

Descripción de tres casos del síndrome de oreja caída en bovinos

Gabriel Magnano¹; Mauro Macio¹; Guillermo Bagnis¹; Analía Macias¹; Erika Sticotti¹; Enzo Redondo¹; Manuel Schneider¹; Julián Fernández¹; Carla Barberis^{2,3}; María Laura Ramirez^{2,3}, José Giraudo¹.

1- Departamento de Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto.

2- Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Exactas, Físico, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto.

3- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Palabras clave

bovino

oreja caída

cryptococcus

Resumen. El síndrome conocido como “oreja caída” es un hallazgo clínico observado en los sistemas productivos bovinos. Varias son las etiologías descritas como causa de esa patología. El objetivo del presente trabajo es describir tres casos de oreja caída en bovinos.

Se estudiaron dos casos en engorde a corral y uno en guachera. Se realizaron exámenes clínicos, necropsias, histopatologías y diferentes técnicas entre ellas cultivo de hongos, de bacterias, de virus, etc. En todos los animales necropsiados se observó aumento de tamaño del ganglio de Gasser. En los estudios histopatológicos se encontró reacción granulomatosa y presencia de estructuras compatibles con criptococos que fueron positivas a la tinción de PAS.

El aislamiento y tipificación de *Cryptococcus neoformans* de 1 animal, los resultados de los exámenes anatómo-histopatológicos, y las características estructurales y tintoriales observadas en todos los casos indican un diagnóstico compatible con criptococosis nerviosa.

Citar como: Magnano, G., Macio, M., Bagnis, G., Macias, A., Sticotti, E., Redondo, E., Schneider, M., Fernández, J., Barbieris, C., Ramirez, M. y Giraudo, J. (2019) Descripción de tres casos del síndrome de oreja caída en bovinos. Revista Científica FAV-UNRC *Ab Intus* 4 (2): 75-84

Recibido: 15/08/19 **Aceptado:** 06/12/19

***Autor para correspondencia:** Gabriel Magnano. E-mail: gmagnano@ayv.unrc.edu.ar, Ruta Nacional 36, Km 601, 5800 Río Cuarto, Córdoba, Argentina. CP 5800 Tel 0358-4676510.

Financiamiento: Este trabajo fue financiado por la remuneración correspondiente al servicio de diagnóstico del Dpto. de Patología Animal de la FAV.

Description of three cases of fallen ear syndrome in cattle

Key words

cattle
“fall ear”
Cryptococcus

Abstract. The syndrome known as “fall ear” is a clinical disease observed in cattle. Several etiologies have been described to cause the disease. The aim of this study was to characterize 3 cases of “fall ear” in cattle, with *Cryptococcus* identification. Two cases were from feedlot cattle and one case from a dairy calf. Clinical examinations, necropsies, histopathological techniques and different methodologies were carried out, including fungal isolation and identification. In all the cases, an increase in the size of the Gasser ganglion was observed. A granulomatous reaction and structures positive to PAS dyeing compatible with *Cryptococci* were found in the histopathological study. A diagnosis compatible with nervous cryptococcosis in the 3 cases was determined through isolation and typification of *Cryptococcus neoformans* in 1 animal, anatomo-histopathological studies and structure and dyeing. Through tissue PAS dyeing and fungal isolation, structures compatible with *Cryptococci* were described.

INTRODUCCIÓN

El síndrome conocido como “oreja caída” es un hallazgo clínico esporádico en los sistemas productivos bovinos (Odriozola, et al. 2009). Comúnmente se observa parálisis facial, generalmente unilateral que incluye caída del pabellón auricular, ptialismo, parálisis de la lengua, rechinar de dientes y caída de párpado, entre otros; acompañado de síntomas nerviosos como incoordinación, tambaleo, desplazamiento lateral, caminar en círculos amplios. Entre las principales causas figuran listeriosis, *Mycoplasma bovis*, Rinotraqueitis bovina infecciosa (IBR), abscesos y tumores cerebrales, intoxicación por *Prosopis sp*, otitis media o interna y cryptococosis. En algunas ocasiones no se ha podido determinar con exactitud la etiología (Odriozola et al., 2009; Sager et al., 2011; Romero Harry et al., col. 2014; Rivera et al., 2018).

La cryptococosis es una enfermedad causada por una levadura del género *Cryptococcus*. Este microorganismo se presenta como un patógeno oportunista, tanto para el hombre, como para los animales y afecta principalmente a huéspedes inmunodeprimido (Cabañes, 2008). Se encuentra en mayor cantidad en tierras frecuentadas por aves, sobre todo palo-

mas, pavos y pollos ya que la elevada concentración de creatinina de las heces contribuiría al desarrollo de los criptococos (Rosario et al., 2008).

En la actualidad este género está constituido por más de 37 especies, que en su gran mayoría no provocan enfermedad, siendo las dos especies patógenas más importantes: *C. neoformans var. grubii* (serotipo A), *C. neoformans var. neoformans* (serotipo D), el híbrido AD y *C. gattii* (serotipos B y C). Ambas son tinción de ácido periódico de Schiff (PAS) positivo (García Sanchez et al., 2012). Típicamente son células simples o con un brote, de 2 a 15 µm de diámetro, rodeadas de una gran cápsula de mucopolisacáridos (Cabañes, 2008).

La infección por criptococos puede ser localizada o sistémica y se caracteriza por lesiones de tipo granulomatosas. La histopatología es una técnica diagnóstica importante para las infecciones fúngicas, ya que se pueden observar lesiones específicas y presencia de las levaduras (Jubb et al., 2007).

Debido a lo novedoso de nuestros hallazgos y a la falta de información acerca de la presencia del síndrome en nuestro país, el objetivo del presente trabajo es describir tres casos de oreja caída en bovinos y su posible etiología.

MATERIALES Y MÉTODOS

Caso 1: se presentó en un engorde a corral de 53 bovinos de raza Holando Argentino cuyas edades oscilaban entre 4 y 8 meses. El campo estaba ubicado en la localidad de Serrano, departamento Presidente Roque Sáenz Peña, provincia de Córdoba, Argentina. Los animales provenían de varios establecimientos lecheros de la zona.

Del total, cuatro (7,5%) animales fueron afectados. La sintomatología se inició aproximadamente un mes después del ingreso al engorde. Los principales hallazgos clínicos fueron caída unilateral de oreja (Figura 1), ptialismo, caída de párpado y queratitis

del mismo lado de la oreja caída. Los animales se rehusaban a comer o lo hacían con dificultad. La temperatura corporal en todos los casos era normal. Los cuadros clínicos, al momento de nuestra visita, llevaban entre 20-30 días.

Se necropsió uno de los animales afectados del cual se tomaron muestras de sistema nervioso central y nervios craneales para histopatología (con tinción de Hematoxilina- Eosina y PAS), bacteriología de rutina para microorganismos aerobios y anaerobios, y virología por cultivo en monocapa para herpes virus bovino tipo 1.



Figura 1. Caída del pabellón auricular derecho (flecha).

Como información complementaria, los veterinarios actuantes reportaron otros casos similares en un tambo y en un engorde de la misma región. Asimismo, se observó una abundante presencia de palomas en los árboles que servían de sombra para los animales.

Caso 2: se presentó en un engorde a corral en la zona de Buchardo, distante 30 km de la localidad de Serrano, Córdoba, Argentina. El establecimiento contaba con aproximadamente 100 animales Aberdeen Angus de aproximadamente 9 meses de edad, adquiridos en diferentes orígenes, que hacía 90 días se encontraban en encierre. Se observaron tres animales con parálisis facial con caída del pabellón auricular y ptosis palpebral unilateral, protrusión de la lengua, sialorrea y queratitis (Figura 2). En otros dos animales se observó cierta rigidez al caminar y el cuello estirado.

Otro bovino presentaba múltiples lesiones ulcerosas y proliferativas circulares en el morro y entrando a la cavidad nasal lo que le dificultaba respirar; de estas lesiones se realizaron biopsias teñidas con Hematoxilina-Eosina.

En este campo se procedió a la necropsia de uno de los animales que presentaba la oreja derecha caída. Al igual que en el caso 1, se tomaron muestras para histopatología, bacteriología y virología.

Al igual que en el caso 1 se determinó que era muy abundante la presencia de palomas en el establecimiento.

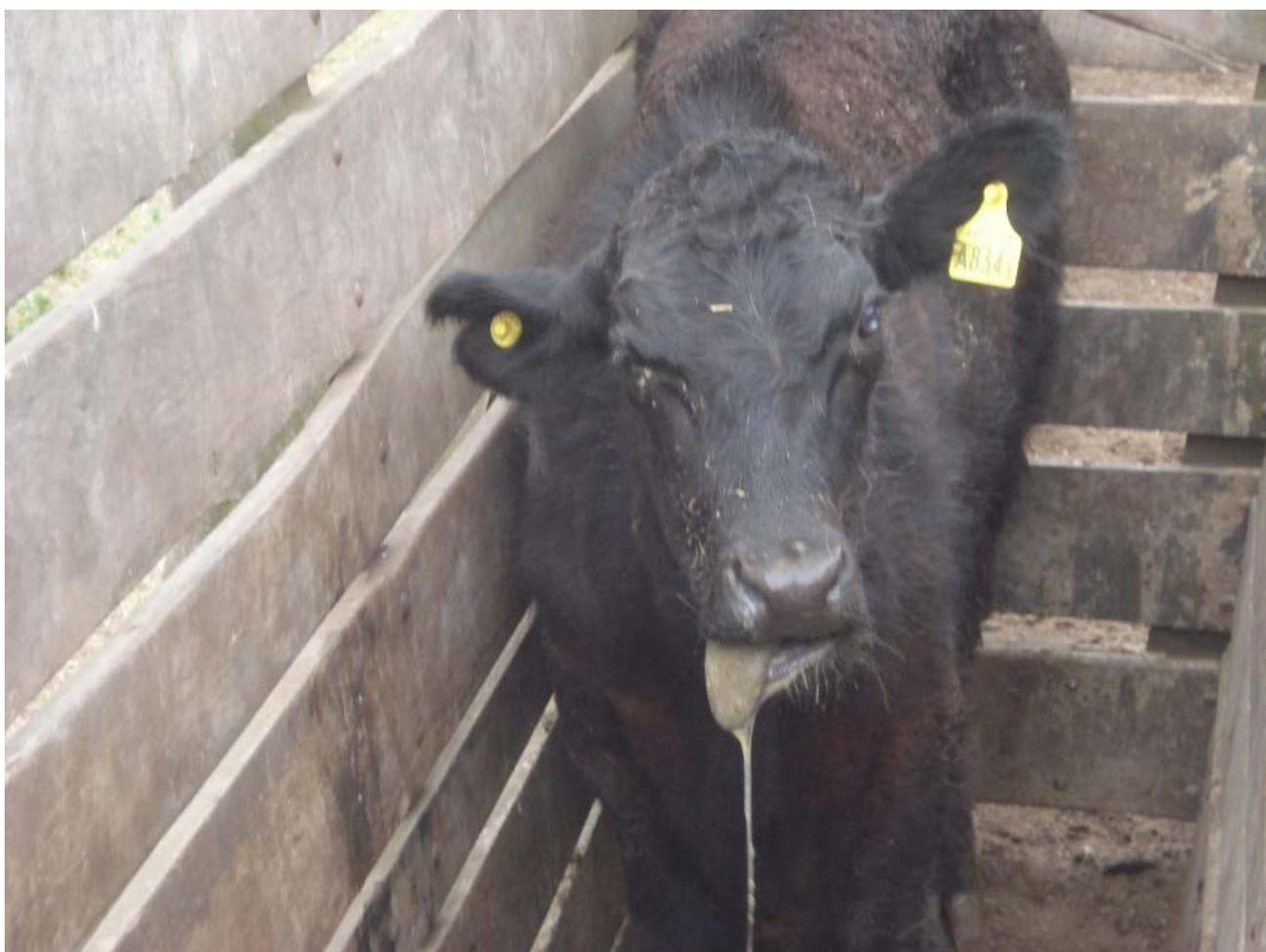


Figura 2. Parálisis facial con caída del pabellón auricular y ptosis palpebral unilateral, protrusión de la lengua, sialorrea y queratitis.

Caso 3: Ocurrió en un tambo ubicado en Ballesteros, centro-oeste de la provincia de Córdoba, Argentina. A diferencia de los anteriores, los animales afectados eran terneros, Holando Argentino, menores de 60 días que estaban aún en la guachera con sistema de estaca. Los mismos permanecían alojados debajo de un monte de eucaliptus con gran presencia de pájaros, especialmente loros. Se observó en la recorrida y por datos obtenidos en la anamnesis que existía una rutina de alimentación y condiciones de alojamiento precarias, se ofrecía agua y leche una vez al día, al momento de la visita ningún ternero tenía agua disponible. En aproximadamente un mes, 13/27 (48%) animales presentaron diferentes sintomatologías nerviosas: una o ambas orejas caídas, parálisis de párpados, parálisis de labio inferior, conjuntivitis y opacidad de córnea, debilidad, deshidratación, dificultad para respirar (algunos terneros mostraron todos los síntomas y otros solo algunos, especialmente oreja caída). Cuatro de los terneros afectados habían muerto. Se realizó la necropsia de una ternera de 50 días, con ambas orejas caídas, parálisis facial y de la lengua, que llevaba 10 días con síntomas.

Se recolectaron muestras de sangre con y sin anticoagulante de 3 animales sin síntomas y de 3 con síntomas para realizar hemograma completo y serología para IBR.

Del animal necropsiado se obtuvieron muestras de líquido céfalo raquídeo (LCR) para examen físi-

co químico; ganglio de Gasser para bacteriología, virología e histopatología y en esta oportunidad se incorporaron cultivos para *Mycoplasma spp.* y hongos. El aislamiento de *Mycoplasma spp.* se realizó en medio sólido específico suplementado con y fueron cultivados en estufa gaseada al 5% con dióxido de carbono durante 5 a 8 días.

El cultivo de hongos se realizó mediante un aislamiento primario en medio agar extracto semillas de girasol (girasol molido 200 g, glucosa 20 g, agar 20 g, agua 1000 ml y cloranfenicol para evitar la contaminación bacteriana) y tinción con Tinta China. La identificación se realizó con el método fungifast, mediante fermentación de azúcares (amidasa-trealososa-maltosa-celobiosa-rafinosa-lactosa-sustrato de fenol oxidasa- urea).

RESULTADOS

Caso 1. Necropsia: el ojo, del mismo lado de la oreja caída, presentaba queratitis generalizada crónica con un marcado engrosamiento y opacidad de la cornea. No se observó hipopión (colecta de pus en cámara anterior del ojo). Ambos conductos auditivos presentaban características normales.

Sistema nervioso central: congestión meníngea leve. En el nervio trigémino del lado de la oreja caída, la zona del ganglio de Gasser (ingreso a la cavidad craneana) presentaba un aumento de tres veces el tamaño normal, comparado con el opuesto (Figura 3), y un aspecto finamente granular de color blanquecino, firme al corte

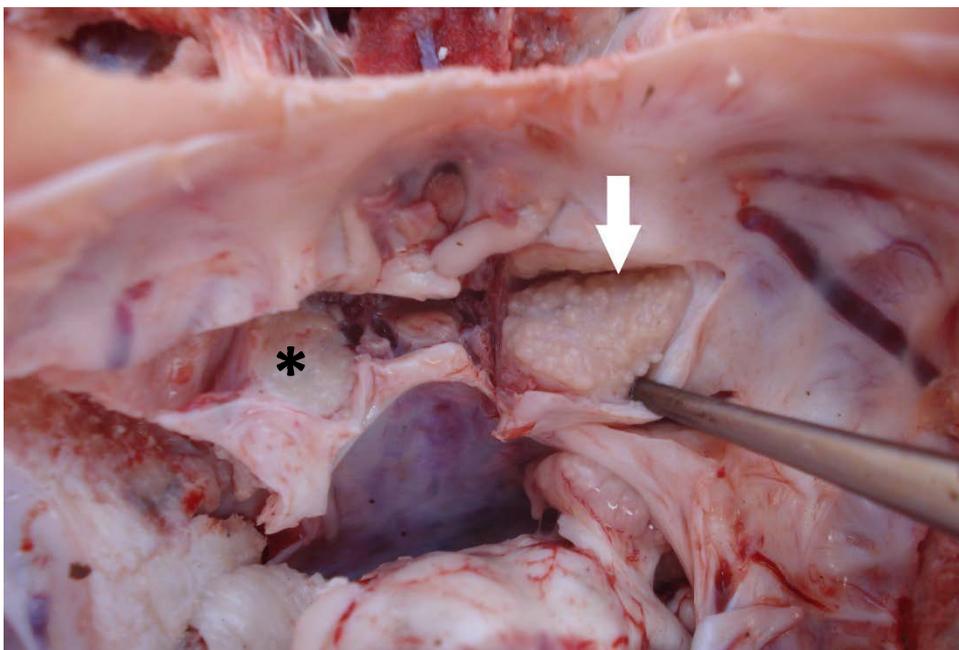


Figura 3. Diferencia de tamaño entre el ganglio de Gasser derecho (flecha) con aspecto granular y el izquierdo (asterisco) normal.

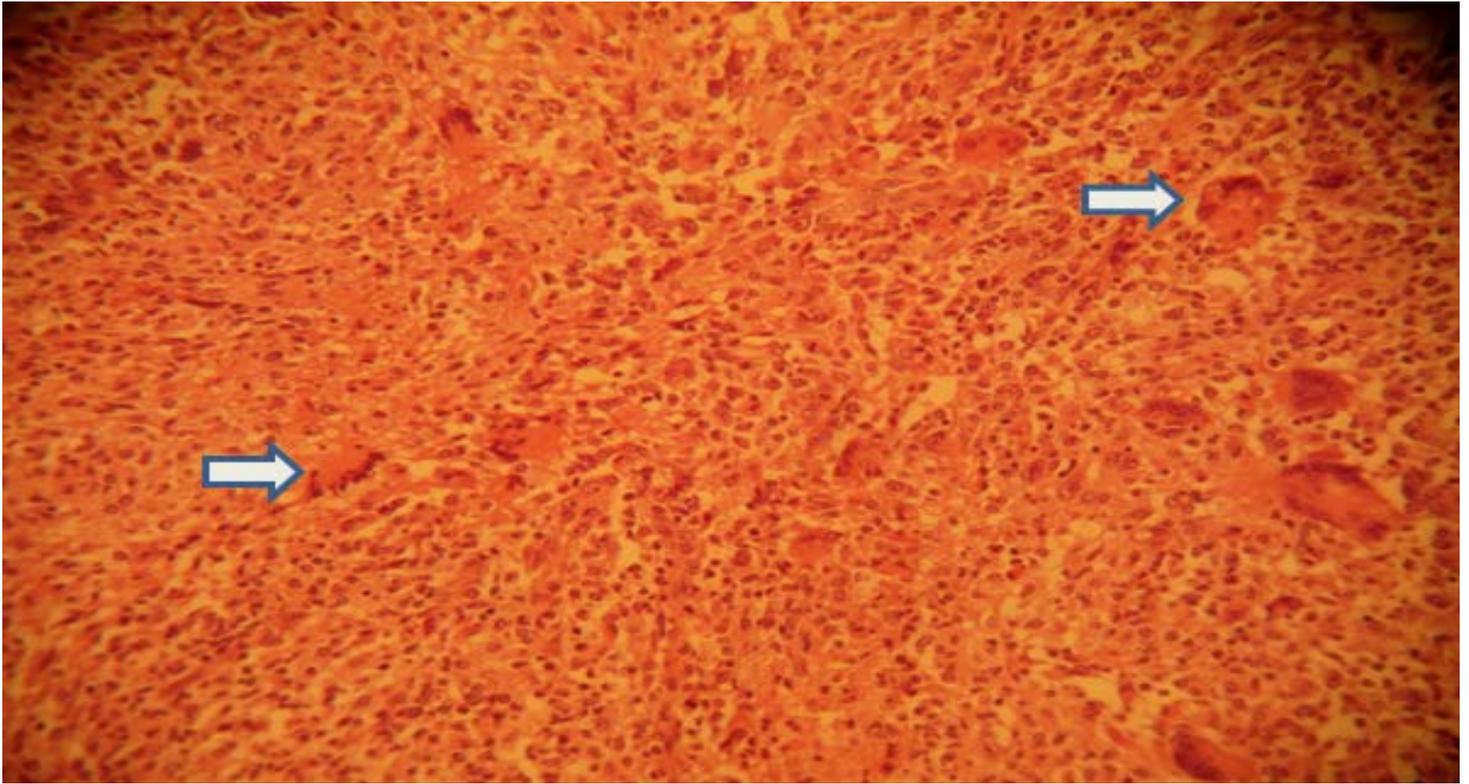


Figura 4. Ganglio de Gasser donde se observa reacción inflamatoria granulomatosa con presencia de numerosas células gigantes (flechas). Tinción H/E 100X.

No se observaron lesiones macroscópicas en otros órganos.

Los hallazgos histopatológicos de los cortes del Ganglio de Gasser con tinción de Hematoxilina-Eosina mostraban áreas de forma circular rellenas casi exclusivamente con células mononucleares y entremezclándose en ellas, algunas células gigantes multinucleadas (Figura 4).

En un mayor aumento y en el interior de esas áreas, se observaron estructuras redondeadas, de tamaño aproximado de un linfocito pequeño, que poseían una parte central radiada acidofílica y una estructura capsular en la periferia (Figura 5).

Con la tinción de PAS esas estructuras tomaron un color rojo intenso más acentuado en el interior de la misma y un color azulado-rojizo el borde externo (Figura 6).

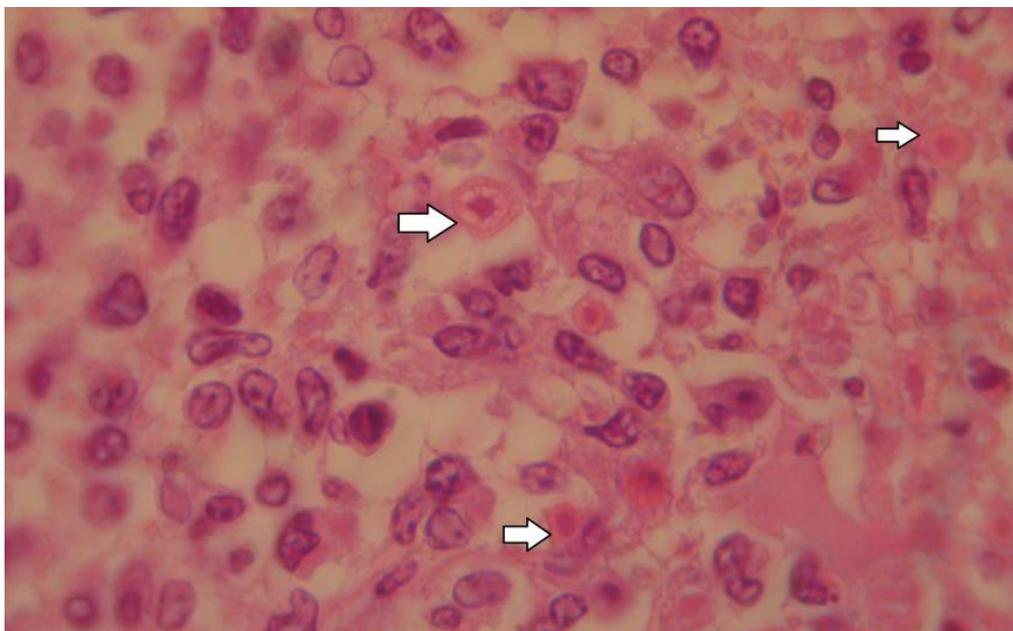


Figura 5: Ganglio de Gasser con presencia de estructuras redondeadas radiadas (flecha) compatibles con *Cryptococcus sp.* Tinción H/E 1000X.

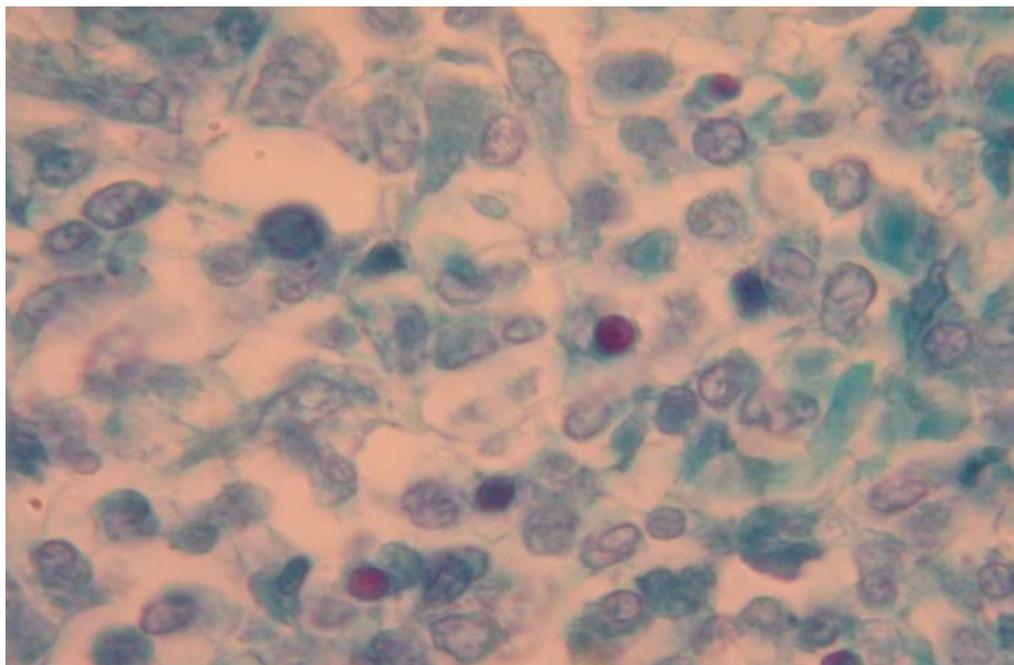


Figura 6. Ganglio de Gasser donde se observan estructuras coloreadas de fucsia (PAS positiva) compatibles con *Cryptococcus sp.* Tinción de PAS 1000X

Las características estructurales y tintoriales indican que estos organismos se corresponden con *Cryptococcus spp.* Los demás cortes del sistema nervioso, no evidenciaron lesiones ni presencia del agente.

Los estudios bacteriológicos y virológicos fueron negativos.

Caso 2: el principal hallazgo observado a la necropsia fue una marcada diferencia de tamaño en los núcleos nerviosos del nervio trigémino sobre la base del cerebro (el derecho de 1 cm y el izquierdo de 2 cm) contrario a lo esperado del lado de la oreja caída. No obstante, al corte se observaba aspecto granular en ambos más acentuado en el izquierdo.

Las lesiones histopatológicas encontradas en ambos ganglios de Gasser fueron similares a las encontradas en el primer caso. Se observaron las mismas estructuras redondeadas con una parte central radiada acidofílica y una estructura capsular en la periferia, compatibles con criptococos.

En la biopsia de piel del animal con el morro afectado se observaron también lesiones granulomatosas con abundante presencia de estructuras compatibles con criptococos.

Los estudios bacteriológicos y virológicos fueron negativos.

Caso 3: macroscópicamente se observó que el ganglio de Gasser del lado derecho presentaba aspecto granular, blanquecino y un aumento de tamaño de 2 a 3 veces comparado con el izquierdo.

Los hallazgos histopatológicos fueron similares a los casos anteriores detectándose nuevamente las estructuras compatibles con *Cryptococcus sp.*; también se observó una reacción inflamatoria de tipo granulomatosa, aunque en esta oportunidad sin la presencia de células gigantes.

Los hemogramas de los animales con y sin síntomas clínicos fueron normales y la serología para IBR fue negativa.

El examen físico-químico del LCR del animal necropsiado, demostró únicamente leve presencia de proteínas.

Los estudios bacteriológicos y virológicos fueron negativos. El mismo resultado se obtuvo en el cultivo de *Mycoplasma sp.* El cultivo del material para el aislamiento e identificación de hongos, fue positivo identificándose *Cryptococcus neoformans* (Figura 7).

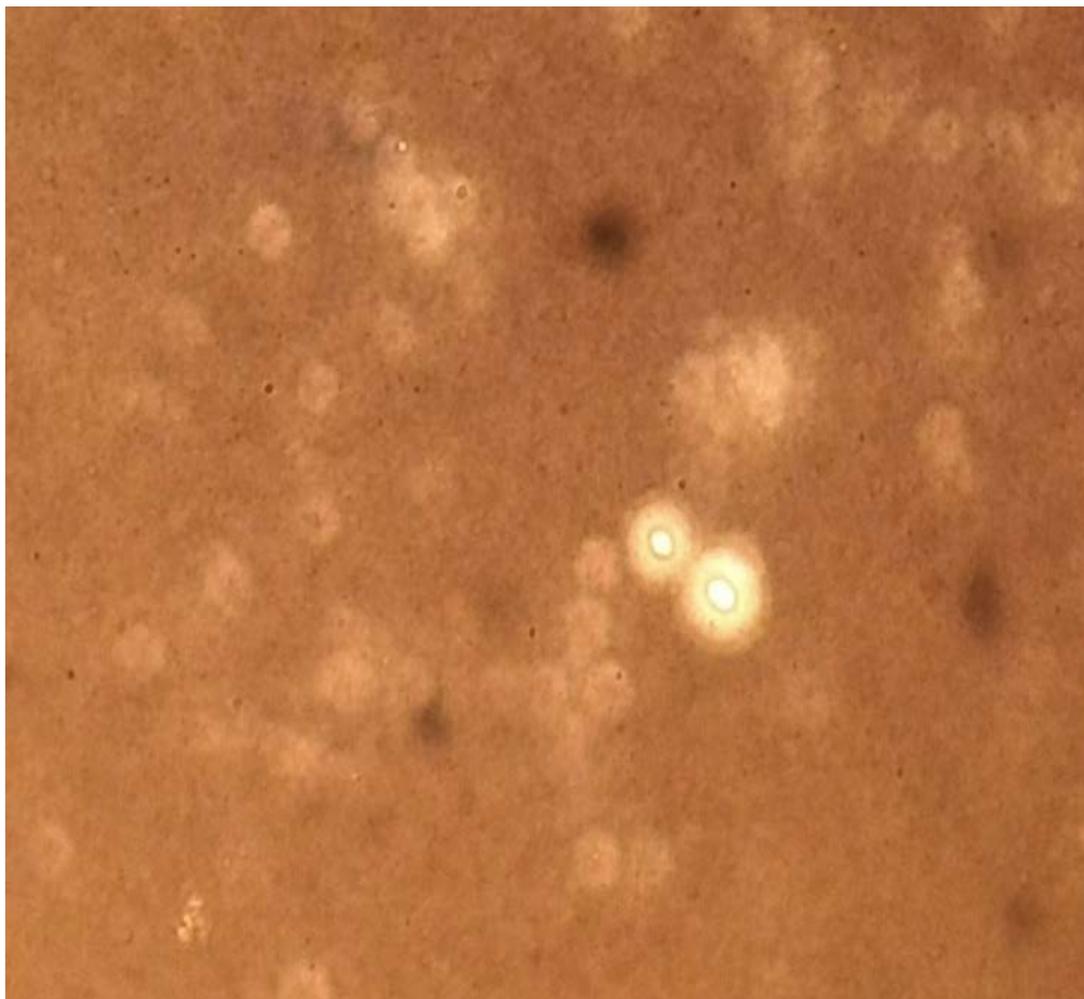


Figura 7. Aislamiento de *Cryptococcus spp* a partir de muestras de ganglio de Gasser. Tinción de tinta china 1000X.

DISCUSIÓN

En los casos 1 y 2 la presencia de sintomatología nerviosa atribuible a la afección de nervios craneales, sumado a la observación de lesiones macroscópicas y microscópicas granulomatosas e identificación de levaduras a la histopatología y tinción de PAS, serían compatibles con un cuadro de criptococosis nerviosa. En el caso 3, donde además de todos los hallazgos descritos en los dos anteriores se aisló *Cryptococcus neoformans*, podemos concluir que en esta ocasión los cuadros se debieron a una criptococosis nerviosa, siendo esta la primera descripción con diagnóstico de certeza en Argentina. Cabe aclarar que en los primeros dos casos no se realizaron los diagnósticos para la identificación de hongos porque no se contaba en ese momento con los recursos necesarios para tal fin. La identificación de la especie de criptococo involucrada no siempre resulta fácil debido a que los medios de cultivo y los

kits de tipificación necesarios no son utilizados de rutina en los laboratorios de diagnóstico veterinario. En bovinos, la mayoría de los casos reportados por criptococosis, están relacionados con mastitis o problemas respiratorios (Refai et al., 2017). La sintomatología nerviosa ha sido descrita en pocas oportunidades. Magalhaes *et al.*, (2012) y Riet-Correa et al., (2011) observaron sintomatología nerviosa similar a la descrita en nuestros casos pero a la necropsia hallaron áreas necróticas, quísticas, de contenido gelatinoso blanco-amarillento en diferentes zonas del cerebro, sin lesiones en los nervios craneales. Esta presentación no fue advertida en ninguno de los animales necropsiados en nuestro estudio.

Alteraciones histopatológicas similares a nuestros casos, fueron descritas por Rivera et al. (2018) en bovinos con signos clínicos de parálisis facial; observando lesiones microscópicas en nervios craneales caracterizadas por reacción inflamatoria granuloma-

tosa, pero sin presencia de células gigantes como las encontradas en dos de nuestros casos. Estos autores no lograron determinar la causa de esas patologías. La ausencia de células gigantes en la reacción granulomatosa observada en el caso 3 podría deberse a que los animales eran muy jóvenes (menores de 60 días) por lo que el cuadro sería más reciente o a una cuestión técnica en donde en esa sección de tejido de 5 µm no había este tipo de células. Romero Harry et al., (2014) comunicaron casos de síndrome vestibular en bovinos de engorde a corral donde algunos de los síntomas fueron similares a los observados en nuestros casos (oreja caída uni o bilateral, queratitis, sialorrea) no obstante, los animales presentaban hipertermia y signos respiratorios como disnea. Estos autores sugieren una posible causa bacteriana no identificada ya que a la histopatología observaron meningitis fibrinosa multifocal crónica, con focos de necrosis licuefactiva y algunos animales tuvieron una respuesta favorable ante un tratamiento antibiótico.

Es importante destacar el rol que podrían tener las aves en la criptococosis ya que abundan principalmente loros y palomas en este tipo de producciones de nuestra región. Rosario et al., (2008) en una amplia revisión, describió que las excreciones de palomas son la fuente conocida más abundante de dicho microorganismo ya que la alta concentración de creatinina en su estiércol de paloma favorece el crecimiento de los criptococos. En el mismo artículo sugiere que la presencia de criptococo en las heces de las aves, se puede deber a una infección intestinal asintomática transitoria.

Los síntomas y lesiones macroscópicas encontradas en los tres animales necropsiados, se corresponden con las descritas por diferentes autores en el síndrome de oreja caída: queratitis, conjuntivitis, nódulos ulcerados en piel, encefalitis, entre otras (Jubb et al., 2007; Odriozola et al., 2009; Rivera et al., 2018). Dentro de los diagnósticos diferenciales planteados, se descartan cuadros nerviosos de listeriosis, debido a la ausencia de los clásicos microabscesos en tronco encefálico.

Algunos autores sugieren que lesiones multifocales granulomatosas en pares craneales, acompañados frecuentemente con otitis media y meningitis fibrinosa, podrían ser provocados por *Mycoplasma bovis* (Jubb et al., 2007). La ausencia de este tipo de exudado y de otitis media, sumado al resultado negativo del cultivo para *Mycoplasma sp.* en el último

caso, nos hace descartar esta etiología.

La ausencia de plantas de *Prosopis sp.* en los corrales o sitios donde estaban alojados los animales, permite excluir una posible intoxicación como causante de estos cuadros.

Tampoco se observaron macro ni microscópicamente lesiones neoplásicas cerebrales.

En todos los casos, los análisis bacteriológicos para agentes aerobios, anaerobios y cultivos celulares para herpes virus ovino tipo 1, fueron negativos descartando así la presencia de estos agentes.

Con respecto al tratamiento, en pequeños animales se utilizan fármacos antifúngicos (Ketaconazol, Fluconazol, Itraconazol, entre otros) que se administran diariamente vía oral por aproximadamente 6 a 10 semanas (Refai, 2017); consideramos difícil aplicar un tratamiento en bovinos debido a las altas dosis que deberían ser aplicadas, el elevado costo y tiempo de tratamiento sumado a las dificultades de manejo de los animales. Debido a lo anteriormente expuesto, se aconsejó a los productores la venta inmediata con destino a faena de los animales que iniciaban los síntomas y con ello evitar las pérdidas por la disminución de peso vivo.

Una observación práctica fue que varios de los animales afectados en los casos 1 y 2 se retiraron de los corrales y se trasladaron a potreros, mejorando su estado clínico con el paso de las semanas. En el caso 3 ocurrió una mejoría significativa de los terneros con sintomatología y no ocurrieron nuevos casos luego de mejorar la rutina de alimentación, el acceso a agua permanente y el cambio de lugar de la guachera. La explicación a este fenómeno podría ser la disminución de factores estresantes que existían en el corral, y con ello una mejoría en la respuesta inmune. Se describe en humanos una asociación directa entre la respuesta inmune y la presencia de casos de criptococosis (Robbins y Cotran, 2010). Esta misma razón habría determinado que en el caso 3, donde las condiciones consideradas estresantes eran más evidentes, la prevalencia de animales afectados haya sido mayor.

Con estos conceptos, las recomendaciones para disminuir el riesgo de presentación de casos serían reducir las situaciones estresantes para los animales y controlar la presencia de palomas y otras aves en lugares comunes de convivencia con los bovinos.

CONCLUSIÓN

El aislamiento y tipificación de *Cryptococcus neoformans*, los resultados de los exámenes anatómo-histopatológicos que incluyen la observación de estructuras compatibles con levaduras y la presencia de factores predisponentes tales como palomas y loros, indican que el caso 3 se corresponde con criptococosis nerviosa. Por otro lado, los casos 1 y 2, que presentaron hallazgos anatómo-histopatológicos y clínicos similares al caso 3 son compatibles con la misma afección; es necesario resaltar que en estos casos no se realizó el cultivo de *Cryptococcus sp.* por no contar en ese momento con los recursos apropiados.

Consideramos importante incluir esta etiología en el diagnóstico diferencial de problemas nerviosos en los bovinos, en especial cuando se presenta con el síntoma de oreja caída y/o parálisis facial.

REFERENCIAS

- Abañes, J. (2008). Micosis y zoonosis: *Cryptococcus spp.* Revista Iberoamericana de Micología; 25:S1-S3.
- García-Sánchez, A., Alonso, J., Benítez-Medina, J., Risco, D.; García, W., Martínez, R., Rey, J., Hermoso De Mendoza, J. y Hermoso De Mendoza, M. 2012. Criptococosis en ganado caprino por *Cryptococcus gattii*. Revista Cría y Salud, N°43. Madrid, España.
- Jubb, Kennedy y Palmer. (2007). Pathology of domestic animals. 5ta. Edición. Editorial Saunders
- Magalhães, G., Elsen Saut J., Beninati, A., Medeiros, G., Queiroz, S., Tsuruta, M. y Krockenberger, S. (2012). Cerebral Cryptococcomas in a Cow. Journal of Comparative Pathology, 147(2-3): 106-110.
- Odriozola, E., Diab S., Khalloub, P., Bengolea, A., **Lázaro, L.**, Caffarena D., Pérez, L., Cantón, G. y Campero, C. (2009). Parálisis facial e síndrome vestibular de bovinos em confinamento Pesquisa Veterinária Brasileira, 29(11):894-898.
- Refai, M., El-Hariri, M. y Alarousy, R. (2017). Cryptococcosis in animals and birds: a review. European Journal of Academic Essays, 4(8):202-223.
- Riet-Correa F., Krockenberger, M., Dantas, A. y Oliveira, D. (2011). Bovine cryptococcal meningoencephalitis. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 23(5):1056-1060.
- Rivera, M., Rial, C., Dorsch, M., Perdomo, R., Scioli, V., Fiorentino, M., Ziucolilli, G., Morrel, G., Cantón, G. y Odriozola, E. (2018). Parálisis facial y síndrome vestibular asociado a neuritis granulomatosa: reporte de dos episodios en terneros. XI RAPAVE, 8-10 agosto, La Plata.
- Robins y Cotran. (2010). Patología estructural y funcional. 8va Edición. Mc Graw Hill, España.
- Romero Harry, H., Miranda, A., Gauna, C., Trincheri, M., Minatel, L. y Giménez, H. (2014). Caso reportado de Síndrome Vestibular o Parálisis Facial en la provincia de La Pampa, Argentina. Veterinaria Argentina, XXXI, 318.
- Rosario, I., Acosta, B. y Colom, F. (2008). La paloma y otras aves como reservorio de *Cryptococcus sp.* Revista Iberoamericana de Micología, 25:13-18.
- Sager, R., Rossanigo, C. y Ferrero, G. (2000). Listeriosis en bovinos de engorde a corral. XIIIª Reunión Científica Técnica de la Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico (AAVLD). 15 al 17 de noviembre, Merlo, San Luis.