

AHOH-172 Rev. Cientif. FCV-LUZ, XXXIII, SE, 223-224, 2023, <https://doi.org/10.52973/rcfcv-wbc083>**The use of bacterial culture for Leptospirosis diagnosis in female water buffaloes****Rosaura Pérez-Gil^{1*}, Oriana Gavidia¹, Juan Torres²**¹Centro Diagnóstico Veterinario Rosaura Pérez-Gil, Araure, Venezuela.²Clínica Bovina, Venezuela.*Corresponding author: Pérez-Gil, Rosaura (rperezgil@gmail.com).**ABSTRACT**

The test most used for leptospirosis diagnosis is the Microagglutination Test (MAT). However, the low antibody titers in chronic infections induced by strains adapted to bovines can limit the interpretation of the correct results. The bacteriological culture of *Leptospira* spp. is the gold standard test because it can demonstrate the agent's presence. Therefore, this research aimed to reveal the presence of *Leptospira* spp. in aborted fetuses, genital-urinary secretions of female and male *Bubalus bubalis*, food raw materials, and rodent feces using bacteriological culture. The analyses were performed on a farm located in the state of Cojedes, Venezuela. This farm has an abortion rate of 17,05% and 2,98% mortality at birth. For this, 18 blood samples (16 females and two males) were extracted by puncture of the jugular vein, and these were allowed to coagulate to obtain the serum and urine samples from 2 female buffaloes, one male buffalo, and semen from 2 other animals, were collected. Additionally, two fetuses of 120 and 75 days of gestation were collected. Also, after the necropsy, fluid samples were obtained from the abdomen, umbilical artery, ocular and thoracic cavities, and amniotic liquid, and two samples of liver,

El uso del cultivo bacteriano para el diagnóstico de Leptospirosis en búfalas de agua hembras

Rosaura Pérez-Gil^{1*}, Oriana Gavidia¹, Juan Torres²¹Centro Diagnóstico Veterinario Rosaura Pérez-Gil, Araure, Venezuela.²Clínica Bovina, Venezuela.*Corresponding author: Pérez-Gil, Rosaura (rperezgil@gmail.com).**RESUMEN**

La prueba más utilizada para el diagnóstico de leptospirosis es la Prueba de Microaglutinación (MAT). Sin embargo, las bajas concentraciones de anticuerpos en infecciones crónicas inducidas por cepas adaptadas a bovinos pueden limitar la interpretación de los resultados correctos. El cultivo bacteriológico de *Leptospira* spp. es la prueba estándar de oro porque puede demostrar la presencia del agente. Por lo tanto, esta investigación tuvo como objetivo revelar la presencia de *Leptospira* spp. en fetos abortados, secreciones genito-uritarias de *Bubalus bubalis* hembra y macho, materias primas alimentarias y heces de roedores mediante cultivo bacteriológico. Los análisis se realizaron en una finca ubicada en el estado Cojedes, Venezuela. Esta finca tiene una tasa de aborto del 17,05% y una mortalidad al nacer del 2,98%. Para ello se extrajeron 18 muestras de sangre (16 hembras y dos machos) mediante punción de la vena yugular, que se dejaron coagular para obtener el suero, así como muestras de orina de 2 búfalas hembra, un búfalo macho y semen recogido de otros 2 animales. Además, se recolectaron dos fetos de 120 y 75 días de gestación. Tras la necropsia se obtuvieron muestras

spleen, kidney, lung, heart, and brain were collected. Furthermore, samples of food ration and of the four by-products (corn silage, hay, urea, mineral) that compose it were collected, besides the rodent feces found in the storage where the food was preserved. The standard serological MAT was performed with a panel of strains of 7 *Leptospira* serovars. The fluids and tissue samples were inoculated in Ellinghausen–McCullough–Johnson–Harris medium (EMJH), a liquid culture medium selective for *Leptospira*. A portion of the tissue sample was fixed in 10% buffered formalin for histological slices and routine H-E staining. The MAT results indicated titers of 1:50 for the *Icterohaemorrhagiae* serovar at 5.5%, *Pomona* at 5.5%, and *Bratislava* at 5.5%. The serovars *Canicola*, *Grippotyphosa*, *Harjo bovis*, and *Harjo pratjino* were negative. There was a growth of *Leptospira* spp. in fetal fluids from the abdomen, umbilicus, thorax, liver, spleen, lung, kidney, and heart tissues; in the same way, *Leptospira* spp. growth was obtained after the culture of urine and semen samples, food, corn silage, hay, urea-mineral and rodent feces. Histopathology analysis showed lesions in the spleen as extra-medullary hematopoiesis and hemorrhage; in the kidney (multifocal hemorrhages, tubular degeneration, and edema) while in the lungs, perivascular hemorrhages and degeneration of the vascular wall were observed. In conclusion, these preliminary results suggest that the MAT cannot diagnose all Leptospirosis cases correctly, especially chronic infections characterized by low antibodies. At the same time, the culture in EMJH seems to solve this weakness, as *Leptospira* spp. growth was obtained from different biological samples. Additionally, these preliminary findings confirm *Leptospira* is an agent involved in abortions, as we obtained *Leptospira* spp. growth from aborted fetus samples. Finally, it is likely that this bacterium growing in the bacteriological cultures belongs to a serovar different from those in the panel of strains used in MAT, so the cultures were preserved for subsequent studies that contemplate molecular identification.

Keywords: *Leptospira*, antibodies, MAT, buffaloes.

de fluidos del abdomen, arteria umbilical, cavidades ocular y torácica y líquido amniótico, y se recogieron dos muestras de hígado, bazo, riñón, pulmón, corazón y cerebro. Además, se recolectaron muestras de la ración alimenticia y de los cuatro subproductos (ensilaje de maíz, heno, urea, mineral) que la componen, además de heces de roedores encontradas en el depósito donde se conservaba el alimento. El MAT serológico estándar se realizó con un panel de cepas de 7 serovares de *Leptospira*. Los fluidos y muestras de tejido se inocularon en medio Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH), un medio de cultivo líquido selectivo para *Leptospira*. Una porción de la muestra de tejido se fijó en formalina tamponada al 10% para cortes histológicos y tinción HE de rutina. Los resultados de MAT indicaron concentraciones de 1:50 para el serovar *Icterohaemorrhagiae* al 5,5%, *Pomona* al 5,5% y *Bratislava* al 5,5%. Los serovares *Canicola*, *Grippotyphosa*, *Harjo bovis* y *Harjo pratjino* resultaron negativos. Hubo un crecimiento de *Leptospira* spp. en fluidos fetales del abdomen, ombligo, tórax, hígado, bazo, pulmón, riñón y tejidos del corazón; de la misma manera, se obtuvo el crecimiento de *Leptospira* spp. luego del cultivo de muestras de orina y semen, alimentos, ensilaje de maíz, heno, urea-mineral y en heces de roedores. El análisis histopatológico mostró lesiones en el bazo como hematopoyesis extramedular y hemorragia; en el riñón (hemorragias multifocales, degeneración tubular y edema); mientras que en el pulmón, se observaron hemorragias perivasculares y degeneración de la pared vascular. En conclusión, estos resultados preliminares sugieren que el MAT no puede diagnosticar correctamente todos los casos de Leptospirosis, especialmente las infecciones crónicas caracterizadas por niveles bajos de anticuerpos. Al mismo tiempo, el cultivo en EMJH parece solucionar esta debilidad, ya que el crecimiento de *Leptospira* spp. se obtuvo de diferentes muestras biológicas. Además, estos hallazgos preliminares confirman que *Leptospira* es un agente involucrado en abortos, ya que obtuvimos *Leptospira* spp. crecimiento de muestras de fetos abortados. Finalmente, es probable que esta bacteria que crece en los cultivos bacteriológicos pertenezca a un serovar diferente a los del panel de cepas utilizadas en MAT, por lo que los cultivos se conservan para estudios posteriores que contemplen la identificación molecular.

Palabras clave: *Leptospira*, anticuerpos, MAT, búfalos.