- Burke, R. C. & F. E. Bumgarner
 Superficial mycosis of veterans. II. Dermatophytosis and cutaneous moniliasis.
 Correlation of clinical manifestations and etiologic agent. Arch. Dermat. Syph.,
 1120-1129.
- CARRIÓN, A. L. y M. SILVA
 1946. Ringworm del cuero cabelludo en Puerto Rico. Bol. Asoc. Med. Puerto Rico,
 38: 274-303.
- CONANT, N. F., D. T. SMITH, R. D. BAKER, J. L. CALLAWAY & D. S. MARTIN 1954. Manual of Clinical Mycology. 2d. ed. vii + 456 pp. W. B. Saunders Co. Philadelphia.
- DIFCO LABORATORIES INC.
 1953. Difco Manual. 9th ed. 350 pp. Detroit, Michigan.
- English, M. P.
 1957. Trichophyton rubrum infections in families. Brit. Med. Jour., 1957: 744-746.
- 13. FERGUSON, E. H.
 1958. Epidemic due to Microsporum canis. A. M. A. Arch. Dermat., 78: 506.
- FUENTES, C. A., R. ABOULAFIA & R. J. VIDAL
 1954. A dwarf form of Microsporum gypseum. J. Invest. Dermat., 23: 51-61.
- GEORG, L. K.
 1950. The relation of nutrition to the growth and morphology of Trichophyton faviforme. Mycologia, 42: 693-716.
- Georg, L. K.
 The relationship between the downy and granular forms of Trichophyton mentagrophytes. J. Invest. Dermat., 23: 123-141.
- GEORG, L. K.
 Studies on Trichophyton tonsurans. II. Morphology and laboratory identification. Mycologia, 48: 354-370.
- GEORG, L. K.
 1957. Dermatophytes. New methods in classification. Undécimo Congreso Internacional de Dermatología, Estocolmo, Agosto 1°
- GEORG, L. K. & L. B. CAMP
 Routine nutritional tests for the identification of dermatophytes. J. Bact.,
- 1956. Routine nutritional tests for the identification of dermatophytes. J. Bact., 74: 113-121.

 20. Gibson, M. D
- 1959. Studies in the epidemiology of tinea pedis. I. Tinea pedis in school children.

 Brit. Med. J., 1: 1442-1446.

- 21. GOLDMAN L.
 - 1954. A new method for the rapid identification of dermatophytes. J. Lab. & Clin. Med., 44: 655-660.
- 22. GONZÁLEZ-OCHOA, A. & V. OROZCO
- 1957. Dermatofitos causantes de "tinea unguis" en México. Rev. Inst. Salubr. & Enferm. Trop., 17: 93-95.
- 23. Jiménez-Quirós, O.
 - 1959. Epidermofitosis de los pies (pie de atleta) en pre-universitarios. Rev. Biol. Trop., 7 (2): 199-202.
- KAPLAN, W., L. K. GEORG & L. AJELLO
 1958. Recent developments in animal ringworm and their public health implications. Ann. N. Y. Acad. Sci., 70: 636-649.
- LITTMAN, M. L.
 1947. A culture medium for the primary isolation of fungi. Science. 106: 109-111.
- MACKINNON, J. E.
 1949. Estadística sobre 1.000 casos de micosis cutáneas en el Uruguay y determinación de las especies causantes. An. Inst. Hig. Montevideo, 3: 83-94.
- MAERZ, A. & M. R. PAUL
 1950. A Dictionary of Color. 2d. Ed. vii + 208 pp. McGraw-Hill Book Company Inc., New York.
- MASKIN, I. L.; C. L. TASCHDJIAN & A. C. FRANKS
 1957. The etiology of dermatophytosis. A. M. A. Arch. Dermat., 75: 66-69.
- PICADO, C.
 1915. Primera contribución al conocimiento de las micosis en Costa Rica. Anales del Hospital de S.m José, 1: 1-21.
- ROMERO, A. & A. CASTRO
 1948. Trece casos de tiña tratados con acetato de talio. Rev. Méd. Costa Rica, 8:
 197-199.
- ROSENTHAL, S. A., D. FISHER & D. FURNARI
 1958. A localized outbreak in New York of tinea capitis due to Trichophyton violaceum. A. M. A. Dermat., 78: 689-691.
- 32. ROTTER, W.
 1935. Micosis en Costa Rica. Memerias del 2º Congreso Médico Centroamericano.
 San José, C. R., Octubre de 1934. págs. 196-203.
- Ruiz, A.
 1953. Un caso de tinea unguium producido por Microsporum gypseum (Bodin)
 Guiart et Grigorakis, 1928. Rev. Biol. Trop., 1: 33-37.
- 34. VIETO, P. 1955. Comunicación personal.
- WISSEL, K.
 1956. Studien zur Epidemiologie und Therapie der Fussmykosen. Dermatologica,
 113: 156-179.

Fig. 1: A - Kerion Celsi producido por M. gypseum. B, C y D - Tiñas de la cabeza (B y C) y de la piel glabra (B y D) causadas por M. canis.

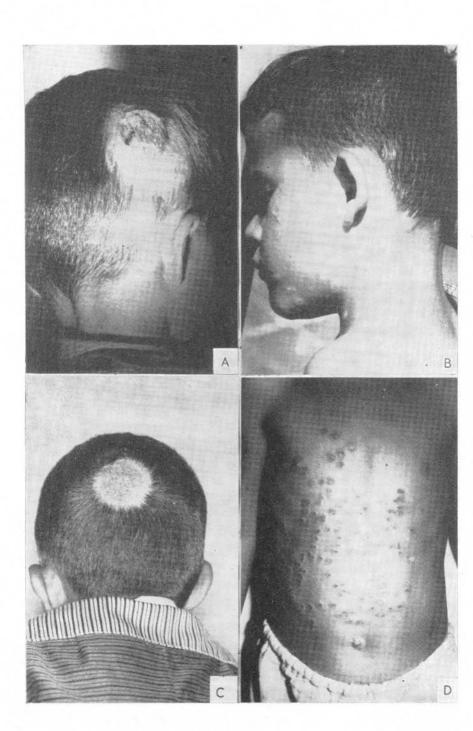


Fig. 2: A, B, C y E - Tiñas de la piel glabra producidas por T. rubrum (A, B y E) y por M. canis (C); el caso 2E presenta también tinea cruris.

D - Tinea cruris de 8 días de evolución causada por T. tonsurans.

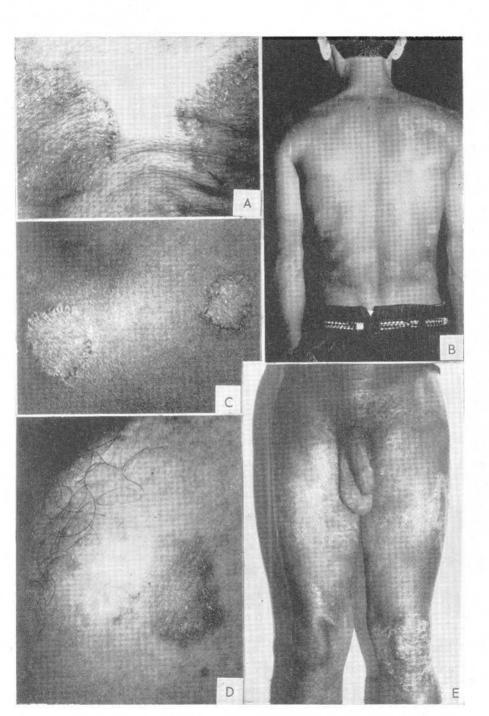


Fig. 3: A, B, F y G - Diversos casos de tinea unguium producidos por T. rubrum.

C - Tinea manus.

D, E y G - *Tinea pedis* hiperqueratósica (D), aguda con maceración profunda (E) y de tipo interdigital (G).

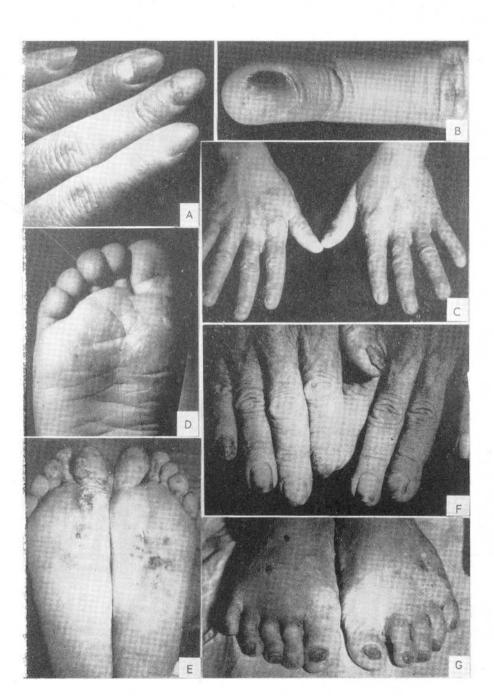


Fig. 4: A y B - Aspecto microscópico de escamas aclaradas con hidróxido de potasio mostrando artrosporas (A, 450 x) y micelio del dermatofito (B, 200 x).
C. D y E - Aspecto de pelos separados de tinea capitis mostrando: micelio y burbujas en un caso por M. canis (C. 200 x), el arreglo de las esporas característico de Microsporum (D, 450 x) y filamentos del dermatofito sobre el pelo (E, 700 x).

(Las microfotografías A, D y E son cortesía del Prof. P. L. Vieto).

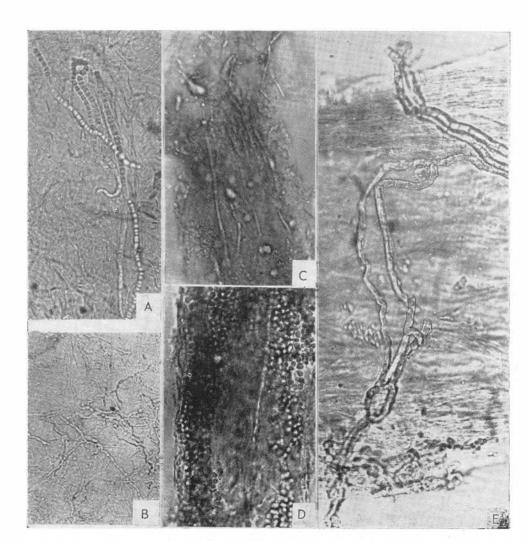


Fig. 5: A y B - *Microsporum canis*. Diferentes tipos coloniales en agar Sabouraud (A) y morfología microscópica que muestra microconidias alargadas y macroconidias fusiformes típicas (B, 525 x).

C y D - *Microsporum gypseum*. Aspecto de una colonia de tipo granuloso de 15 días de desarrollo (C, 2 x) y cultivo en lámina observado con contraste de fase (D, 125 x).

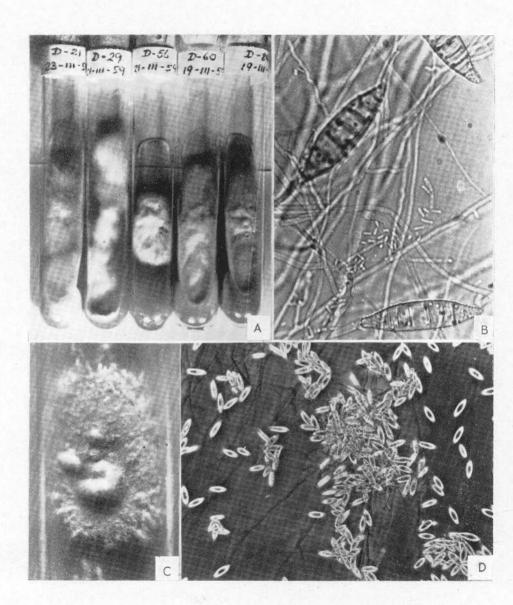


Fig. 6: A, B y C - Trichophyton mentagrophytes. Morfología microscópica que muestra clamidosporas y microconidias (A, 312 x), una típica macroconidia (B, 525 x) y una estructura espirilar (G, 525 x).

D, E, F, G y H - Trichophyton rubrum. Colonias de 15 días de desarrollo de dos cepas diferentes (D y E, 2 x) y aspecto microscópico que denota la presencia de microconidias en clava, piriformes y esféricas (F, G y H, 525 x).

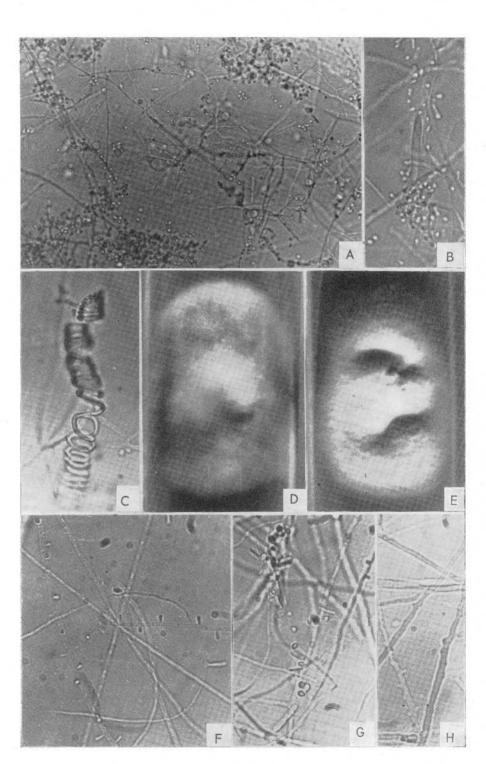
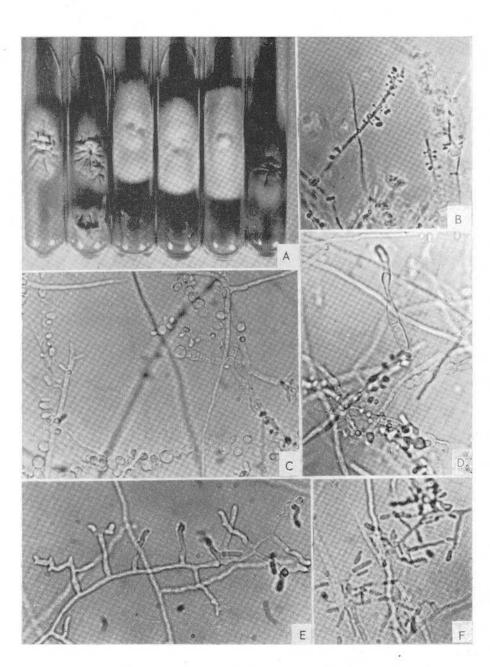


Fig. 7: A, B, C y D - Trichophy.on tonsurans. Varios tipos de colonia en agar Sabouraud (A) y morfología microscópica que muestra las microconidias características (B, contraste de fase, 450 x), clamidosporas (C, 525 x) y una macroconidia (D, 525 x).
E y F - Trichophyton verrucosum. Aspecto microscópico de un cultivo (E, 525 x) y microconidias desarrolladas en agar caseína-inositol (F, 525 x).



- Fig. 8: A, B y C Epidermophyton floccosum. Aspecto de una colonia de 8 días de incubación (A, 2 x) y de las macroconidias típicas (B, 525 x) que pueden semejar microconidias cuando jóvenes (C, contraste de fase, 330 x).
 - D Prueba de dos tubos (agar caseína: tubos 1 y 3 agar caseína + tiamina: tubos 2 y 4) realizada con dos cepas de *T. tonsurans* morfológicamente diferentes, que indica el requerimiento parcial (tubos 1 y 2) o total (tubos 3 y 4) de esta vitamina.
 - E Prueba de 4 tubos (de izquierda a derecha: agar caseína, agar caseína + tiamina, agar caseína + inositol y agar caseína + tiamina + inositol) realizada en una cepa de *T. verrucosum*, que denota su requerimiento de inositol, pero no de tiamina.
 - F, G y H Prueba de crecimiento in vitro sobre cabello humano que evidencia numerosas perforaciones producidas por M. canis (F, 500 x) E. floccosum (G, campo oscuro, 500 x) y T. mentagrophytes (H, 525 x).

