

ASPECTOS DE BIOSSEGURANÇA E DE HIGIENE ASSOCIADOS À INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM SUÍNOS

Isabel R. Scheid¹

Introdução

A inseminação artificial (IA) vem sendo empregada de forma crescente na suinocultura mundial. No Brasil estima-se a realização de 1,6 milhão de primeiras inseminações em 2000, o que equivale à utilização desta biotécnica em 51% da matrizes do plantel tecnificado (Wentz et al 2000). Estes dados indicam um aumento da ordem de 1.700% no emprego da IA na suinocultura brasileira na última década.

As principais razões do crescimento da IA estão vinculadas às mudanças verificadas na cadeia de produção, em especial ao aumento do tamanho dos plantéis, às exigências de qualidade de produto e à redução gradativa das margens de lucro do negócio. Neste contexto a IA tornou-se importante ferramenta na suinocultura industrial pois viabiliza o manejo reprodutivo de grandes plantéis, é poupadora de mão de obra e permite a rápida incorporação dos avanços genéticos no extrato comercial.

O incremento científico e tecnológico verificado na última década na área da IA é outro fator importante na popularização da IA. Embora o período de preservação do sêmen continue limitado em 2 à 3 dias em média, maiores conhecimentos sobre a fisiologia da reprodução do suíno resultaram em maior eficiência no manejo do diagnóstico do cio e na determinação do momento da inseminação. Este fato, somado à disponibilidade comercial de insumos e à possibilidade de exercer controle mais efetivo da produção e da qualidade das doses espermáticas, contribuiu para a melhoria dos resultados de fertilidade com IA, tornando-a mais atrativa para um número crescente de suinocultores.

Segurança sanitária é um forte argumento a favor da adoção da IA na produção de suínos. “Plantéis sanitariamente fechados mas geneticamente abertos” é uma expressão freqüentemente empregada para caracterizar o baixo risco de introdução de doenças através da IA, quando comparado com o risco imposto pela introdução de animais no plantel (Thacker et al 1984). A eficiência da IA como ferramenta de biossegurança, no entanto, depende da atenção dada à sanidade e à higiene em todos segmentos de um Programa de IA, desde a localização da Central de IA (CIAS) até a logística de distribuição das doses espermáticas aos clientes, com ênfase no fator animal. O conhecimento dos elos da cadeia epidemiológica na transmissão de doenças pela IA (Figura 1) é a base para a elaboração e implantação de

¹ Med. Veterinária, DMV, Scheid Assessoria Agropecuária S/C – Concórdia, SC. ischeid@uol.com.br

programas de biossegurança efetivos e tecnicamente justificados. O tema da biossegurança e o papel da IA na transmissão de doenças foi revisto recentemente por diferentes autores (Guérin 1996, DeCuadro-Hansen 2000, Ruvalcaba et al 2000, Sobestiansky e Matos 2000), comprovando sua relevância no momento atual da suinocultura.

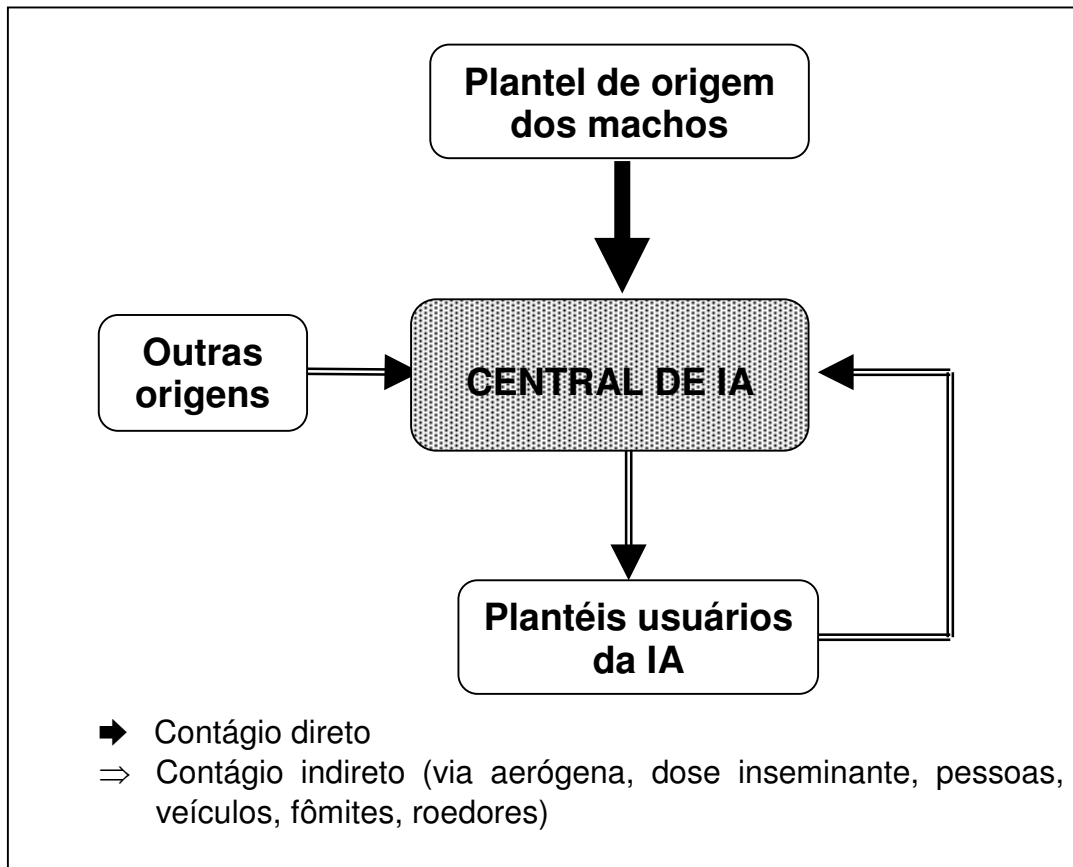


Figura 1 – Elos da cadeia epidemiológica na transmissão de doenças em Programas de Inseminação Artificial.

Risco e impacto da transmissão de doenças através da IA

Vários patógenos importantes já foram isolados no sêmen suíno, entre eles os vírus da Febre Aftosa, da Doença de Aujeszky (DA), da Síndrome Reprodutiva e Respiratória dos Suínos (PRRS) e da Peste Suína Africana e Clássica (Tabela 1). Potencialmente todos os vírus podem ser transmitidos pelo sêmen na fase virêmica da infecção. A replicação do vírus nos órgãos genitais na fase aguda da infecção, indicando a possibilidade de excreção viral pelo sêmen, foi demonstrada para os agentes da Peste Suína Clássica (Floegel et al 2000) da Doença de Aujeszky (Vannier e Gueguen 1979) e Parvovírus (Gradil et al 1990). O risco de infecção indireta do sêmen através de aerossóis, urina e outras secreções, durante ou após a coleta, também

está presente na fase virêmica, mesmo de agentes que não são detectados no trato genital. Embora animais clinicamente doentes sejam afastados da coleta de sêmen, reduzindo assim o risco de transmissão do patógeno através da IA, animais aparentemente sadios mantidos no mesmo ambiente podem encontrar-se no período de incubação da doença, onde a possibilidade de excreção de patógenos é alta. Desta forma, sêmen contaminado pode ser destinado para a inseminação antes que sinais claros e coletivos da doença sejam reconhecidos e o diagnóstico definitivo seja estabelecido.

Tabela 1 – Excreção viral no sêmen suíno e potencial de contaminação (adaptado de Guérin 1996; DeCuadro-Hansen 2000)

	Isolamento no sêmen	Risco potencial de contaminação
Peste suína clássica	+	+
Peste suína africana	+	+
Doença de Aujeszky	+	+
PRRS	+	+
Febre Aftosa	+	Baixo
Parvovírus	+	+
Enterovírus	+	+
Adenovírus	+	Baixo
Influenza	+	Baixo
Doença vesic. Dos suínos	+	+
Gastroenterite transmissível	+	Muito baixo
Encefalite japonesa B	+	+
Doença do olho azul	+	+
SMDLD ¹ (Circovirus2)	(+) ²	? ²

¹ Síndrome multisistêmica do definhamento do leitão desmamado

² Detecção do DNA viral por PCR (Rochelle et al 2000)

A patogenia da Doença de Aujeszky, com persistência de infecção na forma latente, assintomática, e possibilidade de recrudescimento da infecção acompanhado de excreção viral, determina risco potencial de difusão desta doença através da IA. A excreção viral precede ou coincide com o aparecimento dos sinais clínicos. No entanto, a transmissão da DA por inalação de aerossóis parece ser mais importante que a transmissão via sêmen (Kluge et al 1994, Guérin, 1996). Por outro lado, à semelhança das demais doenças que cursam com febre, cepas mais patogênicas do vírus da DA podem causar lesões extensas no epitélio seminífero e periorquite, com conseqüências negativas para a produção espermática.

O vírus da PRRS pode ser detectado no sêmen por longos períodos pós-infecção, na ausência de sintomas clínicos (Christopher-Hennings et al 1995), sendo a IA reconhecida como uma rota usual de transmissão da doença. Lager e Mengeling (2000) citam a utilização de sêmen oriundo de Centrais com machos PRRS-positivos como uma das causas de

recontaminação em granjas recentemente repopuladas nos Estados Unidos . O caso da Dinamarca, onde a vacinação de machos de Centrais de IA com vacina produzida com a cepa norte-americana do vírus da PRRS resultou na excreção do vírus vacinal no sêmen e possível infecção de machos não vacinados e difusão da cepa vacinal com características patogênicas em granjas usuárias da IA (Botner 1998), demonstra claramente a complexidade deste agente e o risco da adoção de medidas profiláticas insuficientemente validadas em programas de biossegurança de Centrais de IA.

Além dos graves problemas associados à transmissão de problemas sanitários para as granjas usuárias da IA, independente do porte dos plantéis, a introdução de patógenos no plantel do centro produtor de sêmen traz impactos negativos, diretos e indiretos, na operação do programa de IA. O impacto direto ocorre através da alteração do estado geral dos animais verificada na maior parte das viroses, com conseqüente redução da qualidade espermática e redução do número de doses espermáticas 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. Indiretamente, ao afetar a capacidade de produção da CIAS, fica comprometido o atendimento das granjas usuárias do sêmen, resultando em falhas graves no atingimento das metas de cobertura.

Medidas de biossegurança em Programas de IA

De acordo com Sesti (1998), biossegurança na produção de suínos significa o desenvolvimento e implementação de normas rígidas que terão a função de proteger o rebanho contra a introdução de qualquer tipo de agente infeccioso, sejam eles vírus, bactérias, fungos e/ou parasitas. O potencial risco da transmissão de doenças de grave impacto econômico através do sêmen, aumenta a exigência da adoção de medidas de biossegurança associadas com os programas de IA (Leidl 2000; Ruvalcaba et al, 2000). Estas medidas vem sendo progressivamente normatizadas por órgãos oficiais de vigilância sanitária animal, tanto à nível nacional como internacional. De acordo com a Organização Internacional de Epizootias – OIE (OIE, 2000), o objetivo do controle sanitário oficial da produção de sêmen é manter a saúde dos animais em um Centro de IA em padrões que permitam a distribuição internacional de sêmen livre de patógenos específicos que podem ser transmitidos pelo mesmo e causar infecção nas fêmeas suínas receptoras. O Código Zoosanitário Internacional da OIE contempla normas e recomendações específicas para Centrais de IA de suínos e para o comércio internacional de sêmen suíno (OIE 2000). Da mesma forma a Diretiva 90/429/EEC da União Européia, e seu anexo que entrou em vigor em 1999, estabelece as condições sanitárias para o comércio de sêmen suíno entre os países-membros da Comunidade Européia e para a importação de terceiros países. À exemplo da OIE, esta diretiva contempla não apenas o padrão sanitário dos doadores de sêmen, ou o fator animal. Aspectos gerais de biossegurança dos centros produtores

de sêmen como isolamento físico, supervisão veterinária, quarentena, uso de antibióticos no diluente, condições higiênicas de operação e capacitação do pessoal estão igualmente normatizados (Leidl 2000). No Brasil, Centrais de Inseminação Artificial de Suínos estão submetidas às exigências sanitárias estabelecidas no Programa de Granjas de Suínos com Mínima Doença – GSMD (Instrução Normativa no.12 do MAA/SDA/DDA, de 23 de junho de 1999), devendo atender normas específicas quanto à sanidade dos doadores, monitorias, localização e procedimentos de higiene, entre outros aspectos relacionados com a prevenção da introdução de doenças no plantel.

Entre as principais medidas de segurança sanitária em Programas de IA deve-se mencionar:

Localização e características da área física da CIAS

Unidades de produção de sêmen devem ser instaladas em local distante de outras criações de suínos, abatedouros, aglomerados urbanos, áreas de feiras e exposições agrícolas, e estradas principais. DeCuadro-Hansen (2000) recomenda um raio de 3 a 5km livre de outras granjas, considerando o risco de introdução de doenças via fomites, embora ressalte que esta distância não é suficiente para impedir a transmissão por via aerógena de patógenos altamente resistentes como o vírus da Febre Aftosa. A barreira à transmissão aerógena deve ser reforçada através de cinturões de reflorestamento na periferia da área da CIAS. O acesso à CIAS deve ser exclusivo. A área deve ser cercada para impedir a entrada de outros animais, e para controlar o acesso de pessoas e veículos. Embarcadouro, silos e portaria são localizados na cerca periférica. A portaria deve ter facilidades para banho, recebimento e remessa de material.

Controle sanitário dos plantéis de origem dos doadores de sêmen

O técnico responsável pela CIAS deve avaliar as condições sanitárias e de biossegurança das granjas fornecedoras de machos para o plantel da CIAS. Além de atender as exigências estabelecidas para a certificação GSMD (Granja de Suínos com Mínimo de Doenças), estas granjas deverão atender necessidades específicas de cada CIAS quanto ao padrão sanitário do plantel; por exemplo, ausência de determinadas doenças respiratórias. Devido ao impacto econômico que vem causando à suinocultura em outros países e ao alto risco de transmissão do agente via sêmen, a sorologia para PRRS torna-se obrigatória na seleção sanitária de plantéis fornecedores de reprodutores para a IA, com ênfase para centros que fornecem sêmen para unidades de melhoramento genético.

Quarentena

É um procedimento de adoção obrigatória para reduzir o risco de problemas sanitários na CIAS com a introdução de novos machos. O quarentenário deve localizar-se em área isolada e distante da CIAS, atender normas rígidas de acesso e pessoas e veículos, ser atendido por pessoal exclusivo e operar estritamente no sistema “tudo dentro - tudo fora”. Durante a quarentena, que deve durar sete semanas, os animais são mantidos em controle clínico permanente visando identificar o surgimento de sintomas de doenças. Sorologia para as principais doenças deve ser realizada no início e no final do período de quarentena.

Programa geral de vigilância sanitária e profilaxia

A certificação oficial como GSMD é necessária para as Centrais que comercializam sêmen, e inclui o exame laboratorial e provas diagnósticas periódicas (semestral ou trimestral) com resultado negativo para Peste Suína Clássica, DA, brucelose, tuberculose, leptospirose e sarna. Alternativamente para leptospirose é permitida a vacinação, recebendo o estabelecimento o certificado de “*granja vacinada para leptospirose*”. O ingresso de animais só pode ser feito à partir de estabelecimentos da mesma categoria sanitária oficial. O Programa GSMD também contempla aspectos gerais de segurança sanitária, conforme mencionado anteriormente. Complementarmente, o responsável técnico deve elaborar, implantar e acompanhar a execução de normas profiláticas específicas para a CIAS, que contemplem o acesso de animais, pessoas, materiais (incluindo ração) e veículos às instalações, monitorias sorológicas e vacinações adicionais, monitoria clínica do plantel, monitoria de água, uso de medicamentos e procedimentos de limpeza e desinfecção, entre outras.

Estratégias sanitárias para distribuição do sêmen

Um papel importante na disseminação de doenças entre granjas, e desde as granjas até a CIAS, pode ser exercido pelo esquema de distribuição de sêmen aos usuários da IA (vide Figura 1). Veículos, materiais e pessoal envolvidos nesta atividade representam risco sanitário considerável, sempre que medidas profiláticas não são adotadas neste segmento do Programa de IA. Estas medidas são especialmente importantes para Centrais que atendem grande número de granjas com variadas condições sanitárias. Os produtores devem ser desestimulados à buscar sêmen diretamente na Central, estabelecendo-se para tanto postos de distribuição das doses. Veículos e embalagens para transporte do sêmen até os clientes não podem ter acesso à CIAS. O pessoal encarregado da entrega de sêmen devem ser orientado à não entrar no recinto das granjas, realizando a entrega do material na periferia das unidades.

Educação sanitária da equipe e supervisão técnica

Todos os funcionários de um programa de IA devem ser treinados e motivados para cumprir as normas de biossegurança, entendendo o como e o porquê de cada uma das medidas adotadas, e assumindo co-responsabilidade pela manutenção da sanidade no processo de IA. A saúde dos machos de uma CIAS deve ser responsabilidade de um Médico Veterinário, com autoridade suficiente para assegurar que todas as medidas sejam seguidas à risca (Sobestiansky e Matos 2000); e que igualmente assume responsabilidade e autoridade nas ações de capacitação da equipe.

Higiene na operação de Centrais de Inseminação Artificial de Suínos

Ao contrário dos vírus, cuja pesquisa e identificação no animal, sêmen e/ou ambiente está usualmente vinculada à um problema de saúde em curso ou potencial, bactérias são freqüentemente isoladas no sêmen suíno sem apresentar maior significado patológico. Sobestiansky et al (2000) apresentam uma lista de bactérias encontradas com maior e com menor freqüência no ejaculado suíno (Tabela 2) alertando que *Brucella suis*, *Leptospira spp* e *Mycobacterium spp* (principalmente *M. avium*) são contaminantes que podem estar nos órgãos genitais e no trato urinário do macho suíno. Uma série de outras bactérias foi isolada no sêmen, na forma de contaminantes únicos ou em associações de dois ou mais gêneros bacterianos, em investigações realizadas no período de 3 anos em plantéis de doadores de sêmen e em granjas norte-americanas (Althouse 2000). As bactérias mais freqüentemente isoladas no sêmen diluído foram *Alcaligenes xylosoxydans*, *Burkholderia cepacia*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, and *Stenotrophomonas [Xanthomonas] maltophilia*. Estas seis bactérias responderam por 71% das amostras contaminadas.

Tabela 2 – Contaminantes do sêmen suíno

Bactérias encontradas com	
maior freqüência	menor freqüência
Staphylococcus spp.	Corynebacterium spp.
Pseudomonas spp.	Streptococcus spp.
Escherichia col	Proteus spp.
Klebsiella spp.	Serratia spp.
Citrobacter spp.	Enteroacter spp.
Micrococcus spp.	Aerobacter spp.
	Bordetella spp.
	Mycoplasma spp.

A presença de contaminação bacteriana no ejaculado pode ser originária de uma infecção do sistema reprodutivo do animal, contato do sêmen no momento da coleta com secreções prepuciais, pelos, mão do

coletador, contato indireto através de partículas que estão no ar, contaminação de recipientes, diluente, equipamentos e operadores do sêmen durante o processamento. Trabalho realizado por Gall et al (1998) demonstrou que o trato genital do macho (vesículas seminais, próstata, glândulas bulbouretrais, testículos, epidídimos e uretra peniana) encontra-se relativamente livre de contaminação, não havendo indicação que a presença usual de grande número de bactérias no ejaculado tenha origem nos órgãos reprodutivos. Com efeito, as fases críticas para a qualidade bacteriológica do sêmen são a coleta, a manipulação e a conservação do ejaculado (Figura 2).

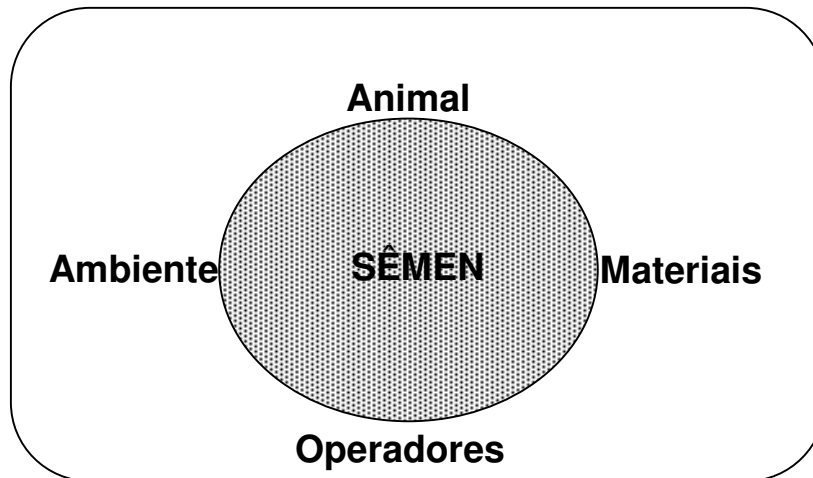


Figura 2 – Fontes de contaminação do sêmen em Centrais de IA

A composição dos diluentes destinados a prolongar a sobrevivência espermática *in vitro*, rica em nutrientes; e a temperatura de conservação do sêmen representam um meio favorável à proliferação bacteriana. A principal consequência da contaminação do sêmen é a redução do período de sobrevivência espermática, ou da “vida de prateleira” das doses de sêmen, ocasionando transtornos à operação dos programas de IA. No trabalho anteriormente citado Althouse (2000) relacionou a presença de bactérias com redução significativa da motilidade (usualmente <30%), aglutinação espermática, alta taxa de alterações secundárias de acrossoma (>20%) e morte das células ocorrendo dentro de dois dias após a coleta e o processamento do sêmen, independentemente do diluente utilizado. Acidificação do meio (pH 5,7 e 6,4) foi detectada em 93% das amostras examinadas. Na rotina da maioria das CIAS a perda precoce e significativa da motilidade no sêmen diluído é atribuída à outras causas – problemas com o reprodutor, choque térmico, qualidade do diluente -, sendo ainda esporádica a investigação bacteriológica para a solução de problemas de conservação de sêmen diluído.

Sêmen contaminado impõe risco de infecção genital da fêmea inseminada podendo causar, em determinadas situações, retornos ao cio, ocorrência de descargas vulvares e redução de tamanho de leitegada.

Acumulam-se as informações sobre a associação existente entre falhas reprodutivas e inseminações tardias, realizadas após o cio; e o mecanismo destas falhas está sendo elucidado. No metaestro a defesa natural do útero, presente durante o estro, está deprimida em consequência da queda fisiológica dos níveis de estrógenos e elevação da progesterona que ocorrem com a ovulação. Observa-se diminuição da presença de neutrófilos no útero, com conseqüente redução da imunidade local, predispondo as matrizes inseminadas no estro tardio ou no metaestro às infecções uterinas (Rozeboom et al 1997, Pozzobon et al 2000).

Controle da contaminação e da proliferação bacteriana no sêmen

O controle da contaminação bacteriana no sêmen é realizado pela adoção de duas medidas simultâneas na rotina de operação das CIAS: manutenção de rigoroso padrão de higiene, e adição de antibióticos aos diluentes.

O efeito de medidas básicas de higiene no processo de coleta foi quantificado por Bortolozzo et al (1999), utilizando 23 coletas de quatro machos alojados em gaiolas submetidos à dois processos de higienização pré-coleta e de procedimentos de coleta. Os tratamentos e resultados estão sumarizado na Tabela 3.

As informações atualmente disponíveis sobre a implicação da contaminação bacteriana na conservação do sêmen e nos resultados de fertilidade, tornam imprescindível a adoção de procedimentos efetivos de limpeza, desinfecção e higiene nas CIAS. Estes procedimentos 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 centenas ou milhares de doses/semana. A disponibilidade de materiais descartáveis para coleta e manipulação do sêmen (Lorton 1998), de detergentes e desinfetantes eficientes e de instalações planejadas levando em conta as exigências de limpeza, contribuem para que as CIAS atualmente mantenham níveis satisfatórios de higiene.

Tabela 3 – Número de bactérias (UFC/ml) isoladas em sêmen suíno coletado em diferentes condições de higiene

Medidas de higiene	UFC/ml (média ± DP)*	Amplitude
T1 – lavagem do macho e da gaiola 48h pré-coleta; esgotamento do prepúcio e secagem do óstio prepucial, uso de sobre-luva para higienização pré-coleta, extremidade do pênis livre durante coleta, descarte da fração inicial do ejaculado	490 ± 975	100 – 3500
T2 – lavagem do macho e da gaiola 1 x/ semana, esgotamento parcial prepúcio sem usar sobre-luvas, fixação completa do pênis e coleta do ejaculado total	18862 ± 14634	100 - 45000

* p = 0,01

As medidas de higiene na CIAS devem ser desenvolvidas e operacionalizadas na forma de um conjunto de procedimentos claramente estabelecidos, padronizados, descritos e conduzidos por pessoal treinado, evitando improvisações e variações que induzem à falhas.

O controle da contaminação nas CIAS deve incluir a limpeza diária das baias ou gaiolas dos machos, a lavagem e desinfecção periódica de instalações e equipamentos, a higiene pré-coleta dos doadores, a adoção de processos adequados de coleta incluindo higiene dos materiais e do operador; manutenção da limpeza no ambiente, equipamentos e materiais do laboratório; fluxo de pessoal entre área limpa e área suja, e condições para o asseio pessoal dos funcionários incluindo vestuário e instalações sanitárias. O galpão de machos e o laboratório devem ser fisicamente isolados, prevendo-se apenas uma janela de comunicação entre as duas áreas para a passagem do sêmen e material de coleta. O protocolo “Técnica de mínima contaminação” (Althouse et al 2000) é um exemplo de procedimento desenvolvido para o controle da contaminação do sêmen diluído, e abrange a fase pré-coleta, a coleta e preparação do sêmen, e limpeza do laboratório.

As medidas de higiene visam reduzir ao mínimo possível a pressão infectiva da flora bacteriana normalmente presente nos animais, pessoas e ambientes; mas não são capazes de eliminá-la totalmente. Por esta razão são adicionados antibióticos ao diluente. Gentamicina, penicilina/estreptomicina, neomicina e lincomicina/espectinomicina são antibióticos normalmente utilizados para este fim. Ausência de espermotoxicidade; ação antimicrobiana potente, preferencialmente de amplo espectro; solubilidade em água; custo compatível e disponibilidade no mercado são as características exigidas para antibióticos destinados aos diluentes de sêmen. A decisão de troca do antibiótico, especialmente frente à problemas no controle da proliferação bacteriana, deve ser muito criteriosa pois o número de produtos que atendem estas características é limitado. A comprovação prévia de resistência bacteriana ao produto em uso deve ser realizada, através de exames bacteriológicos e antibiograma. Deve-se ressaltar que a necessidade de troca de antibiótico é um forte indicador de falha no controle da contaminação bacteriana, e a decisão de troca do antibiótico deve ser precedida de uma profunda análise dos pontos de contaminação.

A monitoria bacteriológica periódica do sêmen imediatamente após a coleta e em diferentes períodos de conservação é um procedimento recomendado para avaliação do grau de contaminação na CIAS, indicando a necessidade de mudanças ou correção dos procedimentos de higiene adotados. Embora não existam padrões que indiquem níveis máximos aceitáveis para a carga de contaminantes do sêmen, dados obtidos de forma sistemática ao longo do tempo permitem que cada Central conheça a flora microbiana predominante e estabeleça seus próprios parâmetros para a monitoria da qualidade do trabalho. A água destinada à produção de diluente deve ser, da mesma forma, periodicamente controlada quanto à ocorrência de contaminação bacteriana.

Conclusões

Programas de IA abertos e internos são fornecedores que assumem responsabilidades de qualidade de produtos e serviços junto aos clientes. Além de potencial de fertilização, qualidade genética, custo e pontualidade de entrega, os programas devem assegurar que as doses de sêmen estejam livres de agentes de doenças, e que o sistema de atendimento às granjas é sanitariamente adequado.

Referências Bibliográficas

- 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. 1167-76. 2000.
- BORTOLOZZO, F.P.; DIAS, C.P.; CASTAGNA, C.D.; REIS, G.R.; SIMONETTI, R.; WENTZ, I; CARDOSO, M. Contaminação bacteriana no ejaculado de suínos submetidos a dois métodos de higienização e coleta. **Congresso Brasileiro de Médicos Veterinários Especialistas em Suínos, IX., 1999**. Belo Horizonte, Brasil. **Anais**. p.335-336. 1999.
- BOTNER, A. Field experience with PRRS and with the use of a live PRRS vaccine in Denmark. **Swine Disease Conference for Swine Practitioners, 6th, 1998**. Iowa, USA . **Proceedings**. p.59-65. 1998.
- CHRISTOPHER-HENNINGS, J.; NELSON, E.A.; HINES, J.K.; SWENSON, S.L.; ZIMMERMANN, J.J. et al. Persistence of PRRS virus in serum and semen of adult boars. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.7, p.456-464. 1995.
- DECUADRO-HANSEN, G. Control sanitario de los verracos en un centro de producción de semen. **Simpósio Internacional de Suinocultura, 5^o, 2000**. São Paulo, Brasil. **Anais**. p. 152-162, 2000.
- GALL, T.J.; WILSON, M.E.; ALTHOUSE, G.C. Quantification of bacteria in fractionated boar ejaculates. **Allen D. Leman Swine Conference, 1998**. Minnesota, USA. **Research Abstracts** v. 25 Supplement. p.45. 1998.
- GUÉRIN, B. Viral excretion in boar semen and potential for contamination. **Reproduction in Domestic Animals**, v.31 n.1, Supplement 1.p. 217-223. 1996.
- KLUGE, J.P.; BERAN, G.W.; HILL, H.T.; PLATT, K.B. Pseudorabies. In: LEMAN, A.D.; STRAW, B.E.; MENGELING, W.L.; D'ALLAIRE, S.; TAYLOR, D.J. **Diseases of Swine**. Ames, Iowa. Iowa State University Press. 7th edition. p.312-323. 1994
- LAGER, K.M.; MENGELING, W.L. Update on PRRS virus in the breeding herd. **Swine Disease Conference for Swine Practitioners, 8th, 2000**. Iowa, USA . **Proceedings**. p.124-126. 2000.
- LAROCHELLE, R.; BIELANSKI, A.; MÜLLER, P.; MAGAR, R. Evidence of shedding of porcine circovirus type 2 (PCV2) in boar semen following experimental infection. **International Pig Veterinary Society Congress, 16th, 2000**. Melbourne, Australia. **Proceedings**. p. 580. 2000.
- LEIDL, C. Prevention of disease transmission by the use of semen in the porcine AI industry. **Livestock Production Science**, v. 62, p. 221-236, 2000.

- LORTON, S.P. The Minitube method for hygienic boar semen collection and processing. **American Association of Swine Practitioners Annual Meeting, 29th, 1998**. Iowa, USA. **Proceedings**. p.229-230. 1998.
- OFFICE INTERNAT. DES EPIZOOTIES
(http://www.oie.int/eng/normes/mcode/A_00126.htm).
- POZZOBON, M.C.; MARCHETTI, A.N.; WENTZ, I.; BORTOLOZZO, F.P.; BORCHARDT N^o, G. Inseminação artificial pós-ovulatória e suas consequências sobre o desempenho reprodutivo de matrizes suínas. **Simpósio Internacional Minitub “Inseminação Artificial em Suínos”, III^o, 2000**. Flores da Cunha, Brasil. **Anais**. p. 80-85. 2000.
- ROZEBOOM, K.J.; TROEDSSON, J.D.; SHURSON, G.C.; CRABO, B. G. A.I. in swine: timing of insemination and post mating uterine inflammation. **Allen D. Leman Swine Conference, 1997**. Minnesota, USA. **Research Abstracts** v. 24 Supplement. p.13. 1997.
- RUVALCABA, J.A.G., LAPUENTE, S., HERNANDEZ-GIL, R., CASANOVA, B.L. Avances en Inseminación Artificial – Bioseguridad de los Centros de IA.. **Simpósio Internacional de Reprodução e Inseminação Artificial de Suínos, 7^o, 2000**. Foz do Iguaçu, Brasil. **Anais**. p.298-309, 2000.
- SESTI, L.A.C. Biosseguridade: políticas e metodologias para a implantação e manutenção de sistemas de produção de suínos com alto nível de saúde. In: SOBESTIANSKY, J.; WENTZ, IVO; SILVEIRA, P.R.S. da; SESTI, L.A.C. **Suínocultura intensiva: produção, manejo e saúde do rebanho**. Brasília : Embrapa-SPI; Concórdia : EMBRAPA-CNPISA, 1998. 388p.
- SOBESTIANSKY, J., MATOS, M.P.C. Doenças transmissíveis via sêmen. **Simpósio Internacional de Reprodução e Inseminação Artificial de Suínos, 7^o, 2000**. Foz do Iguaçu, Brasil. **Anais**. p.295-297, 2000.
- THACKER, B.J.; LARSEN, R.E.; JOO, H.S.; LEMAN, A.D. SWIGUEGUEN, B. The diseases transmissible with artificial insemination. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 185(5), p. 511-516, 1984.
- VANNIER, P.; GUEGUEN, B. Excrétion du virus de la Maladie d’Aujeszky par les voies génitales mâles du porc. **Journées de la Recherche Porcine** v.19, p.401-406. 1979.
- WENTZ, I.; VARGAS, A.J.; BORTOLOZZO, F.; CASTAGNA, C.D. Situação atual da inseminação artificial em suínos no Brasil e viabilização econômica dessa biotécnica. **Simpósio Internacional Minitub “Inseminação Artificial em Suínos”, III^o, 2000**. Flores da Cunha, Brasil. **Anais**. p. 5-12. 2000.