

Importância do uso da inseminação artificial na prevenção da veiculação de patógenos através do sêmen suíno

The importance of using artificial insemination in swine to prevent pathogen spread through the semen

Ivan Bianchi^{1,3}, Sílvia Schaaf², Érico Kunde Corrêa¹, Arlan Perondi¹, Thomaz Lucia Jr.¹, João Carlos Dechamps¹, Marcio Nunes Corrêa¹

¹PIGPEL: Ensino, Pesquisa e Serviços em Produção de Suínos, Departamento de Clínicas Veterinária, Hospital de Clínicas Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

²Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil.

³Correspondência: ibianchi@ufpel.edu.br

Resumo

Por meio da inseminação artificial (IA), o uso do macho suíno é otimizado, pois um mesmo reprodutor pode fornecer sêmen para um número maior de fêmeas. Problemas reprodutivos observados em granjas poucas vezes são relacionados à qualidade microbiológica da dose inseminante, mas sim à falta de diagnóstico. Muitos patógenos podem ser veiculados pelo sêmen e introduzidos nos plantéis de fêmeas por meio da IA, comprometendo, assim, a fertilidade e à prolificidade de um rebanho. Um eficiente programa de biosseguridade, manutenção da saúde dos reprodutores e uma correta manipulação do ejaculado são condições imprescindíveis para a qualidade das doses inseminantes.

Palavras-chave: bacteriospermia, vírus, sêmen, inseminação artificial.

Abstract

In artificial insemination (AI) programs the use of the boar is optimized, since it may used as semen donor for a larger number of females. Although reproductive problems in swine farms are not commonly related to the microbiological quality of the semen dose, there is a lack of diagnosis regarding this matter. Several pathogens may be spread through the semen and introduced in the breeding herd through AI, which might compromise its fertility and prolifacy. Therefore, the high quality of the semen doses should be assured through efficient biosecurity programs, maintenance of high health status for all donor boars and correct processing of the ejaculates.

Keywords: bacteriospemia, viruses, semen, artificial insemination.

Introdução

A técnica de inseminação artificial (IA) em suínos vem se desenvolvendo consideravelmente nos últimos anos, refletindo em avanços nas metas produtivas e reprodutivas dos plantéis e na intensificação do uso dos reprodutores por meio da adaptação no método de IA intracervical (Corrêa *et al.*, 2001) para os métodos póscervical (Watson e Behan, 2002) e intra-uterina profunda (Vázquez *et al.*, 2003). Segundo Wentz *et al.* (2000), estimou-se a realização de 1,6 milhões de primeiras IA no Brasil, o que equivale à utilização desta biotécnica em praticamente 50% do plantel brasileiro de matrizes suínas em sistema tecnificado (Miele e Machado, 2006).

Com o aumento da demanda pelo uso da IA, surgiram questões relacionadas, principalmente, à sanidade, haja vista a possibilidade de veiculação de agentes patogênicos por meio de um ejaculado para um número maior de fêmeas, quando comparado ao uso da monta natural. A contaminação do sêmen destinado ao processamento para uso na IA é praticamente inevitável, podendo ocorrer diretamente pelo animal e indiretamente durante as etapas de coleta, no processamento, na estocagem, na distribuição e mesmo na IA propriamente dita (Thacker *et al.*, 1984; Sobestiansky e Matos, 2000).

A ocorrência de doenças em rebanhos suínos diminui a lucratividade do negócio por causar despesas adicionais e por reduzir a *performance* dos animais. Além disso, a presença de determinados patógenos pode ter significado importante em termos de saúde pública, em função da qualidade do produto destinado ao consumidor.

Esta revisão teve o objetivo de abordar a veiculação de patógenos por meio do ejaculado suíno utilizado na IA, e apresentar seu impacto reprodutivo, assim como métodos de prevenção e controle.

Recebido: 12 de junho de 2006

Aprovado para publicação: 23 de julho de 2007



Importância da IA na prevenção da veiculação de patógenos pelo do sêmen

Por meio da IA, o uso de um macho é intensificado, reduzindo o número de reprodutores no rebanho. O uso desta biotecnologia pode ser uma ferramenta de biosseguridade, contribuindo para manter os sistemas de produção de suínos sanitariamente fechados, mas geneticamente abertos. Assim, o risco de introdução de doenças em plantéis que utilizam IA é menor quando comparado a sistemas que utilizam monta natural (Thacker *et al.*, 1984; Bouma, 2000).

No entanto, a eficiência da IA como ferramenta de biossegurança depende da atenção dada à sanidade dos reprodutores, à localização da Central de IA (CIA), à higiene durante o processamento do sêmen e à logística de distribuição das doses aos produtores (Ruvalcaba *et al.*, 2000; Scheid, 2000). Para isso, é de fundamental importância o conhecimento dos elos da cadeia epidemiológica na transmissão de doenças pela IA, a fim de que sejam elaboradas e implantadas medidas sanitárias efetivas e tecnicamente justificadas, para assegurar a qualidade das doses de sêmen produzidas (Guérin e Pozzi, 2005).

Veiculação de patógenos pelo do sêmen

A flora bacteriana do aparelho reprodutor do macho pode conter uma grande variedade de agentes potencialmente patogênicos. Entretanto, trabalho realizado por Gall *et al.* (1998) demonstrou que o trato genital, composto pelos testículos, epidídimos, glândulas vesiculares, próstata, glândulas bulbouretrais e uretra peniana encontram-se relativamente livres de contaminação, não havendo indicação de que a presença de grande número de bactérias no ejaculado tenha origem nesses órgãos do aparelho reprodutivo.

A presença de contaminação bacteriana no ejaculado pode ser originária de uma infecção sistêmica ou infecção do sistema reprodutivo, bem como do contato do ejaculado com secreções prepuciais, pêlos, mãos do funcionário, contato indireto com aerossóis, contaminação dos materiais e equipamentos utilizados na coleta (fômites), diluição e acondicionamento do sêmen (Mazurova e Krpatova, 1990). Desse modo, as fases críticas para a qualidade bacteriológica do sêmen são: coleta, manipulação e conservação do ejaculado (Tab. 1).

Tabela 1: Causas de contaminação bacteriana do sêmen suíno.

Origem animal	Origem não animal	
Fezes	Água do diluente	
Fluídos da cavidade prepucial	Componentes do diluente	
Pele e pêlos	Aerossóis	
Secreções respiratórias	Materiais e equipamentos utilizados (copo coletor, termômetro, etc)	
Humana (pele, secreções respiratórias, etc)		

Fonte: Adaptado de Althouse e Lu (2005).

As bactérias usualmente presentes na flora do aparelho reprodutor do macho suíno, tais como Escherichia coli, Bordetella bronchiseptica, Pseudomonas aeruginosa, Streptococcus spp entre outras, podem ser encontradas no ejaculado após a coleta em maior ou menor freqüência (Tab. 2). Madec et al. (1994) citam que, em um estudo realizado com 22 machos de diferentes propriedades, examinando-se 60 amostras de sêmen, constatou-se a presença de Micrococcus em 30%, Escherichia coli em 25%, Proteus em 10% e Estafilococos em 8% das amostras. Brucella suis, Leptospira spp e Mycobacterium spp (principalmente Mycobacterium avium) são considerados contaminantes que podem estar tanto nos órgãos genitais quanto no trato urinário (Sobestiansky e Matos, 2000). Segundo Althouse et al. (2000), em investigações realizadas em plantéis de doadores de sêmen em granjas norte-americanas durante três anos, uma série de bactérias foram isoladas no sêmen suíno diluído, na forma de contaminantes únicos ou em associação de dois ou mais gêneros bacterianos. As bactérias mais freqüentemente isoladas foram: Alcaligenes xylosoxydans, Burkholderia cepacia, Enterobacter cloacae, Escherichia coli, Serratia marcescens e Stenotrophomonas [Xanthomonas] maltophilia. Essas seis bactérias responderam por 71% das amostras contaminadas, mostrando-se resistentes à gentamicina, que é o antibiótico normalmente utilizado em diluentes comerciais para sêmen suíno (Althouse et al., 2000; Corrêa et al., 2001).

Tabela 2. Bactérias encontradas no sêmen suíno.

Maior frequência	Menor frequência	
Staphylococcus spp.	Corynebacterium spp.	
Pseudomonas spp.	Streptococcus spp.	
Escherichia coli	Proteus spp.	
Klebsiella spp.	Serratia spp.	
Citrobacter spp.	Enterobacter spp.	
Micrococcus spp.	Aerobacter spp.	
	Bordetella spp	
	Mycoplasma spp.	

Fonte: Adaptado de Sobestiansky e Matos (2000)



O ejaculado, aparentemente, tem um papel pouco importante na disseminação das bactérias contaminantes do sêmen, uma vez que, por meio da inclusão de uma combinação de antibióticos, pode-se prevenir a transmissão desses agentes bacterianos (Scheid, 2000; Leiding, 2000). Porém, isso de forma alguma significa que as medidas de higiene referentes às instalações, alojamento e cuidado com os animais, coleta, processamento, armazenamento, distribuição e utilização do sêmen possam ser negligenciadas.

Numerosas infecções virais são conhecidas por prejudicarem a qualidade do ejaculado e causarem infertilidade e desordens reprodutivas tanto no macho quanto na fêmea (Guérin e Pozzi, 2005). As causas de contaminação viral do sêmen podem ser extrínsecas, como enteroviroses resultantes de contaminação fecal durante a coleta, ou intrínsecas, quando o reprodutor apresenta uma infecção sistêmica ou localizada no aparelho reprodutor (Guérin, 1996).

Todos os vírus podem, potencialmente, ser transmitidos pelo ejaculado, especialmente na fase de viremia da infecção (Weitze, 1996; DeCuadro-Hansen, 2000). Alguns exemplos de contaminantes virais que podem ser transmitidos pelo sêmen são: vírus da febre aftosa, doença vesicular suína, enterovírus, vírus da peste suína clássica, peste suína africana, parvovírus, doença de Aujeszky, síndrome reprodutiva e respiratória suína (SRRS), encefalite japonesa B, reovírus, adenovírus e o circovírus (Tab. 3).

Tabela 3. Viroses isoladas no sêmen suíno e potencial risco de contaminação.

Enfermidade Viral	Isolamento no sêmen	Potencial risco de contaminação
Peste suína clássica	Sim	Alto
Peste suína africana	Sim	Alto
Doença de Aujeszky	Sim	Alto
SRRS	Sim	Alto
Circovirose (PCV – 2)	Sim	Alto
Parvovirose	Sim	Alto
Gastroenterite transmissível	Sim	Muito baixo
Febre Aftosa	Sim	Baixo
Enteroviroses	Sim	Alto
Adenovirose	Sim	Baixo
Influenza	Sim	Baixo
Doença vesicular suína	Sim	Alto

Fonte: Adaptado de DeCuadro-Hansen (2000) e Guérin e Pozzi (2005).

Implicações clínicas e reprodutivas da veiculação de patógenos pelo sêmen

O sêmen suíno pode ser o veículo de determinadas enfermidades, resultando na diminuição tanto dos índices reprodutivos quanto dos produtivos. Animais clinicamente doentes devem ser afastados da coleta de sêmen para elaboração de doses, reduzindo, assim, o risco de transmissão de patógenos por meio da IA. No entanto, animais aparentemente sadios podem encontrar-se no período de incubação da doença, cuja possibilidade de eliminação de patógenos pelo ejaculado é alta. Dessa forma, o ejaculado contaminado pode ser destinado para a inseminação antes que sinais clínicos da doença sejam reconhecidos e o diagnóstico definitivo seja estabelecido (Weitze 1996; Bouma, 2000; Guérin e Pozzi, 2005).

Além dos graves problemas associados à transmissão de enfermidades para as granjas usuárias da IA, a introdução de patógenos em determinados plantéis oriundos das CIAs traz impactos negativos, diretos e indiretos, na operação do programa de IA (Scheid, 2000). O impacto direto ocorre devido à alteração do estado clínico geral dos animais, com conseqüente redução da qualidade espermática e do número de doses produzidas. Em muitos casos, há necessidade de descarte de machos pelo caráter irreversível das alterações verificadas na função testicular e epididimária, em conseqüência de períodos febris prolongados (Althouse e Lu, 2005). Indiretamente, ao afetar a capacidade de produção da CIA, fica comprometida a logística de atendimento das granjas usuárias das doses, resultando em falhas graves no alcance das metas de cobertura (Leiding, 2000).

Com relação à contaminação bacteriana, Althouse *et al.* (2000) relacionaram a presença de bactérias no sêmen com redução significativa da motilidade espermática (usualmente <30%), aglutinação espermática, alta taxa de alterações de acrossoma (>20%) e morte de espermatozóides dois dias após a coleta e o processamento do sêmen, independente do diluente utilizado. Além disso, a acidificação do meio (pH entre 5,7 e 6,4) foi detectada em 93% das amostras examinadas. Algumas viroses, como a Doença de Aujeszky e a SRRS, também podem influenciar negativamente na qualidade do sêmen, alterando a motilidade e o aumento da porcentagem de anormalidades espermáticas (Christopher-Hennings *et al.*, 2001).

Atualmente duas viroses que podem ser transmitidas pelo sêmen assumem grande importância, devido às grandes perdas econômicas decorrentes da redução nos índices de produtividade. Uma delas é a SRRS, a qual não tem diagnóstico de ocorrência no Brasil. Quando as fêmeas são inseminadas com sêmen contaminado pelo vírus da SRRS, pode ocorrer infecção dos ovários, embriões, além de outros tecidos (Lager *et al.*, 1996), e



resultar em infertilidade e provável descarte da fêmea (Prieto e Castro, 2005). Por outro lado, a circovirose está se disseminando rapidamente no rebanho brasileiro, havendo evidências de tranmissão vertical após inseminação com sêmen contaminado (West *et al.*, 1999). Clinicamente essa doença é caracterizada pela síndrome da multirefugagem sistêmica no pós-desmame e dermatite nefropática suína. O reprodutor, uma vez infectado por essas viroses, pode eliminar intermitentemente o vírus pelo sêmen, contaminando as fêmeas inseminadas (Kim *et al.*, 2001).

Outra importante consequência da contaminação do sêmen é a redução da vida útil das doses. Na rotina da maioria das CIAs, a perda precoce e significativa da motilidade no sêmen diluído é atribuída a outras causas, como problemas com o reprodutor, choque térmico e qualidade do diluente, sendo esporádica a investigação bacteriológica para a solução de problemas de conservação de sêmen diluído (Althouse e Lu, 2005).

O sêmen contaminado por bactérias e, principalmente por vírus, impõe risco de infecção genital da fêmea inseminada, podendo causar, em determinadas situações, descargas vulvares multifatoriais, metrites, retornos regulares ou irregulares ao estro, abortos, aumento do número de natimortos e mumificados, redução do tamanho da leitegada e nascimento de leitões fracos (Bouma, 2000; Sobestiansky e Matos, 2000).

Em trabalho realizado por Althouse *et al.* (2000), esses autores verificaram que granjas que utilizavam IA com sêmen contaminado por bactérias obtiveram um aumento no retorno regular do estro (17 e 25 dias após a IA). Esse aumento variou de 17,1% a 100% entre as granjas e aparentemente foi dependente do tempo em que as doses contaminadas permaneceram estocadas, desde o processamento até o uso. A granja que obteve 100% de retorno utilizou o sêmen após 48h de armazenagem.

Segundo Perestrelo-Vieira e Perestrelo-Vieira (1995), as bactérias provocam, geralmente, poucos problemas reprodutivos após a inseminação, quando estão presentes em pequenas quantidades (10 bactérias/ml de sêmen diluído), embora constituam um fator de risco em relação à fertilidade e à prolificidade da fêmea. Os mecanismos de defesa não-específicos do útero das fêmeas são muito eficientes durante a fase de estro (duração de 2-3 dias), especialmente aqueles mecanismos baseados na ação de polimorfonucleares, que atuam eliminando o excesso de sêmen e os corpos estranhos, incluindo vírus e bactérias.

No entanto, existe uma associação entre falhas reprodutivas e inseminações tardias, realizadas após o estro (fase de metaestro). No metaestro, a defesa natural do útero presente durante o estro está suprimida, em conseqüência da queda fisiológica dos níveis de estrógenos e elevação da progesterona. Observa-se, também, a diminuição da presença de neutrófilos no útero, com conseqüente redução da imunidade local, predispondo as fêmeas inseminadas no estro tardio ou no metaestro às infecções uterinas, descargas vulvares e retornos irregulares ao cio (Rozeboom *et al.*, 1997; Pozzobon *et al.*, 2000).

Outro fator imunológico importante é que os mecanismos de defesa não-específicos do útero das fêmeas podem ser menos eficazes contra alguns vírus do que contra as bactérias, já que os vírus podem se replicar no útero ou no embrião em crescimento. Deste modo, alguns vírus podem não desencadear os mecanismos inespecíficos de defesa, mesmo quando a IA é feita durante o estro (Hare, 1985; Rozeboom *et al.*, 1997).

Prevenção e controle da disseminação de patógenos pela IA

Medidas preventivas contra a veiculação de patógenos pelo sêmen dependem de uma rotina rígida de controle (DeCuadro-Hansen, 2000; Scheid, 2000).

No Brasil, CIAs de suínos que comercializam sêmen (sistemas abertos) estão submetidas às exigências sanitárias estabelecidas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA),por meio do Programa de Granjas de Reprodutores Suídeos Certificadas – GRSC - Instrução Normativa n.º 19, de 15 de fevereiro de 2002 (Instrução Normativa, 2002), devendo atender normas específicas quanto à sanidade dos reprodutores, monitorias sorológicas, localização da CIA, procedimentos de higiene, entre outros aspectos relacionados com a prevenção da introdução de doenças no plantel.

Centrais de inseminação sem certificação GRSC, que produzem e utilizam doses de sêmen na própria granja (sistemas fechados), também devem implantar medidas profiláticas específicas, que contemplem desde aquisição e introdução de reprodutores no plantel, padronização de metodologias de coleta, processamento e utilização do sêmen até normas básicas de biossegurança, a fim de assegurar a qualidade das doses (Leiding, 2000; Ruvalcaba *et al.*, 2000).

Os reprodutores utilizados em CIAs, seja em sistemas abertos ou fechados, devem ser provenientes de granjas certificadas, as quais oferecem garantia do perfil sanitário do macho (Guérin e Pozzi, 2005). Devido ao impacto econômico que vem causando à suinocultura em outros países e risco alto de transmissão do agente via sêmen, a sorologia para SRRS torna-se obrigatória para granjas produtoras de reprodutores (Scheid, 2000). A introdução na CIA somente de animais sorologicamente negativos para as principais enfermidades, e após esses terem passado por um período de quarentena, é considerada uma regra absoluta (Bouma, 2000).

Durante a quarentena, os animais devem ser mantidos em controle clínico permanente, visando identificar o surgimento de sintomas de doenças. A Instrução Normativa n.19 do MAPA (Instrução Normativa, 2002), prevê sorologia para as principais enfermidades (peste suína clássica, doença de Aujeszky, brucelose, tuberculose, sarna e livre ou controlada para leptospirose).



A Organização Internacional de Saúde Animal (Office International de Epizzoties – OIE, 198) cita em seu código de saúde animal as seguintes doenças relevantes para sêmen suíno: febre aftosa, estomatite vesicular, doença vesicular dos suínos, peste suína africana, peste suína clássica, doença de Aujezski, leptospirose, rinite atrófica suína, brucelose suína, trichinelose, encefalomielite, gastroenterite transmissível, salmonella enteritidis e salmonella typhimurium.

Após o período de quarentena, os reprodutores podem ser introduzidos no plantel, porém a monitoria sorológica semestral deve ser realizada (Instrução Normativa, 2002), para assegurar o controle das principais enfermidades transmitidas pelo sêmen.

Procedimentos de limpeza, desinfecção e higiene são recomendados para todas as unidades que coletam e processam sêmen, desde pequenas instalações em programas internos de IA até CIAs abertas que alojam grande número de reprodutores e produzem doses de sêmen em grande escala. O controle da contaminação nas CIAS deve incluir a limpeza diária das baias ou gaiolas dos machos, a lavagem e a desinfecção periódica de instalações e equipamentos, a higiene pré-coleta dos machos, a adoção de processos adequados de coleta e processamento, incluindo higiene dos materiais e do funcionário, fluxo de pessoal entre área limpa e área suja, e condições para o asseio pessoal dos funcionários que incluam vestuários e instalações sanitárias. A sala de coleta de sêmen e o laboratório devem ser fisicamente isolados, prevendo-se apenas uma janela de comunicação entre as duas áreas para a passagem do ejaculado e material de coleta (Bearden e Fuquay, 1997; Corrêa *et al.*, 2001).

As medidas de higiene visam reduzir ao mínimo possível a pressão infectiva da flora bacteriana normalmente presente nos animais, pessoas e ambiente, mas não são capazes de eliminá-la totalmente. Por essa razão, são adicionados antibióticos ao diluente. Antibióticos normalmente utilizados para esse fim apresentam ausência de espermotoxicidade, porém devem possuir ação antimicrobiana eficaz, preferencialmente de amplo espectro. Gentamicina, penicilina/estreptomicina, neomicina e lincomicina/espectinomicina são exemplos dos antibióticos mais utilizados (Corrêa *et al.*, 2001).

Althouse *et al.* (2000) demonstraram resultados de resistência da maioria das bactérias isoladas nas doses inseminantes em relação à gentamicina. Dessa forma, a decisão de troca do antibiótico, especialmente frente a problemas no controle da proliferação bacteriana, deve ser muito criteriosa, pois o número de produtos que atendem às características citadas é limitado. A comprovação prévia de resistência bacteriana ao produto em uso deve ser realizada por meio de exames bacteriológicos e antibiograma.

A monitoria bacteriológica periódica do sêmen, imediatamente após a coleta e em diferentes períodos do processamento e conservação do ejaculado, é um procedimento recomendado para avaliação do grau de contaminação nas CIAs, indicando a necessidade de mudanças ou correção dos procedimentos adotados (Althouse e Lu, 2005). Embora não existam padrões que indiquem níveis máximos aceitáveis para a carga de contaminantes do sêmen ao longo do tempo, cada CIA pode reconhecer a flora microbiana predominante e estabelecer seus próprios parâmetros para a monitoria da qualidade higiênica do trabalho. A água destinada à produção de diluente deve ser, da mesma forma, periodicamente controlada quanto à ocorrência de contaminação bacteriana (Scheid, 2000).

O diagnóstico virológico por métodos como o cultivo celular é limitado, porém a técnica de PCR tem demonstrado resultados satisfatórios na detecção de viroses (Guérin e Pozzi, 2005). Dessa forma, a monitoria sorológica dos machos é considerada uma prática indispensável no plantel de reprodutores (DeCuadro-Hansen, 2000).

As pessoas que trabalham em um programa de IA (CIA e setor de IA da granja) devem ser treinadas e motivadas a cumprir as normas de biossegurança estabelecidas, assumindo co-responsabilidade pela higienização e pelos resultados obtidos no processo de IA. Segundo Leiding (2000), o fator humano é decisivo na prevenção e na disseminação de doenças em um programa de IA. A saúde dos machos de uma CIA deve ser responsabilidade de um médico veterinário, com autoridade suficiente para assegurar que todas as medidas estabelecidas sejam seguidas e que igualmente assume responsabilidade nas ações de capacitação da equipe (Sobestiansky e Matos, 2000).

Um eficaz programa de biosseguridade aliado a métodos higiênico-sanitários na manipulação do ejaculado é ferramenta indispensável na prevenção da veiculação de patógenos pelo sêmen utilizado em um programa de IA, garantindo a saúde do plantel de machos reprodutores e a qualidade da dose inseminante.

Referências

Althouse GC, Kuster CE, Clark SG, Weisiger RM. Field investigations of bacterial contaminants and their effects on extended porcine semen. *Theriogenology*, v.53, p.1167-1176, 2000.

Althouse GC, Lu KG. Bacteriospermia in extended porcine semen. *Theriogenology*, v.63, p.573-584, 2005. **Bearden HJ, Fuquay JW**. Semen collection. *In*: Bearden HJ, Fuquay JW. (Ed.). *Applied animal reproduction*. 4.ed. New Jersey: Prentice Hall, 1997. p.147-157.

Bouma A. Transmissible virus diseases in porcine reproduction. *Reprod Dom Anim*, v.35, p.243-246, 2000. **Corrêa MN, Meincke W, Lucia T, Deschamps JC**. (Ed.). *Inseminação artificial em suínos*. Pelotas: Printpar, 2001.



Christopher-Hennings JEA, Holler LD, Benfield DA, Nelson EA. Detection and duration of PRRSV in semen serum peripheral blood mononuclear cells and tissues from Yorkshire Hampshire and Landrace boars. *Vet Diag Invest*, v.13, p.133-142, 2001.

DeCuadro-Hansen G. Control sanitario de los verracos en un centro de produccion de semen. *In*: Simpósio Internacional de Suinocultura, 1, 2000, São Paulo. *Anais*... São Paulo, 2000. p.152-162. Artigo.

Gall TJ, Wilson ME, Althouse GC. Quantification of bacteria in fractionated boar ejaculates. *In*: Swine Conference, 5, 1998, Minnesotta. *Proceedings*... Minneapolis, Minesotta: The Conference, 1998. p.45. Resumo. **Guérin B.** Viral excretion in boar semen and potential for contamination. *Reprod Dom Anim*, v.31, p.217-223,

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, p.556–572, 2005.

Hare WCD. Diseases transmissible by semen and embryo transfer techniques. Paris: Office International des Epizooties, 1985. p.4.

Instrução Normativa/SDA, nº 19 de 15 de fevereiro de 2002. *In*: Regulamento de Defesa Sanitária Animal. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2002.

Kim J, Han DU, Choi C, Chae C. Differentiation of porcine circovirus (PCV)-1 and PCV-2 in boar semen using a multiplex nested polymerase chain reaction. *J Virol Meth*, v.98, p.25-31, 2001.

Lager KM, **Mengeling WL**, **Brockmeier SL**. Effect of post-coital intrauterine inoculation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus on conception in gilts. *Vet Rec*, v.8, p.138-227, 1996.

Leiding C. Prevention of disease transmission by the use of semen in the porcine AI industry. *Liv Prod Sci*, v.62, p.221-236, 2000.

Madec F, Albina E, Vannier P. Les agents infectieux dans le sperme de verrat. In: Association Française de Medecine Veterinaire Porcine, 4, 1994, Maisons-Alfort, France. *Proceedings*... Maisons-Alfort: AFMVP, 1994, 150p. Resumo.

Mazurova J, Krpatova J. The risks of the cryopreservation of bull semen. *Veterinarstvi*, v.40, p.402-404, 1990. **Miele M, Machado JS** (Ed.). *Levantamento sistemático da produção e abate de suínos*. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2006.

Office International des Epizooties (OIE). Annex A: Animal health, relevant chapters for pig semen. 1998. On Line. Paris. Disponível em: http://www.oie.int/esp/es_index.htm. Acesso em 11 jun. 2006.

Perestrelo-Vieira R, Perestrelo-Vieira H. Algumas notas sobre as doenças transmitidas pelo sêmen de suíno. *Méd Vet*, v.43, p.5-14, 1995.

Pozzobon MC, Marchetti AN, Wentz I, Bortolozzo FP, Borchardt G. Inseminação artificial pós-ovulatória e suas consequências sobre o desempenho reprodutivo de matrizes suínas. *In*: Simpósio Internacional Minitub Inseminação Artificial em Suínos, 3, 2000, Flores da Cunha. *Anais*... Flores da Cunha, RS: O Simpósio, 2000. p.80-85.

Prieto C, Castro JM. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in the boar: a review. *Theriogenology*, v.63, p.1–16, 2005.

Rozeboom KJ, Troedsson JD, Shurson GC, Crabo BG. AI in swine: timing of insemination and post mating uterine inflammation. In: Swine Conference, 4, 1997. Minnesotta. *Anais.*.. Minnesotta, 1997. p.13. Resumo.

Ruvalcaba JAG, Lapuente, S, Hernandez-Gil R, Casanova BL. Avances en Inseminación Artificial – Bioseguridad de los Centros de IA. *In*: Simpósio Internacional de Reprodução e Inseminação Artificial de Suínos, 7, 2000, Foz do Iguaçu. *Anais...* Foz do Iguaçu, O simpósio, 2000. p.298-309.

Scheid IR. Aspectos de biossegurança e higiene associados a inseminação artificial em suínos. On Line. Concórdia, 2000. Disponível em: http://www.cnpsa.embrapa.br/abraves-sc/pdf/Memorias2000/5_Isabel.pdf>. Acesso em 11 de jun. 2006.

Sobestiansky J, Matos MPC. 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.

Thacker BJ, Larsen RE, Joo HS, Leman AD, Swigueguen B. The diseases transmissible with artificial insemination. J Am Vet Med Assoc, v.185, p.511-516, 1984.

Vázquez JM, Martinez EA, Parrilla I, Roca J, Gil MA, Vazquez JL. Birth of piglets alter deep intrauterine insemination with flow cytometrically sorted boar spermatozoa. *Theriogenology*, v.59, p.1605-1614, 2003.

Watson PF, Behan, JR. Intrauterine insemination of sows with reduced sperm numbers: results of a commercially-based field trial. *Theriogenology*, v.57, p.1683-1693, 2002.

Weitze KF. Transmissible diseases by artificial insemination in pigs. *In*: Congresso Panamerincano de Ciências Veterinárias, 15, 1996, Campo Grande. *Anais*... Campo Grande, MS: O Congresso, 1996. p.1-7.

Wentz I, Vargas AJ, Bortolozzo F, Castagna CD. Situação atual da inseminação artificial em suínos no Brasil e viabilização econômica dessa biotécnica. *In*: Simpósio Internacional Minitub Inseminação Artificial em Suínos, 3, 2000, Flores da Cunha. *Anais...* Flores da Cunha, 2000. p.5-12.

West KH, Bystrom JM, Wojnarowicz C, Shantz N, Jacobson M, Allan GM. Myocarditis and abortion associated with intrauterine infection of sows with PCV2. *J Vet Diag Invest*, v.11, p.530-532, 1999.