

## Impacto da contaminação bacteriana em ejaculados de machos suínos e sua relação com a fertilidade das doses inseminantes

*Impact of bacterial contamination in boar semen and its relationship with the fertility of insemination doses*

Suelen Vargas<sup>1</sup>, Rebeca Maria Sarmiento<sup>2</sup>, Beatriz de Quadros<sup>3</sup>, Vanessa Peripolli<sup>4</sup>, Ricardo Zanella<sup>5</sup>, Mariana Groke Marques<sup>6</sup>, Ivan Bianchi<sup>7</sup>

<sup>1</sup>IFC, Araquari, SC, Brasil, <sup>2</sup>IFC, Araquari, SC, Brasil, <sup>3</sup>PPGPSA-IFC, Araquari, SC, Brasil

<sup>4</sup>PPGPSA-IFC, Araquari, SC, Brasil, <sup>5</sup>UPF, Passo Fundo, SC, Brasil, <sup>6</sup>Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, Brasil, <sup>7</sup>PPGPSA-IFC, Araquari, SC, Brasil

### Resumo

Diversos agentes patogênicos, incluindo bactérias e fungos, podem contaminar o ejaculado suíno durante a coleta, processamento ou armazenamento das doses inseminantes, interferindo na qualidade espermática através da produção de toxinas, estresse oxidativo e biofilmes. Estas contaminações resultam em uma diminuição das taxas de fertilização, concepção e aumento das taxas de retorno e aborto espontâneo, exigindo estratégias eficazes de mitigação. A compreensão detalhada de como a contaminação bacteriana afeta os parâmetros de qualidade espermática é fundamental para o desenvolvimento de estratégias eficazes que minimizem o impacto negativo e maximizem as taxas de sucesso reprodutivo nas práticas de inseminação artificial. O objetivo desta revisão é fornecer uma análise dos principais agentes microbiológicos contaminantes do ejaculado e doses inseminantes de machos suínos, seu impacto na fertilidade bem como trazer alternativas para seu controle.

**Palavras-chave:** Manejo reprodutivo; Qualidade espermática; Práticas de biossegurança; Resistência antimicrobiana; Saúde suína.

### Abstract

*Several pathogenic agents, including bacteria and fungi, can contaminate boar ejaculates during the collection, processing, or storage of insemination doses, thereby compromising sperm quality parameters through the production of toxins, induction of oxidative stress, and biofilm formation. Such contamination can lead to reduced fertilization and conception rates, as well as increased return-to-estrus and spontaneous abortion rates, underscoring the need for effective mitigation strategies. A thorough understanding of the mechanisms by which microbial contamination affects sperm quality is essential for developing effective interventions aimed at minimizing these negative impacts and enhancing reproductive efficiency in artificial insemination systems. This review aims to provide a comprehensive overview of the major microbiological contaminants found in boar ejaculates and insemination doses, their impact on fertility, and potential control strategies.*

**Keywords:** Reproductive performance; Sperm quality; Biosecurity practices; Antimicrobial resistance; Swine health.

### Introdução

A inseminação artificial (IA) é uma tecnologia reprodutiva essencial na indústria suinícola, com o seu uso, foi possível obter avanços significativos no melhoramento genético e no manejo dos planteis (Mellagi et al., 2022). Assim, a qualidade do ejaculado é fundamental para a eficácia dessa prática. A contaminação bacteriana do ejaculado suíno representa uma grande preocupação, pois pode comprometer tanto a qualidade do sêmen quanto a saúde reprodutiva das fêmeas, resultando em perdas econômicas e desafios operacionais (Luther et al., 2024).

A presença de bactérias tanto Gram-positivas quanto Gram-negativas no ejaculado de machos suínos é amplamente documentada (Bennemann et al., 2017; Contreras et al., 2022; Rocha et al., 2023; McAnally et al., 2023). Esses microrganismos podem induzir danos diretos aos espermatozoides através de toxinas, além de causar estresse oxidativo e formação de biofilmes que comprometem a motilidade e a funcionalidade espermáticas. A contaminação bacteriana também acarreta impacto econômico já que o tratamento de infecções resultantes e a perda de eficiência reprodutiva aumentam os custos operacionais.

A crescente resistência aos antibióticos, tradicionalmente utilizados para controlar essas contaminações, demonstra a necessidade de novas soluções, tais como os peptídeos antimicrobianos e a refrigeração das doses a 5°C (Althouse et al., 2000; Keeratikulakorn et al., 2024a, 2024b).

O objetivo desta revisão é explorar o impacto da contaminação bacteriana na qualidade e fertilidade do sêmen suíno, abordando os mecanismos de dano, as implicações econômicas e as estratégias de mitigação.

### Contaminantes bacterianos no ejaculado e sua prevalência

Os equipamentos, insumos e protocolos empregados nas Unidades ou Centros de Difusão Genética (UDG ou CDG) destinados à coleta e ao processamento do ejaculado de suínos passaram por avanços substanciais nas últimas décadas. Entretanto, a coleta do ejaculado permanece um procedimento inerentemente não asséptico, o que permite a ocorrência de contaminação bacteriana em diferentes graus, oriunda de múltiplas fontes extrínsecas e intrínsecas ao animal. A composição e a diversidade da microbiota presente no ejaculado destinado à formulação das doses inseminantes podem impactar negativamente a integridade espermática, comprometendo a funcionalidade espermática e, por conseguinte, a fertilidade dos reprodutores (McAnally et al., 2023).

Dentre os microrganismos contaminantes identificados em ejaculados suínos, bactérias Gram-negativas e Gram-positivas representam a maioria dos isolados patogênicos (Bennemann et al., 2017; Rocha et al., 2023). As famílias bacterianas mais frequentemente detectadas incluem *Enterobacteriaceae*, *Enterococcaceae* e *Staphylococcaceae*, reconhecidas por sua capacidade de comprometer a qualidade espermática por meio da produção de toxinas, enzimas líticas e outros metabólitos prejudiciais (Kuster & Althouse, 2016). Adicionalmente, contaminantes das famílias *Pseudomonadaceae* e do filo Firmicutes também têm sido comumente associados a amostras de sêmen contaminadas, evidenciando a ampla diversidade de agentes microbianos que podem ser introduzidos ao longo das etapas de coleta, manipulação e armazenamento do sêmen.

Embora menos prevalentes, os fungos representam outro grupo de contaminantes que podem ser encontrados em amostras de sêmen suíno (Ciornei et al., 2022). Espécies de *Candida*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichophyton* e *Cladosporium* foram identificadas, apontando para a necessidade de uma vigilância microbiológica mais ampla. Os fungos possuem capacidade de sobreviver em ambientes onde as práticas de esterilização e desinfecção não são suficientemente eficazes.

A origem desses microrganismos presentes no ejaculado e nas doses inseminantes é variável, sendo frequentemente atribuída ao trato reprodutivo dos machos, ambiente, nutrição e insumos utilizados para a coleta e o processamento do ejaculado. O manuseio inadequado durante a coleta, soltura da glândula peniana, a manipulação e o armazenamento do sêmen também são fatores críticos que contribuem para a introdução e proliferação de contaminantes (Althouse, 2024). Esta complexidade exige uma compreensão abrangente dos tipos de contaminantes presentes e das suas fontes de origem, para o desenvolvimento de estratégias eficazes que assegurem a produção de doses de alta qualidade e segurança biológica.

### Fontes de contaminação do ejaculado

A contaminação bacteriana do ejaculado suíno pode ter múltiplas origens, comprometendo diretamente a qualidade das doses inseminantes. Entre as fontes de origem animal, destacam-se o escorrimento de fluido prepucial durante a coleta, a presença de pelos longos na região prepucial, fezes, urina e secreções corporais, que podem entrar em contato com o sêmen (Goldberg et al., 2013). Fontes ambientais como drenos, pias e baias sujas também são relevantes, sendo identificadas como pontos críticos com altas cargas bacterianas ( $>10^3$  UFC/cm<sup>2</sup>) (Schulze et al., 2015). Equipamentos e materiais como luvas reutilizadas, frascos coletores, funis, cabines de aquecimento e tanques de diluição, quando mal higienizados, tornam-se importantes fômites de contaminação (Goldberg et al., 2013; Schulze et al., 2015). Além disso, falhas humanas como a ausência de higienização adequada do prepúcio, técnicas de coleta inadequadas, coleta com duração superior a sete minutos e a negligência na manutenção de sistemas como os de osmose reversa, elevam as chances de contaminação (Goldberg et al., 2013; Rocha et al., 2023). A adoção de protocolos rigorosos de higiene, aliados ao treinamento contínuo da equipe, é fundamental para assegurar a produção de sêmen com alta viabilidade e baixa carga microbiana.

### Mecanismos pelos quais as bactérias afetam a qualidade espermática

A presença de bactérias na dose inseminante é uma preocupação não apenas pela sua prevalência,

mas também pelo impacto na funcionalidade espermática. Os mecanismos através dos quais as bactérias deterioram a qualidade espermática são complexos e multifatoriais, comprometendo a eficiência reprodutiva através de interações biológicas e químicas com os espermatozoides. Bactérias são capazes de secretar uma gama de enzimas proteolíticas e toxinas que comprometem a integridade da membrana espermática e a funcionalidade do flagelo do espermatozoide (Schulze et al., 2015; Martín et al., 2010). Estes agentes bacterianos induzem a lise celular e diminuem a motilidade espermática, o que pode comprometer o processo de fertilização (Luther et al., 2024).

As bactérias podem catalisar a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), que induzem estresse oxidativo nos espermatozoides (Kuster & Althouse, 2016). Este fenômeno aumenta a peroxidação lipídica das membranas biológicas do espermatozoide danificando o DNA e outras macromoléculas celulares. O estresse oxidativo não apenas reduz a motilidade, mas também a viabilidade espermática, afetando adversamente seu potencial de fertilização (Contreras et al., 2022).

Determinadas espécies bacterianas presentes no sêmen suíno e nos diluentes utilizados para sua extensão possuem a capacidade de formar biofilmes, o que representa um desafio significativo para a manutenção da qualidade microbiológica das doses inseminantes. Bactérias ambientais e oportunistas pertencentes às famílias *Enterobacteriaceae*, *Alcaligenaceae* e *Xanthomonadaceae* foram frequentemente isoladas em centrais de inseminação artificial e associadas à formação de biofilmes em superfícies como tanques de diluição, cabines de aquecimento, bancadas e equipamentos laboratoriais (Schulze et al., 2015). Dentre as espécies com maior capacidade de aderência e formação de biofilmes destacam-se *Pseudomonas spp.*, *Klebsiella spp.*, *Serratia spp.*, *Enterobacter spp.*, *Staphylococcus spp.* e *Escherichia coli* (Martín et al., 2010). A presença de biofilmes nesses ambientes oferece um ambiente protegido para a sobrevivência bacteriana, dificultando a ação dos antimicrobianos adicionados aos diluentes e aumentando o risco de contaminações crônicas e recorrentes. Além disso, o biofilme pode ser uma fonte constante de liberação bacteriana para os ejaculados processados, impactando negativamente a qualidade do sêmen e a fertilidade dos animais. Portanto, o controle efetivo dessas espécies e a prevenção da formação de biofilmes exigem protocolos de higienização criteriosos, uso adequado de desinfetantes e a manutenção regular dos equipamentos utilizados no processamento do sêmen. Os biofilmes fornecem um nicho protegido para o crescimento bacteriano e resistência aos antimicrobianos, o que pode prejudicar a qualidade das doses durante o armazenamento (Contreras et al., 2022).

Além dos danos físicos e químicos, as bactérias podem causar aglutinação dos espermatozoides, um processo no qual os espermatozoides se agregam uns aos outros, formando conglomerados que impedem a progressão normal através do trato reprodutivo da fêmea (Martín et al., 2010). Este mecanismo reduz significativamente a capacidade dos espermatozoides chegarem ao oviduto e fertilizar o óocito, o que pode comprometer indicadores de desempenho reprodutivo (McAnally et al., 2023).

### **Impacto da contaminação bacteriana na qualidade do ejaculado**

A contaminação bacteriana do ejaculado suíno tem implicações em vários parâmetros de qualidade espermática, que são essenciais para garantir a eficácia reprodutiva. O prejuízo nesses parâmetros pode reduzir a chance de sucesso na fertilização e no desenvolvimento embrionário.

A presença de bactérias no sêmen está associada a redução na motilidade espermática. Espécies bacterianas, tais como *Pseudomonas spp.*, *Proteus spp.* e *Escherichia coli* produzem metabólitos tóxicos que podem paralisar ou destruir os flagelos dos espermatozoides, impedindo sua capacidade de deslocamento através do trato reprodutivo da fêmea (Schulze et al., 2015). Além disso, a produção de ROS pode deteriorar a motilidade, comprometendo a função motora dos espermatozoides (McAnally et al., 2023).

O total de espermatozoides vivos na dose inseminante é fundamental para o sucesso da inseminação. No entanto, as toxinas liberadas pelas bactérias podem causar morte celular direta ou induzir apoptose na célula espermática, resultando em uma diminuição na quantidade de espermatozoides viáveis disponíveis para fertilização (Keeratikunakorn et al., 2024b).

A capacidade dos espermatozoides de manter a motilidade e a viabilidade ao longo do tempo é uma medida crítica da qualidade da dose, especialmente considerando o intervalo entre a coleta e produção da dose e o momento da inseminação. A contaminação bacteriana acelera o declínio na qualidade espermática, reduzindo sua longevidade. Isso é atribuído tanto à ação direta das toxinas bacterianas quanto ao ambiente bioquímico alterado do diluente. A integridade do DNA espermático é fundamental para o desenvolvimento embrionário, enquanto a integridade acrossômica é fundamental para a capacidade do espermatozoide de realizar a fertilização do óocito. A contaminação bacteriana tem sido associada a danos no DNA e na estrutura acrossômica, o que pode ser atribuído ao estresse oxidativo e à atividade enzimática bacteriana,

comprometendo a fertilidade dos espermatozoides e a viabilidade do embrião resultante (Peña et al., 2019).

### Efeito da contaminação bacteriana na fertilidade do sêmen suíno

A contaminação bacteriana não apenas compromete a qualidade seminal, mas também afeta diretamente a fertilidade. A capacidade de obter e sustentar uma gestação bem-sucedida pode ser reduzida devido aos efeitos adversos da contaminação bacteriana sobre os espermatozoides, mas também em razão de infecções no trato reprodutivo da fêmea (Kuster & Althouse, 2016; Costinar et al., 2021).

A fertilidade do ejaculado está intrinsecamente ligada à sua qualidade. A contaminação bacteriana, ao reduzir a motilidade, viabilidade e integridade do DNA espermático, resulta em menores taxas de fertilização. A qualidade do sêmen influencia não apenas a fertilização, mas também o subsequente desenvolvimento embrionário e fetal. A integridade do DNA espermático é importante para o desenvolvimento embrionário. A presença de espermatozoides com DNA fragmentado, uma consequência comum da contaminação bacteriana, pode levar a abortos espontâneos, desenvolvimento embrionário anormal ou nascimentos de leitões com baixa viabilidade (Peña et al., 2019).

Doses inseminantes com alta carga bacteriana resultam em taxas reduzidas de concepção e parto (Schulze et al., 2015; Kuster & Althouse, 2016; Bennemann et al., 2017). Além de influenciar a viabilidade dos espermatozoides, as bactérias podem causar infecções no trato reprodutivo da fêmea que resultam em vaginite e endometrite (Kuster & Althouse, 2016; Costinar et al., 2021). Estas condições não apenas reduzem a probabilidade de uma prenhez bem-sucedida, mas também podem comprometer a saúde geral das fêmeas, levando a ciclos reprodutivos prolongados e aumentando os custos de manejo e tratamento (Luther et al., 2024). A inseminação com doses contaminadas por bactérias multirresistentes, como *Serratia marcescens* e *Klebsiella oxytoca*, está associada à falha na placentação e à ocorrência de perdas gestacionais precoces (Luther et al., 2024; Keeratikunakorn et al., 2024b).

A mitigação dos efeitos da contaminação bacteriana sobre a fertilidade requer uma abordagem multifatorial, que inclui não apenas a prevenção e o tratamento da contaminação bacteriana do ejaculado e das doses, mas também boas práticas no manejo da inseminação artificial de forma a preservar a saúde reprodutiva das fêmeas.

### Estratégias para mitigar a contaminação bacteriana do ejaculado

A adoção de estratégias eficazes para prevenir e controlar a contaminação microbiológica do ejaculado suíno é essencial para garantir a qualidade das doses inseminantes e o bom desempenho reprodutivo dos plantéis. Esse processo tem início com o controle da saúde reprodutiva dos machos, uma vez que animais clinicamente saudáveis e submetidos a avaliações andrológicas regulares tendem a produzir sêmen de maior qualidade e com menor risco de contaminação (Schulze et al., 2015; Kuster & Althouse, 2016).

A qualidade do ambiente de alojamento também desempenha papel determinante sobre a fertilidade dos reprodutores. Instalações limpas, bem ventiladas e com conforto térmico adequado promovem o bem-estar animal, favorecendo tanto a espermatogênese quanto o comportamento sexual. Ambientes estressantes, podem comprometer a produção espermática e reduzir a libido dos machos (Bennemann et al., 2020).

A coleta do sêmen deve ser realizada com base em boas práticas de biossegurança. A utilização de luvas descartáveis, coletores estéreis e a higienização criteriosa da região prepucial são medidas fundamentais para evitar a introdução de microrganismos. Procedimentos inadequados, tais como o escorrimento de fluido prepucial, coletas prolongadas e falhas na assepsia, estão diretamente relacionados ao aumento de contaminações bacterianas (Goldberg et al., 2013; Schulze et al., 2015). Além disso sistema de coleta de sêmen automatizados reduzem as chances de contaminações bacterianas e a soltura da glândula peniana dos machos (Rocha et al., 2023).

Após a coleta e diluição, as doses inseminantes devem ser armazenadas e transportadas em condições ideais de temperatura, geralmente entre 15 °C e 18 °C. Durante o transporte até as granjas, é necessário garantir estabilidade térmica e minimizar vibrações, pois essas variações afetam negativamente a motilidade e a viabilidade dos espermatozoides (Althouse et al., 2000; Tamanini et al., 2022).

No momento da inseminação, a manutenção de práticas higiênicas continua sendo indispensável. O uso de cateteres estéreis, a desinfecção adequada da vulva da fêmea e a capacitação da equipe técnica são ações preventivas contra infecções uterinas, como vaginite e endometrite, que comprometem a fertilidade (Kuster & Althouse, 2016; Costinar et al., 2021).

Outro ponto crítico está na qualidade da água utilizada para preparar os diluentes. Recomenda-se

o uso de água purificada por osmose reversa e submetida a controle microbiológico rigoroso, uma vez que a água contaminada é uma das principais fontes de introdução bacteriana no sêmen (Goldberg et al., 2013; Schulze et al., 2015).

Para conter o crescimento microbiano durante o armazenamento, é comum a inclusão de antimicrobianos nos diluentes. Entre os princípios ativos mais utilizados estão gentamicina, penicilina, apramicina, amicacina, spectinomomicina e, com menor frequência, tilosina, geralmente usada em combinação com outros antimicrobianos (Schulze et al., 2015). No entanto, mesmo com a adição de antimicrobianos aos diluentes, a presença de bactérias nas amostras de sêmen ainda é comum, indicando que essas substâncias podem não ser suficientemente eficazes quando utilizadas isoladamente (Bennemann et al., 2017).

A combinação de antimicrobianos com o controle preciso de pH e osmolalidade tem sido uma prática eficaz ao longo dos anos. Ainda assim, diante do avanço da resistência antimicrobiana, torna-se cada vez mais urgente a adoção de alternativas. Entre as mais promissoras estão os peptídeos antimicrobianos, como o BiF2\_5K7K, que tem apresentado amplo espectro de ação (Keeratikunakorn et al., 2024a, 2024b).

Outra estratégia é a refrigeração das doses a 5°C, o que reduz significativamente o metabolismo bacteriano e preserva a qualidade espermática ao longo do tempo, dispensando o uso intenso de antimicrobianos (Althouse et al., 2000; Corrêa et al., 2006). A adoção dessa técnica requer diluentes específicos e o cumprimento rigoroso de práticas de higiene, limpeza e acondicionamento (Nitsche-Melkus et al., 2020). Diferentes sistemas de envase espermático com partículas bacteriostáticas tem se mostrado eficientes para a manutenção da proliferação bacteriana nas doses espermáticas de suínos (Camargo et al., 2022). Além disso, o monitoramento contínuo da qualidade espermática durante o armazenamento é essencial, visto que contaminantes aceleram o declínio desses parâmetros (McAnally et al., 2023).

Essas abordagens, combinando métodos químicos, físicos e procedimentais, quando implementadas de forma integrada, são eficazes na redução da carga bacteriana e na promoção de melhores resultados na inseminação artificial em suínos.

### **Implicações econômicas da contaminação bacteriana do sêmen suíno**

A contaminação bacteriana do sêmen suíno traz complicações não apenas na eficiência reprodutiva, mas também em aspectos econômicos e operacionais da indústria suinícola. A presença de contaminantes bacterianos frequentemente exige intervenções medicamentosas para tratar infecções nas fêmeas, além de maior risco de retorno ao cio e, conseqüente, aumento do uso de doses de sêmen. O tratamento de doenças reprodutivas e o aumento no uso de antimicrobianos ou outras substâncias terapêuticas aumenta o custo de produção (Althouse, 2024).

A utilização de sêmen contaminado está associada à redução das taxas de prenhez e, conseqüentemente, à diminuição no número de leitões nascidos por fêmea. As falhas reprodutivas decorrentes da contaminação microbiológica das doses inseminantes comprometem diretamente a eficiência do sistema reprodutivo, dificultando o alcance das metas produtivas e contribuindo para o aumento dos dias não produtivos no plantel (Contreras et al., 2022). Além dos prejuízos zootécnicos, quadros infecciosos prolongados, resultantes de infecções não tratadas ou manejadas inadequadamente, podem comprometer de forma significativa o bem-estar animal. Nesse contexto, o uso criterioso de antimicrobianos na produção suinícola tem ganhado destaque, especialmente frente à crescente demanda por sistemas sustentáveis e à pressão por redução do uso indiscriminado desses fármacos. Como resposta, a indústria tem investido em estratégias alternativas que mantenham a sanidade e a produtividade dos rebanhos sem recorrer excessivamente a antimicrobianos. A transparência nas práticas de produção, associada à adoção de métodos mais seguros e eficazes de controle microbiológico, representa não apenas um avanço na promoção da saúde animal, mas também uma oportunidade para valorização dos produtos e ampliação do acesso a mercados consumidores cada vez mais exigentes.

### **Considerações finais**

A contaminação bacteriana é um desafio importante no processo da inseminação artificial em suínos devido ao impacto na qualidade da dose inseminante e na fertilidade da fêmea suína. Algumas das estratégias para mitigar essa contaminação incluem implementação e práticas relacionadas ao bem-estar dos machos, treinamento dos colaboradores, qualidade do diluente, boas práticas na coleta, manipulação, avaliação da qualidade espermática armazenamento e distribuição das doses. Além disso seguir rigorosamente o manejo de inseminação artificial, registro dos dados e análise dos resultados. Investimentos em pesquisa e desenvolvimento de novos insumos e tecnologias tais como peptídeos antimicrobianos e

refrigeração das doses a 5°C, são essenciais para superar os desafios impostos pela contaminação bacteriana e garantir a sustentabilidade da produção suína.

### Referências

- ALTHOUSE, G.C.** Contaminant toxicity of concern for boars and semen used in assisted reproduction programs. *Animal Reproduction Science*, p.107519, 2024. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2024.107519
- ALTHOUSE, G.C. et al.** Field investigations of bacterial contaminants and their effects on extended porcine semen. *Theriogenology*, v.53, n.5, p.1167–1176, 2000. DOI: 10.1016/S0093-691X(00)00261-2
- BENNEMANN, P.E. et al.** Bacterial contaminants and antimicrobial susceptibility profile of boar semen in Southern Brazil studs. *Revista MVZ Córdoba*, v.23, n.2, p.6637–6648, 2017. DOI: 10.21897/rmvz.1338
- BENNEMANN, P.E. et al.** Characterization of boar studs in Brazil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.50, n.11, e20190998, 2020. DOI: 10.1590/0103-8478cr20190998
- CAMARGO, J. et al.** The feasibility of a swine semen storage system produced with bacteriostatic molecules to control bacterial proliferation. In: *INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ANIMAL BIOLOGY OF REPRODUCTION (ISABR)*, 9., 2022, Bento Gonçalves. Abstracts... Belo Horizonte: CBRA, 2022. *Animal Reproduction*, v.19, n.4, 2022
- CIORNEI, Ș.G. et al.** Candida genus maximum incidence in boar semen even after preservation, is it not a risk for AI though? *Molecules*, v.27, n.21, p.7539, 2022. DOI: 10.3390/molecules27217539
- CONTRERAS, M.J. et al.** Bacteria and boar semen storage: Progress and challenges. *Antibiotics*, v.11, n.12, p.1796, 2022. DOI: 10.3390/antibiotics11121796
- CORRÊA, M.N. et al.** Swine semen cooled at 5°C with PIGPEL-5 extender: effects on semen quality in vitro and fertility estimators in vivo. *Animal Reproduction*, v.3, n.1, p.41-48, 2006.
- COSTINAR, L. et al.** Boar semen contamination: identification of Gram-negative bacteria and antimicrobial resistance profile. *Animals*, v.12, n.1, p.43, 2021. DOI: 10.3390/ani12010043
- GOLDBERG, A.M.G. et al.** Risk factors for bacterial contamination during boar semen collection. *Research in Veterinary Science*, v.95, p.362–367, 2013. DOI: 10.1016/j.rvsc.2013.06.022
- KEERATIKUNAKORN, K. et al.** The effects of different antimicrobial peptides (A-11 and AP19) on isolated bacteria from fresh boar semen and semen quality during storage at 18 °C. *Antibiotics*, v.13, n.6, p.489, 2024a. DOI: 10.3390/antibiotics13060489
- KEERATIKUNAKORN, K. et al.** Effect of antimicrobial peptide BiF2\_5K7K on contaminated bacteria isolated from boar semen and semen qualities during preservation and subsequent fertility test on pig farm. *Antibiotics*, Basel, v.13, n.7, p.579, 2024b. DOI: 10.3390/antibiotics13070579
- KUSTER, 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. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2015.09.049
- LUTHER, A-M. et al.** Update of the cooling protocol for antibiotic-free storage of boar semen at 5 °C improves sperm quality and maintains low bacterial counts. *PLOS ONE*, v.19, n.6, e0305280, 2024. DOI: 10.1371/journal.pone.0305280
- MARTÍN, L.O.M. et al.** Bacterial contamination of boar semen affects the litter size. *Animal Reproduction Science*, v.120, n.1-4, p.95-104, 2010 DOI: 10.1016/j.anireprosci.2010.03.008
- MELLAGI, A.P.G. et al.** Update on artificial insemination: semen, techniques, and sow fertility. *Molecular Reproduction and Development*, v.90, p.601–611, 2022. DOI: 10.1002/mrd.23643.
- McANALLY, B.E. et al.** Characterization of boar semen microbiome and association with sperm quality parameters. *Journal of Animal Science*, v.101, p.1–11, 2023. DOI: 10.1093/jas/skad243
- NITSCHÉ-MELKUS, E. et al.** Impact of hygiene on bacterial contamination in extended boar semen: an eight-year retrospective study of 28 European AI centers. *Theriogenology*, v.146, p.133–139, 2020. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2019.11.031.
- PEÑA, S.T.Jr. et al.** Antioxidant supplementation mitigates DNA damage in boar (*Sus scrofa domesticus*) spermatozoa induced by tropical summer. *PLOS ONE*, v.14, n.4, e0216143, 2019. DOI: 10.1371/journal.pone.0216143
- ROCHA, J.C. et al.** Quality control of semen processing in boar studs: a Brazilian scenario. *Scientia Agricola*, v.81, e20230164, 2023. DOI: 10.1590/1678-992X-2023-0164
- SCHULZE, M. et al.** Analysis of hygienic critical control points in boar semen production. *Theriogenology*, v.83, p.430–437, 2015. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2014.10.004.
- TAMANINI, M.S.C et al.** Impact of agitation time of boar semen doses on sperm traits in short-and long-term extenders. *Animal Reproduction Science*, v.247, p.107159, 2022. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2022.107159