

AHOH-171 Rev. Cientif. FCV-LUZ, XXXIII, SE, 149-150, 2023, <https://doi.org/10.52973/rcfcv-wbc030>**Reproductive problems in water buffalo cows associated with non-diagnosed genital leptospirosis. Preliminary results****Rosaura Pérez-Gil***Centro Diagnóstico Veterinario Rosaura Pérez-Gil, Araure,
Venezuela.*Corresponding author: Rosaura Pérez-Gil, (rperezgil@gmail.com).**ABSTRACT**

Leptospirosis in female buffaloes can cause abortions, fetal death, premature calving, and the birth of weak and/or underweight calves; however, sub-fertility and early embryonic death have been little studied. In addition, it is not completely understood whether these reproductive problems are associated with the persistence of the bacteria in the reproductive tract. The main goal of this research is to demonstrate the presence of the bacterium *Leptospira* spp. in the genitourinary tract of *Bubalus bubalis* females. For this, samples of 25 females from 4 farms with poor reproductive performance were brought to a slaughterhouse, and samples of uteri, oviducts, ovaries, and kidneys were collected. Fresh tissue samples were cultured in the liquid Ellinghausen–McCullough–Johnson–Harris medium (EMJH), a selective medium for *Leptospira*. In addition, tissue samples were prepared for histological analysis by fixation in a 10% buffered formaldehyde solution and stained with hematoxylin and eosin. PCR was performed on nine culture samples for identification of *Leptospira* spp., by using two pairs of primer for the markers, G1-G2 derived from a sequence from the genomic library of *L. interrogans* serovar *icterohaemorrhagiae*, strain

Problemas reproductivos en vacas búfalo de agua asociados a leptospirosis genital no diagnosticada. Resultados preliminares

Rosaura Pérez-Gil*Centro Diagnóstico Veterinario Rosaura Pérez-Gil, Araure,
Venezuela.*Autor de correspondencia: Rosaura Pérez-Gil, (rperezgil@gmail.com).**RESUMEN**

La leptospirosis en búfalas puede provocar abortos, muerte fetal, partos prematuros y nacimiento de terneros débiles y/o de bajo peso; sin embargo, la subfertilidad y la muerte embrionaria temprana han sido poco estudiadas. Además, no se comprende del todo si estos problemas reproductivos están asociados con la persistencia de las bacterias en el tracto reproductivo. El objetivo principal de esta investigación es demostrar la presencia de la bacteria *Leptospira* spp. en el tracto genitourinario de las hembras de *Bubalus bubalis*. Para ello, se llevaron a un matadero muestras de 25 hembras de 4 granjas con bajo rendimiento reproductivo, y se recolectaron muestras de útero, oviductos, ovarios y riñones. Se cultivaron muestras de tejido fresco en el medio líquido Ellinghausen–McCullough–Johnson–Harris (EMJH), un medio selectivo para *Leptospira*. Además, se prepararon muestras de tejido para análisis histológico mediante fijación en una solución tamponada de formaldehído al 10% y se tiñeron con hematoxilina y eosina. Se realizó PCR en nueve muestras de cultivo para la identificación de *Leptospira* spp., utilizando dos pares de cebadores para los marcadores, G1-G2 derivados de una secuencia de

RGA, which was described by Gravekamp et al. (1993) and Internal 1 and Internal 2 derived from the sequence of the gene encoding the LipL32 protein and specific to identify pathogenic *Leptospira*, described by Haake et al. (2000). The reproductive efficiency of the farms was characterized by prolonged days open and calving intervals (average of 307 and 587 days, respectively). In addition, the abortion rate averaged 40%, and the occurrence of hemoglobinuria, jaundiced vaginal mucosa, and congestive vaginal mucosa were 32%, 16%, and 24% respectively. The histological examination revealed uterine fluid (68%), uterine fibrosis (48%), chronic non-suppurative endometritis in 68%, severe glandular atrophy in 44%, and hemorrhage in the perimetrium in 60%. In oviducts, fibroplasia was observed in 52% of samples and salpingitis in 32%, while in kidneys, chronic interstitial nephritis was observed in 56% of samples. At the ovary level, 16% of follicular cysts, 20% of atrophy, and persistent corpus luteum in 28% were observed. The tissue culture was positive for *Leptospira* spp. in the following percentages: uterus 76%, ovary 84%, oviduct 88%, and kidney 96%. PCR using the marker G1-G2 revealed the presence of *Leptospira* DNA in 55.5% of uterus, ovary, and oviduct samples, and 44.4% of kidneys; and using the primer Internal 1 and 2 identified pathogenic *Leptospira* spp. in 55.5% of the uterus and kidney samples, 33.3% in ovaries and 66.6% oviduct. These results show reproductive problems in female buffaloes associated with genital leptospirosis. These findings suggest the need to develop new approaches for diagnosing this pathology using molecular techniques and bacterial cultures, as well as the evaluation of new prophylactic and therapeutic alternatives to avoid the colonization of the reproductive tract.

Keywords: sub-fertility, genital tract, jaundice, histologic & pathologic, PCR.

la biblioteca genómica de *L. interrogans* serovar *icterohaemorrhagiae*, cepa RGA, que fue descrita por Gravekamp. et al. (1993) e Internal 1 e Internal 2 derivados de la secuencia del gen que codifica la proteína LipL32 y específico para identificar *leptospiras* patógenas, descrito por Haake et al. (2000). La eficiencia reproductiva de las granjas se caracterizó por días abiertos prolongados e intervalos entre partos elevados (promedio de 307 y 587 días, respectivamente). Además, la tasa de aborto promedió el 40% y la aparición de hemoglobinuria, mucosa vaginal con ictericia y mucosa vaginal congestiva fue del 32%, 16% y 24% respectivamente. El examen histológico reveló líquido uterino (68%), fibrosis uterina (48%), endometritis crónica no supurativa en 68%, atrofia glandular severa en 44% y hemorragia en el perimetrio en 60%. En oviductos se observó fibroplasia en el 52% de las muestras y salpingitis en el 32%, mientras que en riñones se observó nefritis intersticial crónica en el 56% de las muestras. A nivel de ovario se observó un 16% de quistes foliculares, un 20% de atrofia y cuerpo lúteo persistente en un 28%. El cultivo de tejido fue positivo para *Leptospira* spp. en los siguientes porcentajes: útero 76%, ovario 84%, oviducto 88% y riñón 96%. La PCR utilizando el marcador G1-G2 reveló la presencia de ADN de *Leptospira* en el 55,5% de las muestras de útero, ovario y oviducto, y en el 44,4% de los riñones; y mediante el cebador Interno 1 y 2 se identificaron *Leptospira* spp patógenas, en el 55,5% de las muestras de útero y riñón, el 33,3% en ovarios y el 66,6% de oviducto. Estos resultados muestran problemas reproductivos en búfalas hembras asociados con leptospirosis genital. Estos hallazgos sugieren la necesidad de desarrollar nuevos enfoques para el diagnóstico de esta patología mediante técnicas moleculares y cultivos bacterianos, así como la evaluación de nuevas alternativas profilácticas y terapéuticas para evitar la colonización del tracto reproductivo.

Palabras clave: subfertilidad, tracto genital, ictericia, histológico y patológico, PCR.