

## DIFERENTES TIPOS DE CONTAMINAÇÃO DO EJACULADO DE MACHOS DOMÉSTICOS

*(Different types of ejaculate contamination in domestic males)*

Carlos Diego de Souza RIBEIRO<sup>1\*</sup>; Gustavo Bezerra Nobre do VALE<sup>1</sup>; Ruan Gabriel Mota FALCÃO<sup>1</sup>; Fernando Sérgio Vasconcelos ARAÚJO<sup>1</sup>; Ricardo TONIOLLI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará (UECE). Av. Doutor. Silas Munguba, 1700. Campus Itaperi, Fortaleza/CE, CEP: 60714-903; <sup>2</sup>Laboratório de Reprodução Suína e Tecnologia de Sêmen (FAVET/UECE). \*E-mail: [carlosdiegosousaribeiro@gmail.com](mailto:carlosdiegosousaribeiro@gmail.com)

### RESUMO

Atualmente, a técnica de inseminação artificial (IA) representa uma abordagem predominante na reprodução de diversas espécies domésticas. Embora existam excelentes resultados relatados em diversas espécies utilizando esta biotécnica, sabe-se que para alcançar sucesso nos programas de IA é fundamental que os reprodutores produzam doses de sêmen que mantenham a qualidade e a proteção dos espermatozoides após a ejaculação. Doses de sêmen consideradas de boa qualidade devem apresentar, dentre outras características, um volume adequado à espécie em questão e serem aprovadas em testes rigorosos de morfologia, motilidade espermática e contaminação. Esses critérios são cruciais para garantir um bom desempenho reprodutivo dos animais. Um entrave encontrado muitas vezes durante a IA, é a contaminação do ejaculado, desta forma, é de suma importância evitar qualquer tipo de contaminação durante todas as etapas do processo, desde a preparação para a coleta até o uso subsequente do sêmen na biotécnica propriamente dita. Deste modo, a presente revisão de literatura tem como objetivo fornecer uma visão abrangente sobre as principais fontes de contaminação do ejaculado de animais domésticos, sendo elas: contaminação bacteriana, vírus, contaminação química e erro de manejo.

**Palavras-Chave:** Inseminação artificial, biossegurança, contaminação, coleta de sêmen, cuidado sanitário.

### ABSTRACT

Currently, the artificial insemination (AI) technique represents a predominant approach in reproducing several domestic species. Although there are excellent results reported in several species using this biotechnology, it is known that to achieve success in AI programs it is essential that breeders produce doses of semen that maintain the quality and protection of sperm after ejaculation. Doses of semen considered of good quality must present, among other characteristics, a volume suitable for the species in question and pass rigorous tests of sperm morphology, motility, and contamination. These criteria are crucial to guarantee the good reproductive performance of animals. An obstacle often encountered during AI is the contamination of the ejaculate, therefore, it is extremely important to avoid any type of contamination during all stages of the process, from preparation for collection to the subsequent use of the semen in the biotechnology itself. Therefore, this literature review aims to provide a comprehensive view of the main sources of contamination of the ejaculate of domestic animals, namely: bacterial contamination, viruses, chemical contamination, and contamination by handling error.

**Keywords:** Artificial insemination, biosecurity, contamination, semen collection, health care.

### INTRODUÇÃO

A inseminação artificial é a biotécnica da reprodução mais importante e mais utilizada para o melhoramento genético animal, sendo aplicada nas mais variadas espécies, sendo elas de produção, como bovinos (BARUSELLI *et al.*, 2019), suínos (LUCINI e FUKUMOTO, 2023) e bubalinos (COLLARES e MELO, 2022), ou espécies de companhia, como cães (SICHERLE *et al.*, 2020).

No que diz respeito à utilização do sêmen, a pecuária brasileira tem-se mostrado consistente, com aumentos notáveis no número de coletas de sêmen bovino. Essa ascensão é

atribuída ao crescente emprego de biotecnologias de reprodução, que ampliaram de forma significativa a influência no mercado de sêmen e no aprimoramento genético animal. Essas técnicas potencializam a reprodução, aprimorada para o avanço e refinamento das características genéticas do gado, a alta produtividade e qualidade dos rebanhos (ASBIA, 2021).

Neste sentido, outra crescente atividade vem aumentando no cenário da produção animal mundial: a suinocultura. Esse crescimento estimula um desenvolvimento em vários setores produtivos, sendo o reprodutivo um dos mais influenciados. A crescente utilização da inseminação artificial (IA) em suínos nos últimos anos, fez com que questões relacionadas à sanidade e a biossegurança reprodutiva das granjas se tornassem importantes e essenciais para o sucesso da produção, uma vez que o diagnóstico de doenças em um determinado rebanho pode diminuir a lucratividade do agronegócio (MURGAS *et al.*, 2010).

Um aspecto de suma importância é a qualidade do sêmen usado nos programas de IA (BORGES *et al.*, 2016). Neste sentido, é necessária uma avaliação metódica dos ejaculados, a fim de evitar a utilização do sêmen contaminado. Muitos patógenos podem ser veiculados pelo sêmen e introduzidos em plantéis por meio da IA comprometendo a fertilidade e a prolificidade de um rebanho. Para se garantir a eficácia da IA, é crucial a implementação um programa eficiente de biossegurança, visando a manutenção da saúde dos reprodutores e a manipulação correta do ejaculado. Estas condições são necessárias para garantir a qualidade das doses inseminantes e consequente sucesso reprodutivo do rebanho (BIANCHI *et al.*, 2006).

O aumento da demanda pela IA levanta preocupações sobre a biossegurança em todas as fases do processo. É crucial implementar medidas rigorosas para minimizar o risco de contaminação, garantindo assim a qualidade do ejaculado. Além disso, o treinamento adequado dos profissionais envolvidos e a manutenção de altos padrões de higiene são fundamentais para garantir o sucesso da IA e preservar a saúde reprodutiva dos animais (SOBESTIANSKY e MATOS, 2000). Deste modo, o presente trabalho aborda os principais tipos de contaminação do sêmen em diferentes espécies e as implicações deste problema na reprodução animal.

## DESENVOLVIMENTO

Várias são as doenças que acometem os suínos e que podem causar sérios prejuízos, econômicos, bem como de saúde pública, através de infecções denominadas de zoonoses (BORGES-SILVA *et al.*, 2011). Essas doenças comprometem a produtividade das granjas causando prejuízos econômicos (ACHA e SZYFRES, 2003). Protocolos profiláticos são aplicados visando o controle de algumas doenças e a prevenção de outras, entretanto, quase sempre de forma não planejada e sem a mensuração dos resultados. Atualmente, há uma maior preocupação com doenças prevalentes, com ênfase nas medidas de saneamento e ações voltadas para o meio ambiente e manejo sanitário (BONNEAU, 2003).

Os níveis de biossegurança das granjas de reprodutores foram verificados por estudos das condições que favoreçam a entrada de patógenos, tais como: distância da propriedade e a rodovia que transporta suínos; controle de visitas nas granjas; densidade de rebanhos a partir de um raio de 3,5km de distância. As pontuações dos níveis de biossegurança foram determinadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2002), segundo critérios de avaliação para vulnerabilidade à entrada de patógenos associados ao diagnóstico sorológico

positivo ou não, das seguintes doenças: Peste Suína Clássica, doença de Aujeszky, Brucelose, Tuberculose e Leptospirose (MAPA, 1999).

O sêmen é um meio fértil para o crescimento bacteriano devido à sua composição química, rica em açúcares e minerais. Durante o processo de estocagem, as condições do meio continuam sendo propícias aos microrganismos, que podem influenciar a qualidade das doses inseminantes (SANOCA-MACIEJEWSKA *et al.*, 2005). A maioria dos gêneros isolados encontrados está associado à contaminação ambiental por bactérias oportunistas, as quais são comumente associadas a problemas de falta de higiene (SCHULZE *et al.*, 2015).

Dentre os fatores predisponentes para que a contaminação aconteça, a água parece ser o mais preocupante, pois nela as bactérias se multiplicam exponencialmente. Mesmo em águas submetidas a processos de purificação, devido a possibilidade de formação de biofilmes nesses sistemas, que proporcionam a possibilidade de contaminação do diluente (NESS, 2007).

### **Contaminação do sêmen**

O processo de coleta de sêmen está longe de ser um procedimento estéril, sendo quase impossível uma coleta de sêmen livre de qualquer contaminação (WEITZE, 2008; VASCONCELOS *et al.*, 2018), pois a contaminação bacteriana do sêmen pode ocorrer tanto durante a coleta como no processamento do mesmo (ALTHOUSE *et al.*, 2000). Esse fato favorece que ejaculados recém-coletados apresentem contaminação (TAMULI *et al.*, 1984), na sua maioria por bactérias gram-negativas, principalmente as pertencentes à família *Enterobacteriaceae* (ALTHOUSE, 2008; OKAZAKI *et al.*, 2010).

Dentre as bactérias gram-positivas, a mais frequente é a *Leifsonia* aquática (SCHULZE *et al.*, 2015). Os efeitos negativos da contaminação, parecem ser dependentes da concentração e afetam a qualidade *in vitro* e a longevidade do sêmen pós-coleta. O tempo e o ambiente também são componentes críticos na influência negativa das bactérias sobre os espermatozoides, podendo culminar em um desempenho reprodutivo ruim do rebanho (ALTHOUSE *et al.*, 2000).

Devido ao fato da contaminação bacteriana ser inevitável, antimicrobianos têm sido um elemento essencial em composições de diluentes de sêmen, com as primeiras fórmulas apresentando uma associação de penicilina e estreptomicina (ALTHOUSE, 1997). Atualmente antimicrobianos de amplo espectro, com uma maior eficácia no controle bacteriano e da classe dos aminoglicosídeos, são os mais utilizados (ALTHOUSE *et al.*, 2000).

### **Fontes de contaminação**

A contaminação pode apresentar várias causas, dentre elas a infecção do trato reprodutivo masculino, a coleta e o processamento do sêmen (ÚBEDA *et al.*, 2013; USTER e ALTHOUSE, 2016; SANTOS e SILVA, 2020). Na espécie suína, já foram detectados no sêmen, mais de 25 gêneros diferentes de bactérias, isoladas tanto nos ejaculados quanto nas doses inseminantes, sendo as mais frequentes: *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* e *Proteus* (ARREDONDO *et al.*, 2001; ALTHOUSE e LU, 2005; ÚBEDA *et al.*, 2013). As bactérias normalmente presentes na microbiota reprodutiva de varrões, podem ser encontradas no ejaculado após a sua coleta (DALMUTT *et al.*, 2020).

As fontes de contaminação podem ser classificadas pela sua origem: animal ou não animal e vários são os tipos de situações que podem ser encontrados: 1) Contaminações que se

originam de uma única fonte na criação/propriedade; 2) Fontes únicas produzindo as mesmas ou diferentes cepas bacterianas, em momentos diferentes, em um determinado local; 3) Diferentes fontes de contaminação em momentos diferentes no mesmo local. A Tab. 01 apresenta algumas fontes de contaminação bacteriana de sêmen diluído, onde vários são os pontos de contaminação encontrados em criatórios: animais, área de coleta de sêmen, higiene pessoal precária, fontes de água, tanques extensores, termômetros, pipetas e sistemas de tratamento de ar do laboratório (ALTHOUSE e LU, 2005).

**Tabela 01:** Fontes de contaminação bacteriana do sêmen suíno diluído.

ORIGEM ANIMAL	ORIGEM NÃO ANIMAL
Fecal	Água da torneira
Fluídos da cavidade prepucial	Água purificada
Pele e pêlos	Matéria vegetal
Secreções respiratórias	Ar e Sistema de ventilação
Humana (pele, cabelo, secreções)	Pias e ralos

(Fonte: ALTHOUSE e LU, 2005)

As bactérias prejudicam a qualidade do esperma de diferentes maneiras: alterando a estrutura do espermatozoide, afetando sua motilidade, promovendo a formação de aglutinação espermática, afetando a integridade da membrana ou provocando uma reação acrossômica prematura (ALTHOUSE *et al.*, 2000; OBERLENDER *et al.*, 2013; SEPÚLVEDA *et al.*, 2014; CHAVES, 2015). Um conhecimento minucioso da microbiota bacteriana do sêmen e do seu perfil de resistência, são informações importantes para uma boa manutenção do seu estado higiênico (DALMUTT *et al.*, 2020).

Uma maior frequência de limpeza dos reprodutores e das instalações, além de uma higienização do macho bem feita, na pré-coleta, associada com uma correta fixação do pênis, contribuem para a redução da contaminação bacteriana do sêmen (DIAS *et al.*, 2000).

### Ação microbiana sobre a qualidade espermática

As bactérias podem influenciar a função espermática de duas formas distintas: 1) de forma direta, através da ligação a estruturas celulares e 2) de forma indireta, a partir da alteração do meio diluente (ALTHOUSE e LU, 2005). Bactérias no ejaculado apresentam efeito deletério sobre as características espermáticas e quanto maior for a contaminação, pior será a qualidade seminal (ALTHOUSE *et al.*, 2000; OBERLENDER *et al.*, 2013).

A presença de microorganismos na dose de sêmen é inevitável, uma vez que, apesar do uso de antibióticos, bactérias mais resistentes podem se desenvolver (ALTHOUSE e LU, 2005). Elas agem sobre os espermatozoides através da capacidade de se ligarem aos seus receptores de manose causando aglutinação espermática, com redução da motilidade e do tamanho da leitegada. Os efeitos ficam mais evidentes após 36 e 48 horas de armazenamento (ALTHOUSE *et al.*, 2000; MAROTO MARTÍN *et al.*, 2010).

Essa ação deletéria bacteriana pode ser vista também através de alterações acrossômicas (KOHN *et al.*, 1998; ALTHOUSE *et al.*, 2000), da redução da viabilidade espermática (BUSSALLEU *et al.*, 2011) e da capacidade de fertilização dos espermatozoides (PRIETO-MARTINEZ *et al.*, 2014), além do pH seminal (MAES *et al.*, 2008).

A principal ação deletéria das bactérias gram-negativas sobre a qualidade espermática, se dá pela liberação de um lipopolissacarídeo, componente da parede bacteriana, liberado durante a bacteriólise (GINSBURG, 2002) e que tem ação tóxica (OSBORN, 1964). Essa e outras substâncias nocivas, como a hemolisina e toxina Shiga-like, apresentam efeitos deletérios sobre a motilidade e viabilidade espermática (SCHULZ *et al.*, 2010). O flagelo e os pili presentes nas bactérias, possuem propriedades adesivas e podem gerar problemas para os espermatozoides (VILLEGAS *et al.*, 2005).

Bactérias gram-positivas também produzem uma redução da motilidade espermática (BENNEMANN *et al.*, 2000), devido à ação de toxinas e a redução do pH (RIDEOUT *et al.*, 1982), ou a danos gerados pela ação direta, levando a defeitos estruturais na membrana da célula espermática (DIEMER *et al.*, 1996). A maioria dos gêneros isolados encontrados por Schulze *et al.* (2015) foi associada à contaminação ambiental por bactérias oportunistas, as quais são comumente associadas a problemas de higiene.

As bactérias podem também causar danos ao espermatozoide, através de fatores extracelulares, como as proteases e as fosfolipases, afetando a matriz extracelular da membrana espermática (KIPNIS *et al.*, 2006; BEN HAJ KHALIFA *et al.*, 2011). Apesar dos dados relacionados ao efeito da contaminação bacteriana sobre a integridade acrossomal serem escassos (DIEMER *et al.*, 1996), foi constatado que os efeitos espermicidas reduzem a motilidade, a viabilidade e a integridade do acrossoma (SEPÚLVEDA *et al.*, 2014). O acrossoma é parte fundamental no processo de fertilização e qualquer alteração presente pode inibir a capacidade fecundante do espermatozoide (DIEMER *et al.*, 1996).

Outro mecanismo de patogenicidade das bactérias é a alteração das características do meio, com a alteração de pH e acidificação, devido à competição pelo mesmo substrato e produção de metabólitos bacterianos ácidos (GOLDEBERG, 2008; MAES *et al.*, 2008; PURDY *et al.*, 2010; PRIETO-MARTINEZ *et al.*, 2014). A compreensão do verdadeiro papel da microbiota existente no ejaculado dos animais pode ser fundamental na manutenção da qualidade espermática durante o tempo de armazenamento do sêmen (CHAVES, 2015).

## TIPOS DE CONTAMINAÇÃO DO SÊMEN

O sêmen pode ser contaminado por bactérias (PICCOLOMINI *et al.*, 2015), vírus (SOUZA *et al.*, 2014) e demais contaminantes, como resíduos e agentes químicos (SANTOS *et al.*, 2006). Para mitigar esse problema, é fundamental o uso de protocolos rigorosos de biossegurança, com práticas de higiene rigorosas durante a coleta, processamento e inseminação. A manutenção adequada da saúde dos reprodutores é também essencial para minimizar o risco de contaminação (COSTA e PRADO, 2008).

### Contaminação por vírus

A melhor maneira de prevenir a transmissão de doenças via sêmen é assegurar-se que os animais coletados estão livres de doenças, cumprindo protocolos de biossegurança estritos, realizando uma vigilância de saúde rotineira dos animais e analisando o sêmen antes de sua utilização. Estas medidas proporcionam à maioria dos produtores muita confiança no uso da IA, já que o sêmen pode ser vetor de determinadas doenças (MAES *et al.*, 2015).

A contaminação do ejaculado animal por vírus é uma preocupação significativa na reprodução animal e na pecuária em geral. O sêmen é um componente essencial na reprodução controlada de animais de alto valor genético e a presença de um vírus pode comprometer a saúde reprodutiva das fêmeas receptoras e a qualidade da prole (MEYER *et al.*, 2003).

Animais com infecção latente servem de reservatório natural para um vírus. A doença pode ser reativada naturalmente em situações de estresse ou pelo uso de corticóides (CARON *et al.*, 2002; VOGEL *et al.*, 2004), podendo ser acompanhada da exacerbação das manifestações clínicas ou anatômicas do processo mórbido (PEREZ *et al.*, 2002; VOGEL *et al.*, 2004).

Entre os patógenos virais que afetam os bovinos, destacam-se o Herpes vírus Bovino tipo-1 (HVB-1) e o vírus da Diarréia Viral Bovina (BVD), que são considerados os principais agentes isolados no sêmen. O HVB-1 é causador da Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR), Vulvovaginite Pustular Infecciosa (IPV) e Balanopostite Pustular Infecciosa (IBP). A transmissão do HVB-1 através da IA pode ocasionar endometrite, vulvovaginite, absorção embrionária e abortos (DEL FAVA *et al.*, 2002, BLAS-MACHADO *et al.*, 2004; VIU *et al.*, 2014).

O HVB-1 é um patógeno que se manifesta através de vários sintomas do trato respiratório e do genital, podendo causar abortos (KAHRS, 2001), além de encefalites (ROELS *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2007 e 2009). O HVB-1 devido à diversidade de suas propriedades biológicas, antigênicas e moleculares, pode apresentar homologia muito alta entre as sequências de seus nucleotídeos (HENZEL *et al.*, 2019).

O HVB-1 pode ser encontrado no sêmen de touros, com ou sem anticorpos neutralizantes e os animais infectados tornam-se portadores vitalícios. A contaminação natural é via mucosa do trato genital e respiratório superior, podendo ocorrer de forma direta por aerossóis e contato com secreções respiratórias, oculares ou genitais contaminadas. A forma indireta se dá através de fômites, água ou alimentos contaminados e por meio da IA e transferência de embriões (MUYLKENS *et al.*, 2007).

A IBR é uma infecção específica dos bovinos, causada pelo Herpes vírus e provoca retardo do crescimento de animais jovens, redução da produção leiteira, mortalidade embrionária e abortos (DEL FAVA *et al.*, 2002). Na fêmea, a IPV se manifesta por descarga vaginal mucopurulenta, intumescimento vulvar e formações de pequenas pústulas. Já na IBP, há formação de vesículas e pústulas na mucosa do pênis e do prepúcio (KAHRS, 2001).

A BVD está associada a fetos abortados e na capa flogística de animais com infecções persistentes, em rebanhos com problemas reprodutivos. A enfermidade gastroentérica aguda ou crônica, doença respiratória em bezerros, síndrome hemorrágica com trombocitopenia, patologias cutâneas e imunossupressão, estão entre as consequências mais frequentes (DEL FAVA *et al.*, 2002). Quando da ocorrência de grande número de animais soropositivos com elevados títulos, esse fato dificulta estabelecimento dos fatores responsáveis pelo problema, sugerindo a ocorrência de infecções ativas ou reativadas no rebanho (AFFONSO *et al.*, 2010).

Existem vários meios pelos quais os vírus podem contaminar o sêmen, o que exige uma compreensão abrangente para a implementação de medidas eficazes de prevenção. A forma mais comum de contaminação ocorre quando um vírus se replica nos órgãos reprodutivos do animal e é transportado para o sêmen pelo sistema circulatório (MACHADO *et al.*, 2004). O herpes vírus (BoHV-1) é um vírus sexualmente transmissível, que contamina o sêmen e pode

ser transmitido pelo acasalamento ou IA (MACHADO *et al.*, 2004). Outras vias de transmissão são a respiratória e via transplacentária (ZANELLA, 2023).

A Rinotraqueíte Infecciosa Bovina, causa grandes transtornos reprodutivos, devido a seu difícil controle e a ampla disseminação no rebanho bovino. O BoHV-1 pode estar presente em fluidos onde se encontram os embriões, no sêmen, nos órgãos genitais e também no líquido folicular e ovócitos (COSTA *et al.*, 2017). A contaminação ambiental também é possível. O herpesvírus suíno (PRV) pode sobreviver em superfícies e materiais contaminados. Equipamentos e materiais de coleta, processamento e armazenamento do sêmen, podem ser fontes de contaminação, se não forem devidamente higienizados. O contato com fluidos corporais infectados, como sangue, secreções genitais ou saliva, representa um risco durante a manipulação do sêmen. Animais portadores assintomáticos podem transmitir o vírus pelo sêmen (MACHADO *et al.*, 2004).

Para prevenir a contaminação viral do ejaculado, são necessárias práticas rigorosas de biossegurança, incluindo a identificação e isolamento de animais infectados, testes regulares para detecção de vírus, limpeza e esterilização adequada de equipamentos, vacinação e adoção de boas práticas de manejo. Essas medidas são essenciais para garantir a qualidade do sêmen e a saúde reprodutiva dos animais envolvidos na reprodução controlada (FLORES *et al.*, 2005).

Devido à elevada sensibilidade da via uterina, o uso da IA aumenta consideravelmente o risco de transmissão de patógenos virais. A fonte do vírus no sêmen pode ser extrínseca, como no caso dos enterovírus resultantes da contaminação fecal durante a coleta do sêmen, ou intrínseca, originada por infecções virais sistêmicas ou locais, com transmissão pelos testículos, glândulas acessórias ou prepúcio (GUÉRIN e POZZI, 2005). A biossegurança é um conjunto de medidas que impedem a entrada e/ou disseminação de patógenos nos rebanhos e é fundamental no uso de tecnologias da reprodução como a IA. Ela precisa ser adequadamente empregada visando bons resultados de fertilidade, por um técnico capacitado a conduzi-la de forma correta, baseada em treinamento profissional e nos princípios da educação sanitária (PEGORARO *et al.*, 2020).

Independentemente da origem do vírus, as condições durante o armazenamento e utilização do sêmen, na forma de sêmen à fresco, criam um ambiente propício para a preservação e propagação de patógenos virais. Ao contrário do tratamento antibiótico, que visa prevenir doenças venéreas causadas por bactérias, a aplicação de agentes antivirais para tornar o sêmen livre ainda não foi amplamente aplicada na IA. São aplicados programas que utilizam uma intensa monitorização de machos na busca de vírus e anticorpos virais específicos, visando a eliminação de quaisquer animais infectados/reativos, para manter os centros de IA livre de agentes patogênicos virais (GUÉRIN e POZZI, 2005). Conhecer a epidemiologia dessas infecções nos rebanhos é de fundamental importância para se atingir metas de eficiência reprodutiva compatíveis com os custos dos sistemas produtivos atuais em cada tipo específico de rebanho (ALFIERI e ALFIERI, 2017).

Em pequenos ruminantes, existem trabalhos que objetivaram avaliar a presença do DNA pró-viral do lentivírus caprino (LVC) em ejaculados de machos infectados naturalmente. O LVC é o agente etiológico da artrite-encefalite caprina (AEC), uma enfermidade crônica, incurável, de alta prevalência em rebanhos leiteiros nacionais. Embora não seja a principal via de transmissão do LVC, a comprovação da presença do lentivírus no sêmen reforça a possibilidade da transmissão pela via sexual (ANDRIOLI *et al.*, 2006). Maiores taxas de soro-

conversão em fêmeas cobertas por machos soropositivos, comprovam que machos infectados podem transmitir a doença para fêmeas saudáveis (ROWE *et al.*, 1992).

A maioria dos vírus responsáveis por diversas doenças podem ser encontrados no sêmen de diversos animais e podem ser facilmente transmitidos às fêmeas inseminadas, disseminando doenças infecciosas e causando perdas econômicas significativas. O importante papel dos vírus e das doenças virais em relação à IA, alertam para que os centros de produção de sêmen tomem as medidas necessárias para garantir o mais elevado *status* sanitário para as doses de sêmen produzidas. A proposta de centros de IA livres de patógenos virais, juntamente com a definição das medidas sanitárias que devem ser tomadas antes da admissão dos animais, podem garantir um nível sanitário e de biossegurança satisfatórios (MAES *et al.*, 2015).

### **Contaminação por bactérias**

A qualidade do sêmen é essencial para o sucesso da reprodução, influenciando diretamente os resultados de fertilidade e a saúde reprodutiva dos animais. A contaminação bacteriana do sêmen é uma grande preocupação, pois pode impactar adversamente a viabilidade dos espermatozoides e levar a complicações na cadeia reprodutiva, como por exemplo (BIANCHI *et al.*, 2006; ABPA, 2021).

O aparelho reprodutor masculino, é pouco propenso à contaminação, refutando a idéia de uma elevada presença bacteriana no ejaculado, derivada dos órgãos ou glândulas reprodutivas do macho suíno (BIANCHI *et al.*, 2006; SCHEID, 2000). A origem da contaminação bacteriana no ejaculado pode variar: infecção sistêmica do sistema reprodutivo; contato do ejaculado com diferentes fontes, como secreções do prepúcio, pelos, mãos do coletador; contato indireto com aerossóis e fômites (contaminação de materiais, equipamentos e diluentes que entram em contato com o sêmen); e armazenamento inadequado das doses de sêmen (SCHEID, 2000; PINEDA e SANTANDER, 2007; CASTELLANOS *et al.*, 2010).

Os microrganismos mais comumente encontrados no aparelho reprodutor do macho suíno são: *Staphylococcus spp.* (12%), *Pseudomonas spp.* (8%), *Escherichia coli* (79%), *Klebsiella spp.* (14%), *Bordetella spp.* e *Mycoplasma spp.*, *Streptococcus spp.* (9%), *Proteus spp.* (36%), *Serratia spp.* (36%), *Enterobacter spp.* (29%) e 1% de microrganismos anaeróbios, *Citrobacter spp.*, *Aerobacter spp.*, *Corynebacterium spp.* (SCHEID, 2000; MARTÍN *et al.*, 2010; GENOVEZ *et al.*, 2011).

A proliferação microbiana é favorecida durante o processamento do sêmen, devido à composição dos diluentes/conservantes, que é rica em nutrientes, junto com a temperatura de conservação, que não é suficientemente baixa para impedir a proliferação bacteriana, favorece a diminuição da viabilidade espermática (SCHEID, 2000). A presença de bactérias pode causar redução na motilidade espermática, aumento nas taxas de aglutinação e de alterações do acrossoma, inviabilidade das células espermáticas após 24 a 36 horas da coleta e processamento, além de acidificação do meio (ALTHOUSE *et al.*, 2000).

Em ovinos, a contaminação microbiológica, particularmente por *Bacillus spp.*, *Corynebacterium spp.* e *Escherichia*, é um importante parâmetro a ser considerado no controle de qualidade do sêmen (MARTÍN *et al.*, 2010). Existem duas principais fontes de contaminação do sêmen, a primeira originada das fezes, fluidos prepuciais, secreções respiratórias, pele, pelos e contaminação humana. A segunda, proveniente da água, de copos coletores, de equipamentos e condições deficientes de higiene (ALTHOUSE e LU, 2005).



No sêmen caprino, mesmo após a congelação, foram identificadas bactérias do tipo *Staphylococcus sp.* (48,0%), *Corynebacterium* (36,0%), *Streptococcus sp* (32,0%) e *Bacillus sp* (32,0%). Sabe-se também que, bactérias encontradas em amostras de sêmen de reprodutores caprinos apresentaram resistência a penicilina e estreptomicina (SOUSA *et al.*, 2006).

Em bovinos, problemas relacionados à contaminação bacteriana do sêmen são comuns, pela *Escherichia coli*, que é uma bactéria bacilar gram-negativa, encontrada no trato gastrointestinal inferior desses animais (CARDOSO *et al.*, 2001). Ela apresenta efeito direto sobre a motilidade progressiva do espermatozoide. Uma concentração a partir de  $10^6$  *E. coli*/mL de sêmen causa queda significativa na motilidade. O *Estafilococos sp.* é uma bactéria gram-positiva, também encontrada no sistema genital dos bovinos, afetando a qualidade espermática, particularmente a motilidade (DIEMER *et al.*, 1996).

Em cães, a transmissão da brucelose pode ocorrer via sêmen, que alberga uma grande quantidade de bactérias, principalmente entre três e onze semanas pós-infecção, caracterizando-a como doença venéreo-transmissível (MELO e SILVA, 2013). As sugestões para otimizar a qualidade da avaliação do sêmen na prática veterinária incluem a criação de protocolos padronizados para avaliação de todos os parâmetros do sêmen e a atualização desses protocolos conforme a necessidade e demanda (KUSTRITS, 2007).

Um exame completo da saúde reprodutiva deve ser feito, visando: a análise do sêmen a ser processado para a IA; a preservação por resfriamento ou congelação; ou para investigar possível causa de infertilidade ou esterilidade. Ainda há uma escassez de dados associando os parâmetros medidos durante a avaliação do sêmen canino com a função testicular e capacidade de fertilização dos espermatozoides (ROOT KUSTRITZ, 2007).

Foram encontrados doze produtos químicos, que são compostos orgânicos, em testículos de cães adultos, o Bis(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP), 7 congêneres de Bifenilas Policloradas (PCBs), 4 congêneres de éteres difenílicos polibromados (PBDE), que também estavam presentes em 15 alimentos para cães comercialmente disponíveis e analisados. Isso indica que, os produtos químicos presentes nos testículos e na ejaculação afetam diretamente a função e a viabilidade dos espermatozoides. Uma vez que o aumento da incidência de criptorquidia juntamente com o declínio da qualidade do esperma nos machos é indicativo da “síndrome da disgenesia testicular” (LEA *et al.*, 2016).

## CONTAMINAÇÃO QUÍMICA DO SÊMEN

### Em bovinos

A indústria pecuária desempenha um papel fundamental na segurança alimentar global e na economia de muitos países com a reprodução bovina influenciando diretamente a produção de carne e leite. Um dos principais métodos para melhorar a reprodução bovina é a IA, que envolve a aplicação de sêmen de alta qualidade. No entanto, a contaminação química em sêmen bovino emergiu como uma preocupação crescente nas últimas décadas, representando desafios significativos para a saúde reprodutiva do gado e a qualidade da sua produção (ABPA, 2021).

Esse tipo de contaminação pode ocorrer em várias etapas do processo de obtenção do sêmen, de preparação da dose inseminante e de armazenamento. Alguns dos principais agentes contaminantes e suas várias implicações negativas (SILVA *et al.*, 2017a e 2017b), incluem:

**1. Produtos químicos usados na indústria agrícola:** Os pesticidas, herbicidas e fertilizantes utilizados nas práticas agrícolas podem se infiltrar no solo e na água, afetando indiretamente o gado. O consumo de forragem contaminada pode resultar na presença de resíduos químicos no sêmen do touro.

**2. Medicamentos veterinários:** A administração inadequada de medicamentos veterinários, como antibióticos e hormônios, pode levar à contaminação do sêmen bovino, bem como o uso impróprio de substâncias hormonais pode afetar a fertilidade dos touros.

**3. Material de embalagem:** O material de embalagem utilizado para armazenar e transportar o sêmen pode liberar substâncias químicas que contaminam o seu conteúdo. Isso é particularmente crítico, pois afeta a qualidade do sêmen durante o transporte e o armazenamento.

**4. Produtos químicos tóxicos:** A presença de produtos químicos tóxicos no sêmen pode diminuir os resultados de fertilidade dos touros, levando a uma menor taxa de concepção das vacas inseminadas, resultando em uma produção de bezerros abaixo do potencial. A exposição constante a substâncias químicas nocivas pode afetar a saúde geral dos touros, aumentando o risco de doenças e problemas reprodutivos. Isso requer tratamento veterinário adicional e pode resultar em perdas econômicas.

**5. Segurança alimentar:** A presença de resíduos químicos no sêmen bovino também pode representar um risco para a segurança alimentar. A carne e o leite produzidos por animais contaminados podem conter níveis elevados de substâncias químicas prejudiciais à saúde humana.

Estudos em bovinos mostraram que elementos essenciais como, Zn, Cu, Ca, Mg, Fe, Se, Mo, I e Co, encontrados no sêmen, tem relação com parâmetros de qualidade espermática, tais como: concentração, motilidade e viabilidade, maturação espermática e a síntese de testosterona. Por outro lado, uma menor relação com alterações morfológicas e a regulação de processos relacionados à fertilização do oócito (AGUIAR *et al.*, 2012). A suplementação mineral para os bovinos, é fundamental, uma vez que o capim não fornece tudo que os animais necessitam (MIRANDA, 2021).

São vários fatores influenciam o desempenho reprodutivo, mas o desequilíbrio mineral, é cruciais em termos dos seus efeitos diretos na reprodução bovina (HEFNAWY e TÓRTORA-PÉREZ, 2010). Estudos toxicológicos demonstraram que o cádmio, chumbo e arsênico podem se acumular nos testículos e epidídimos, alterando as suas funções. Esses elementos afetam o esperma e o processo envolve a geração de espécies reativas de oxigênio, causando peroxidação lipídica e danos ao DNA. Também induzem apoptose e processos inflamatórios, danificam a estrutura espermática, a integridade e mobilidade da membrana, causam alterações na atividade funcional, reduzindo a fertilidade (CASTELLANOS *et al.*, 2010).

### Em suínos

A indústria suinícola desempenha um papel vital na produção de carne e a reprodução suína eficaz é essencial para garantir o seu crescimento e sustentabilidade. A IA é uma técnica

amplamente utilizada para melhorar a reprodução suína, mas depende da qualidade do sêmen utilizado. A contaminação química do sêmen do varrão emergiu como uma preocupação crescente, apresentando desafios significativos para a saúde reprodutiva dos reprodutores e a qualidade da produção de uma granja (MAES *et al.*, 2015).

A contaminação química do sêmen suíno pode ocorrer em várias etapas do processo de sua obtenção, de preparação da dose inseminante e de armazenamento. Alguns dos principais agentes contaminantes e suas várias implicações negativas (ALTHOUSE, 2022), incluem:

- 1. Alimentação contaminada:** A qualidade da alimentação dada aos suínos pode afetar diretamente o sêmen que eles produzem. Se a ração ou o ambiente de criação contiverem contaminantes químicos, essas substâncias podem se acumular nos animais e no sêmen.
- 2. Exposição a produtos químicos no ambiente:** Os suínos podem ser expostos a produtos químicos tóxicos presentes no ambiente, como pesticidas agrícolas, poluentes atmosféricos e contaminantes da água. Isso pode resultar em resíduos químicos no sêmen desses animais.
- 3. Contaminação na coleta e armazenamento:** A coleta do sêmen e o seu armazenamento, inadequados, podem levar à contaminação por substâncias químicas presentes em equipamentos ou embalagens utilizados para essas finalidades.
- 4. Redução da fertilidade:** A presença de substâncias químicas tóxicas no sêmen pode afetar a capacidade dos suínos se reproduzirem com sucesso. Isso pode resultar em taxas de concepção mais baixas e, eventualmente, em uma produção inferior de leitões com animais mais fracos.
- 5. Riscos à saúde dos leitões:** A contaminação do sêmen pode afetar a saúde dos leitões nascidos de mães inseminadas com sêmen contaminado, aumentando o risco de doenças e anomalias congênitas.
- 6. Impacto na indústria:** A qualidade do sêmen suíno afeta diretamente a eficiência da produção suína. Taxas de concepção reduzidas podem levar a uma menor produção de carne suína, afetando a economia e a segurança alimentar.

Os contaminantes químicos são causas importantes de problemas de fertilidade de um rebanho, apresentando uma larga variedade com atividades espermatotóxicas e podem ser encontrados em diferentes produtos: detergentes e desinfetantes residuais, diluente de sêmen de qualidade inferior, bem como por erros de inclusão, impurezas, ingredientes, água de baixa qualidade e toxicidade plástica dos recipientes onde o sêmen tem contato (ALTHOUSE, 2022).

Detergentes e desinfetantes químicos são frequentemente utilizados no laboratório, nas áreas de alojamento dos reprodutores e nas salas de coleta de sêmen. Esses produtos são também utilizados na limpeza de equipamentos de laboratório reutilizáveis (termômetros, pipetadores, cilindros, cubas, tubos, etc.). Se a limpeza e/ou enxágue forem mal executados e permitirem a permanência de resíduos químicos, eles poderão ter uma ação espermicida, quando forem usados na próxima operação de coleta e processamento de sêmen. O ideal é se usar produtos de limpeza considerados isentos de resíduos. De qualquer forma, é sempre necessário que todo o material seja muito bem enxaguado (ALTHOUSE, 2008; ALTHOUSE, 2022).

## Em equinos

A urospermia, que é a contaminação do sêmen com urina, é uma condição que pode reduzir a fertilidade do garanhão. A urina é eliminada juntamente com o ejaculado, causando diferentes graus de contaminação do sêmen. A administração do cloridrato de imipramina é uma alternativa que apresenta bons resultados nos casos de urospermia. O esvaziamento da bexiga por meio de sonda uretral, diuréticos ou micção natural antes da coleta de sêmen também são importantes ferramentas para reduzir a possibilidade de contaminação seminal com urina. A centrifugação com gradiente de densidade a fim de selecionar espermatozoides com características superiores é uma alternativa nesses casos. Além disso, a criopreservação de sêmen, contendo baixos níveis de contaminação com urina, pode ser realizada (CANISSO e SEGABINAZZI, 2021).

## Estratégias para mitigação dos problemas

Para abordar a contaminação química do sêmen, são necessárias medidas de mitigação eficazes (MIRANDA *et al.*, 2021), tais como:

- 1. Boas práticas agrícolas:** A implementação de boas práticas agrícolas, como o uso responsável de produtos químicos agrícolas e o monitoramento da qualidade do solo e da água, pode reduzir a contaminação na fonte.
- 2. Monitoramento ambiental:** Avaliar regularmente a qualidade da água, do solo e dos alimentos fornecidos aos suínos é fundamental para detectar possíveis fontes de contaminação química.
- 3. Uso responsável de medicamentos veterinários:** Os produtores devem aderir estritamente às diretrizes de uso de medicamentos veterinários, garantindo que sejam administrados de maneira apropriada e sob supervisão veterinária.
- 4. Controle de qualidade na produção das doses de sêmen:** Os centros de produção de sêmen suíno devem implementar rigorosos padrões de controle de qualidade, incluindo a seleção cuidadosa dos reprodutores, a esterilização de equipamentos e o uso de embalagens preferencialmente descartáveis, e a rastreabilidade do sêmen para evitar a contaminação durante o transporte e o armazenamento, para garantir a integridade do sêmen.
- 5. Boas práticas de manejo:** A adoção de boas práticas de manejo, como o uso responsável de pesticidas e a garantia de um ambiente de criação limpo e saudável, pode reduzir significativamente o risco de contaminação química.
- 6. Controle do material usado no processamento do ejaculado:** A contaminação química do sêmen é um desafio multifacetado que requer a cooperação de agricultores, produtores de sêmen e autoridades reguladoras, para garantir a qualidade da produção e a segurança alimentar.

A adoção de práticas sustentáveis e o compromisso com a saúde reprodutiva são essenciais para garantir a oferta contínua de carne, a qualidade e a segurança da produção de carne e leite, ao mesmo tempo em que protege a saúde dos consumidores e a sustentabilidade da indústria pecuária (MIRANDA *et al.*, 2021; ALTHOUSE, 2022). Atualmente, em bovinos, a maior parte do sêmen utilizado é oriundo de centrais de reprodução, sendo assim, é necessário

um controle de todo o material usado no processamento, uma vez que a manipulação errônea pode ocasionar danos aos espermatozoides e gerar prejuízos (SILVA *et al.*, 2017b; BORGES *et al.*, 2016).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foram relatadas diversas fontes de contaminação do sêmen, que vão desde a biológica até a química. Além disso, é necessário entender a forma como cada contaminante atua em determinadas espécies, uma vez que existem particularidades na contaminação. A compreensão das diferentes possibilidades de contaminação do sêmen, dos seus contaminantes, associadas à medidas de biossegurança e preventivas, é de fundamental importância na manutenção da qualidade espermática a partir da coleta, processamento, tempo de armazenamento e aplicação do sêmen

## REFERÊNCIAS

- ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual 2021**. São Paulo: ABPA, [2021]. Disponível em: <https://abpa-br.org/relatorios/>. Acesso em: 21 nov. 2021.
- ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Enfermedades Bacterianas y Micosis**. 3. ed., Washington: Organización Panamericana de la Salu, 2003.
- AFFONSO, I.B.; AMORIL, J.G.; ALEXANDRINO, B.; BUZINARO, M.G.; MEDEIROS, A.S.R.; SAMARA, S.I. Anticorpos contra o Herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) nas dez regiões de planejamento do estado de Goiás, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.11, n.4, p.892-898, 2010.
- AGUIAR, G.F.M.; BATISTA, B.L.; RODRIGUES, J.L.; SILVA, L.R.S.; CAMPIGLIA, A.D.; BARBOSA, R.M.; BARBOSA, F. Determination of trace elements in bovine semen samples by inductively coupled plasma mass spectrometry and data mining techniques for identification of bovine class, **Journal of Dairy Science**, v.95, n.12, p.7066-7073, 2012.
- ALFIERI, A.A.; ALFIERI, A.F. Doenças infecciosas que impactam a reprodução de bovinos **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.41, n.1, p.133-139, 2017.
- ALTHOUSE, G.C. Comparison of currently used semen extenders in the swine industry. **Compendium: Continuing Education for Practising Veterinary**, v.19, p.777-782, 1997.
- ALTHOUSE, G. Procedimentos sanitários para a produção de sêmen estendido. **Reprodução em Animais Domésticos**, v.43, supl.2, p.374-378, 2008.
- ALTHOUSE, G.C. Biological and chemical contaminants in extended porcine semen: Outcomes and diagnosis. **Animal Reproduction Science**, v.247, 2022. Disponível em: <https://journals.scholarsportal.info/browse/03784320/v247icomplete>. Acesso em: 20 ago. 2023.
- ALTHOUSE, G.; LU, K.G. Bacteriospermia in extended porcine semen. **Theriogenology**, v.63, n.2, p.573-584, 2005.

ALTHOUSE, G.C.; KUSTER, C.E.; CLARK, S.G.; WEISIGER, R. M. Field investigations of bacterial contaminants and their effects on extended porcine semen. **Theriogenology**, v.53, n.5, p.1167-1176, 2000.

ANDRIOLI, A.; GOUVEIA, A.M.G.; MARTINS, A.S.; PINHEIRO, R.R.; SANTOS, D.O. Fatores de risco na transmissão do lentivírus caprino pelo sêmen. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.8, p.1313-1319, 2006.

ARREDONDO, C.; LAZO, L.; CRUZ, E.; FERNÁNDEZ, A. Bacteriological studies of swine semen. Preliminar evaluation of the effect of *Escherichia coli* lectins on sperm agglutination. **Revista Cubana Salud Animal**, Habana, v.23, n.2, p.73-79, 2001.

ASBIA. **Coleta de sêmen bovino no Brasil cresceu mais de 100% no primeiro semestre, revela ASBIA**, 2021. Disponível em: <http://www.asbia.org.br/coleta-de-semen-bovino-no-brasil-cresceu-maisde-100-no-primeiro-semester-revela-asbia/>. Acesso em: 21 nov. 2023.

BARUSELLI, P.S.; BRUNA, L.C.C.; LAÍS, Â.A.; FLAVIA, M.E.; LAÍSA, G.S.; EMILIANA, S.B.; GABRIEL, A.C. Evolução e perspectivas da inseminação artificial em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.43, n.2, p.308314, 2019.

BEN HAJ KHALIFA, A.; MOISSENET, D.; VU THIEN, H.; KHEDHER, M. Virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and modes of regulation. **Annales de Biologie Clinique**, Paris, v.69, n.4, p.393-403, 2011.

BENNEMANN, P.E.; BORTOLOZZO, F.P.; WENTZ, I.; CARDOSO, M.R.I. Motilidade espermática e integridade acrossomal em doses de sêmen suíno refrigeradas e inoculadas com *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.2, p.313-318, 2000.

BIANCHI IVAN; SÍLVIA SCHAAF; ÉRICO KUNDE CORRÊA; ARLAN PERONDI; THOMAZ LUCIA JR.; JOÃO CARLOS DECHAMPS; MARCIO NUNES CORRÊA. The importance of using artificial insemination in swine to prevent pathogen spread through the semen. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.30, n.1/2, p.72-77, 2006.

BLAS-MACHADO, U.; SALIKI, J.T.; DUFFY, J.C.; CASELTINES.L. Bovine viral diarrhea virus type 2- induced meningoencephalitis in a heifer. **Veterinary Pathology**, v.41, n.2, p.190-194, 2004.

BONNEAU, M. Biosecurity. In: Anais do 28º Congreso de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos; 2003, Guadalajara. Guadalajara: AMVEC; 2003. p.135-41.

BORGES, S.R.T.; SOUZA, L.C.; SILVA, R.C.; ALMEIDA, E. Avaliação dos níveis de biosseguridade das granjas de reprodutores suínos certificadas do Estado de São Paulo, Brasil. **Veterinária e Zootecnia**, v.18, n.3, p.417-431, 2011.

BORGES-SILVA, J.C.; SILVA, M.R.; MARINHO, D.B.; NOGUEIRA, E.; SAMPAIO, D.C.; OLIVEIRA, L.O.F.; ABREU, U.G.P.; MOURÃO, G.B.; SARTORI, R. Cooled semen for fixed-time artificial insemination in beef cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, v.28, n.7, p.1004-1008, 2016.

BUSSALLEU, E.; YESTE, M.; SEPÚLVEDA, L.; TORNER, E.; PINART, E.; BONET, S. Effects of different concentrations of enterotoxigenic and verotoxigenic *E. coli* on boar sperm quality. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.127, n.3/4, p.176-182, 2011.

CANISSO, I.F.; SEGABINAZZI, L.T.M. Diagnosis and management strategies for urospermia in stallions. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.45, n.4, p.443-452, 2021.

CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C.; CASTRO, A.G.M.; KANASHIRO, A.M.I.; GAMA, N.M.S.Q. Pesquisa de coliformes totais e coliformes fecais analisados em ovos comerciais no laboratório de patologia avícola de descavado. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, São Paulo, v.68, n.1, p.19-22, 2001.

CARON, L.; FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; SCHERER, C.F.; IRIGOYEN, L.F.; ROEHE, P.M.; ODEON, A.; SUR, J.H. Latent infection by bovine herpesvirus type-5 in experimentally infected rabbits: virus reactivation, shedding and recrudescence of neurological disease. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v.84, n.4, p.285-295, 2002.

CASTELLANOS, P.; REGLERO, M.M.; TAGGART, M.A.; MATEO, R. Changes in fatty acid profiles in testis and spermatozoa of red deer exposed to metal pollution. **Reproductive Toxicology**, v.29, n.3, p.346-352, 2010.

CHAVES, B.R. **População bacteriana no sêmen suíno e seus efeitos sobre a qualidade da dose inseminante**, 2015. 63p. (Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias). Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Lavras, 2015.

COLLARES, B.C.; MELO, G.M. **A aplicação da inseminação artificial em tempo fixo na bubalinocultura: uma revisão de literatura**. Anais do 24º Simpósio do Centro Universitário ICESP, v.24, p.833-843, 2022.

COSTA, J.P.; PRADO, FR.A. Avaliação bacteriológica do sêmen coletado de forma *in natura* de touros Nelore. **Veterinária e Zootecnia**, v.15, n.2, supl.1, p.125, 2008.

COSTA, E.P.C.; QUEIROZ, V.L.D.; SILVA JR, A.; GUIMARÃES, J.D.; ALVES, S.V.P.; SANTOS, M.R.; SOUZA, L.F.L. BoHV-1 (o vírus IBR) e sua relação com estruturas e órgãos genitais na fêmea bovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.41, n.1, p.254-263, 2017.

DALMUTT, A.C.; MORENO, L.Z.; GOMES, V.T.M.; CUNHA, M.P.V.; BARBOSA, M.R.F.; SATO, M.I.Z.; KNÖBL, T.; PEDROSO, A.C.; MORENO A.M. Characterization of bacterial contaminants of boar semen: identification by MALDI-TOF mass spectrometry and antimicrobial susceptibility profiling. **Journal of Applied Animal Research**, v.48, n.1, p.559-565, 2020.

DEL FAVA, C.; PITUCOE, M.; D'ANGELINO, J.L. Herpesvírus Bovino tipo 1 (HVB-1): revisão e situação atual no Brasil. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v.5, n.3, p.300-312, 2002.

DIAS, C.P.; CASTAGNA, C.D.; REIS, G.R.; SIMONETTI, R. BORTOLOZZO, F.P.; WENTZ, I.; CARDOSO, M. Grau de contaminação bacteriana no ejaculado de suínos submetidos a dois métodos de higienização e coleta. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v.28, p.32-40, 2000.

DIEMER, T.; WEIDNER, W.; MICHELMANN, H.W.; SCHIEFER, H.G.; ROVAN, E.; MAYER, F. Influence of *Escherichia coli* on motility parameters of human spermatozoa in vitro. **International Journal of Andrology**, v.19, n.5, p.271-277, 1996.

FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; VOGEL, F.S.F.; ROEHE, P.M.; ALFIERI A.A.; PITUCO, E.M. A infecção pelo vírus da Diarréia Viral Bovina (BVDV) no Brasil - histórico, situação atual e perspectivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, p.25, n.3, p.125-134, 2005.

GENOVEZ, M.E.; SCARCELLI, E.; CARVALHO, A.F. Agentes microbianos associados ao trato genital de touros. **Anais do Instituto Biológico de São Paulo**, São Paulo, v.73, n.1, p.1-3, 2011.

GINSBURG, I. Role of lipoteichoic acid in infection and inflammation. **The Lancet Infectious Diseases**, New York, v.2, n.3, p.171-179, 2002.

GOLDENBERG, A.M. Fatores relacionados à contaminação bacteriana das doses inseminantes e suas consequências. **Suinocultura em Foco**, Porto Alegre, n.25, p.8-9, 2008.

GUÉRIN, B.; POZZI, N. Viruses in boar semen: detection and clinical as well as epidemiological consequences regarding disease transmission by artificial insemination, **Theriogenology**, v.63, n.2, p. 556-572, 2005.

HEFNAWY, J.L. TÓRTORA-PÉREZ, J. The importance of selenium and the effects of its deficiency in animal health, **Small Ruminant Research**, v.89, n.2/3, p.185-192, 2010.

HENZEL, A.; SALLA, P.F.; MASCITTI, A.K.; DEMOLINER, M.; SOLYMAN, M.C.; LUNGE, V.R.; SPILKI, F.R. Bovine alphaherpesvirus 1 and 5 in semen from bulls presenting genital lesions under field conditions in Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.71, n.1, p.197-203, 2019.

KAHRS, R.F. **Viral disease of cattle**. Infectious bovine rhinotracheitis and infectious pustular vulvovaginitis. 2. ed., Ames: Iowa State University Press, cap.18, 2001.

KIPNIS, E.; SAWA, T.; WIENER-KRONISH, J. Targeting mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis. **Médecine et Maladies Infectieuses**, Paris, v.36, n.2, p.78-91, 2006.

KOHN, F.M.; ERDMANN, I.; OEDA, T.; MULLA, K.F.; CHIEFER, G.; SCHILL, W.B. Influence of urogenital infections on sperm functions. **Andrologia**, Berlin, v.30, n.1, p.73-80, 1998.

LEAH, R.; BYERS, A.; SUMMER, R. Environmental chemicals impact dog semen quality in vitro and may be associated with a temporal decline in sperm motility and increased cryptorchidism. **Science Reproduction**, v.6, 33267, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27633184/>. Acessado em: 05 set. 2023.

LUCINI, G.; FUKUMOTO, N.M. Inseminação artificial na suinocultura. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v.9, n.9, p.172-183, 2023.

MACHADO, U.; SALIKI, J.T.; DUFFY, J.C.; CASELTINES, L. Bovine viral diarrhea virus type 2- induced meningoencephalitis in a heifer. **Veterinary Pathology**, v.41, n.2, p.190-194, 2004.



MAES, D.; RIJSSELAERE, T.; NAUWYNCK, H.; MATEUSEN, B. Diseases in swine transmitted by artificial insemination: an overview. **Theriogenology**, New York, v.70, n.8, p.1337-1345, 2008.

MAES, D.; VAN SOOM, A.; APPELTANT, R.; ARSENAKIS, I.; NAUWYNCK, H. Porcine semen as a vector for transmission of viral pathogens. **Theriogenology**, v.85, n.1, p.27-38, 2015.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa/SDA n.12, de 23/06/1999. Normas para a Certificação de Granjas de Suínos com um Mínimo de Doenças (GSMD) e Granjas de Suínos Certificados (GSC). Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília (DF), 1999.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa/SDA n.19, de 15/02/2002. Normas para a Certificação de Granjas de Reprodutores Suídeos. Diário Oficial da União, Poder Executivo (DF), 2002.

MAROTO MARTÍN, L.O.; MUÑOZ, E.C.; DE CUPERE, F.; DRIESSCHE, E.V.; ECHEMENDIA-BLANCO, D.; RODRÍGUEZ, J.M.M.; BEECKMANS, S. Bacterial contamination of boar semen affects the litter size. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.120, n.1/4, p.95-104, 2010.

MARTÍN, L.O.M.; MUÑOZ, E.C.; BEECKMANS, S. Bacterial contamination of boar semen affects the litter size. **Animal Reproduction Science**, v.120, n.1/4, p.95-104, 2010.

MÉLO, S.K.M.; SILVA, E.R.R. Brucelose Canina: Revisão de Literatura. **Ciência Veterinária dos Trópicos**, Recife, v.6, n.1, p.7-17, 2013.

MEYER, A.D.; CORTEZ, A.; SOARES, R.M.; PITUCO, M.E.; OKUDA, L.; LEOMIL, H.; CASTRO, A.M.M.G.; RICHTZENHAIN, L.J. Comparação das técnicas de isolamento viral e nested PCR na detecção do BHV-1 em sêmen bovino experimentalmente e naturalmente contaminado. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, São Paulo, v.70, n.2, p.123-126, 2003.

MIRANDA, J.C. Boas práticas agropecuárias: Os Benefícios da suplementação alimentar em ruminantes. **Revista Interface Tecnológica**, v.18, n.2, p.455-465, 2021.

MURGAS, L.D.S.; LIMA, D.; ALVARENGA, A. L.N.; ZANGERONIMO, M.G.; OBERLENDER, G.; OLIVEIRA, S.L. Estudo comparativo de diferentes técnicas de avaliação da concentração espermática em suínos. **Archivos de Zootecnia**, v.59, n.27, p.463-466, 2010.

MUYLKENS, B.; THIRY, J.; KIRTEN, P.; SCHYNTS, F.; THIRY, E. Bovine herpesvirus infection and bovine herpesvirus rinothraqueitis. **Veterinary Research**, v.38, p.181-209, 2007.

NESS, A. **Identification of water system biofilm bacteria and the negative effects on reproductive traits**. In: American Association of Swine Veterinarians, 2007, Davis. Proceedings... Davis, 2007. p.47.

OBERLENDER, G.; ZANGERONIMO, J.G.; DA SILVA, A.C.; DE ALCANTARA MENEZES, T. Bacteriologia do sêmen suíno – Aspectos relacionados: revisão de literatura. **Revista Eletrônica de Medicina Veterinária**, v.20, n.20, p.15-27, 2013.

OKAZAKI, T.; MIHARA, T.; FUJITA, Y.; YOSHIDA, S.; TESHIMA, H.; SHIMADA, M. Polymyxin B neutralizes bacteria-released endotoxin and improves the quality of boar sperm during liquid storage and cryopreservation. **Theriogenology**, v.74, n.9, p.1691-1700, 2010.

OSBORN, M.J. Lipopolysaccharide of the gram-negative cell wall. **Science**, New York, v.145, n.3634, p.783-789, 1964.

PEGORARO, L.M.C.; SAASFELD, M.H.; DERETI, R.M.; WEISSHEIMER, C.F.; SOUZA, G.N. Medidas de biossegurança no uso da inseminação artificial em bovinos. **Comunicado Técnico 382**, Embrapa Clima Temperado, 2020. 6p.

PEREZ, S.E.; BRETSCHNEIDER, G.; LEUNDA, M.R.; OSORIO, E.A.; FLORES, E.F.; ODEON, A.C. Primary infection, latency, and reactivation of bovine herpesvirus type 5 in the bovine nervous system. **Veterinary Pathology**, Middleton, v.39, n.4, p.437-444, 2002.

PICCOLOMINI, M.M.; GOES, A.C.; CATROXO, M.; MIYASHIRO, S.; NASSAR, A.F.C.; D'ANGELO, M. Alterações na morfologia e na viabilidade no desenvolvimento de embriões bovinos fecundados in vitro com sêmen contaminado experimentalmente à *Escherichia coli* produtora da toxina Shiga stx2. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, v.82, p.1-6, 2015.

PINEDA, Y.; SANTANDER, J. Evaluación de la flora bacteriana del semen de verracos en granjas porcinas de Venezuela. **Zootecnia Tropical**, v.25 n.3, p.173-177, 2007.

PRIETO-MARTÍNEZ, N.; BUSSALLEU, E.; GARCIA-BONAVILA, E.; BONET, S.; YESTE, M. Effects of *Enterobacter cloacae* on boar sperm quality during liquid storage at 17 °C. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.148, n.1/2, p.72-82, 2014.

PURDY, P.H.; MOCÉ, E.; STOBART, R.; MURDOCH, W.J.; MOSS, G.E.; LARSON, B.; RAMSEY, S.; GRAHAN, J.K.; BLACKBURN, H.D. The fertility of ram sperm held for 24h at 5 degrees C prior to cryopreservation. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.118, n.2/4, p.231-235, 2010.

RIDEOUT, M.I.; BURNS, S.J.; SIMPSON, R. B. Influence of bacterial products on the motility of stallion spermatozoa. **Journal of Reproduction and Fertility**, Oxford, suppl.32. p.35-40, 1982.

ROELS, S.; CHARLIER, G.; LETELLIER, C.; MEYER, G.; SCHYNTS, F.; KERKHOF, P.; THIRY, E.; VANOPDENBOSCH, L. Natural case of bovine herpesvirus 1 meningoencephalitis in an adult cow. **Veterinary Record**, v.146, p.586-588, 2000.

ROOT KUSTRITZ, M.V. The value of canine semen evaluation for practitioners. **Theriogenology**, v.68, n.3, p.329-337, 2007.

ROWE, J.D.; ESAST, N.E.; FRANTI, C.E.; THURMOND, M.C.; PEDERSON, N.C.; THEILEN, G.H. Risk factors associated with the incidence of seroconversion to caprine arthritis-encephalitis virus in goats on California dairies. **American Journal of Veterinary Research**, v.53, p.2396-2430, 1992.

SANOCA-MACIEJEWSKA, D.; CIUŃSKA, M.; KURPISZ, M. Bacterial infection and semen quality. **Journal of Reproductive Immunology**, Amsterdam, v.67, n.1/2, p.51-56, 2005.

SANTOS, A.D.F.; TORRES, C.A.A.; FONSECA, J.F.; BORGES, Á.M.; GUIMARÃES, J.D.; COSTA, E.P.; ROVAY, H. Uso de testes complementares para avaliação do congelamento do sêmen de bodes submetidos ao manejo de fotoperíodo artificial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.5, p.1934–1942, 2006.

SANTOS, C.S.; SILVA, A.R. Current and alternative trends in antibacterial agents used in mammalian semen technology. **Animal Reproduction**, v.17, n.1, p.e20190111, 2020.

SCHEID, I.R. Aspectos de biossegurança e higiene associados a inseminação artificial em suínos. **On Line**. Concórdia, 2000. Disponível em: [http://www.cnpesa.embrapa.br/abrasesc/pdf/Memorias2000/5\\_Isabel.pdf](http://www.cnpesa.embrapa.br/abrasesc/pdf/Memorias2000/5_Isabel.pdf). Acesso em: 11 set. 2023.

SCHULZ, M.; SÁNCHEZ, R.; SOTO, L.; RISOPATRÓN, J.; VILLEGAS, J. Effect of *Escherichia coli* and its soluble factors on mitochondrial membrane potential, phosphatidylserine translocation, viability, and motility of human spermatozoa. **Fertility and Sterility**, New York, v.94, n.2, p.619-623, 2010.

SCHULZE, M.; AMMON, C.; RÜDIGER, K.; JUNG, M.; GROBBEL, M. Analysis of hygienic critical control points in boar semenproduction. **Theriogenology**, New Yoik, v.83, n.3, p.430-437, 2015.

SEPÚLVEDA, L.; BUSSALLEU, E.; YESTE, M.; BONET, S. Effects of different concentrations of *Pseudomonas aeruginosa* in boar sperm quality. **Animal Reproduction Science**, v.150, n.3/4, p.96-106, 2014.

SICHERLE, C.C.M.; SOUZA, F.F.; FREITAS-DELLAQUA, C.P.; MOTHÉ, G.B.; PADOVANI, C.R.; PAPA, F.O.; LOPES, M.D. Effects of the cryopreservation process on dog sperm integrity. **Animal Reproduction**, v.17, n.1, p.e20190081, 2020.

SILVA, M.S.; BRUM, M.C.S.; LORETO, E.L.S.; WEIBLEN, R.; FLORES, E.F. Molecular and antigenic characterization of Brazilian bovine herpesvirus type 1 isolates recovered from the brain of cattle with neurological disease. **Virus Research**, v.129, p.191-199, 2007.

SILVA, A.D.; ESTEVES, P.A.; DEZEN, D.; OLIVEIRA, A.P.; SPILKI, F.R.; CAMPOS, F.S., FRANCO, A.C.; ROEHE, P.M. Efficacy of a gE-deleted, bovine herpesvirus 1 (BoHV-1) inactivated vaccine. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, n.7, p.545-551, 2009.

SILVA, J.C.B.; SILVA, M.R.; RESENDE, O.A.; SAMPAIO, D.C.; NOGUEIRA, E.; ABREU, U.G.P.; OLIVEIRA, L.O.F.; RODRIGUES, W.B.; SARTORI FILHO, R. Sêmen bovino refrigerado e aumento de prenhez de vacas de corte submetidas à IATF. **Circular Técnica nº 114**. Corumbá/MS: Embrapa Pantanal, 2017a.

SILVA, J.C.B.; NOGUEIRA, E.; SILVA, M.R. Processamento de Sêmen Bovino Refrigerado. **Circular Técnica nº 108**, Corumbá/MS: Embrapa Pantanal, 2017b. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1087101/processamento-de-semen-bovino-refrigerado>. Acessado em: 15 out. 2023.

SOBESTIANSKY, J.; MATOS, M.P.C. Doenças transmissíveis via sêmen. In: Simpósio Internacional de Reprodução e Inseminação Artificial de Suínos, 7, 2000, Foz do Iguaçu. Anais... Foz do Iguaçu, 2000. p.295-297.

SOUZA, A.F.; GUERRA, M.M.P.; COLETO, Z.F.; MOTA, R.A.; SILVA, L.B.G.; LEÃOS.A.E.D.; SOBRINHO, E.S.N. Avaliação microbiológica do sêmen fresco e congelado de reprodutores caprinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.43, n.3, p.329-336, 2006.

SOUZA, K.C.; ANDRIOLI, A.; TEIXEIRA, M.F.S. Vírus da artrite encefalite caprina em sêmen: diagnóstico e transmissão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.38, n.2, p.92-97, 2014.

TAMULI, M.K.; SHARMA, D.K.; RAJKONWAR, C.K. Studies on the microbial flora of boar semen. **Indian Veterinary Journal**, v.61, p.858-861, 1984.

ÚBEDA, J.L.; AUSEJO, R.; DAHMANI, Y.; FALCETO, M.V.; USAN, A.; MOLO, C.; PEREZ-MARTINEZ, F.C. Adverse effects of members of the Enterobacteriaceae family on boar sperm quality. **Theriogenology**, v.80, n.6, p.565-570, 2013.

USTER, C.E.; ALTHOUSE, G.C. The impact of bacteriospermia on boar sperm storage and reproductive performance. **Theriogenology**, v.85, n.1, p.21-26, 2016.

VILLEGAS, J.; SCHULZ, M.; SOTO, L.; SANCHEZ, R. Bacteria induce expression of apoptosis in human spermatozoa. **Apoptosis**, London, v.10, n.1, p.105-110, 2005.

VASCONCELOS, A.B.; SANTOS, L.F.; DE PAULA, I.H.; ALMEIDA, R.N.; SANTOS, J.P.; QUINTAL, A.P.N. Aspectos microbiológicos do sêmen de bovinos mantidos em central de reprodução animal. **Veterinária Notícias**, v.24, n.1, p.43-56, 2018.

VIU, M.A.O.; DIAS, L.R.O.; LOPES, D.T.; VIU, A.F.M.; FERRAZ, H.T. Rinotraqueíte infecciosa bovina: revisão. **PUBVET**, Londrina, v.8, n.4, art.1678, 2014. Disponível em: <https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/1734>. Acesso em: 08 nov. 2023.

VOGEL, F.S.F.; FLORES, E.F.; WEIBLEN, R.; WINKELLMAN, E.R.; MORAES, M.P. BRAGANÇA, J.F.M. Intrapreputal infection of young bulls with bovine herpesvirus type 1.2. (BHV-1.2): acute balanoposthitis, latent infection and detection of viral DNA in regional neural and non-neural tissues 50 days after experimental reactivation. **Veterinary Microbiology**, v.98, p.185-196, 2004.

WEITZE, K.F. Hygiene tips for good semen quality. **Pig International**, v.38, n.8, p.14-16, 2008.

ZANELLA, J.R.C. Doença de Aujeszky ou Pseudorraiva em suínos: uma virose que pode ser controlada. **Suíno Brasil**, 2º trimestre, p.72-77, 2023.