

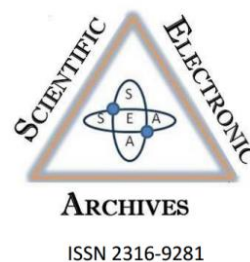
**Scientific Electronic Archives**

Issue ID: Sci. Elec. Arch. Vol. 17 (5)

Sept/Oct 2024

DOI: <http://dx.doi.org/10.36560/17520241977>

Article link: <https://sea.ufr.edu.br/SEA/article/view/1977>



**Avaliação microbiológica do sêmen de pequenos ruminantes criados em Pernambuco, Brasil**

**Microbiological evaluation of semen from small ruminants raised in Pernambuco, Brazil**

**Felipe Gabriel Carneiro Pessoa**

Universidade Federal Rural de Pernambuco

**Rebeca Feitosa Botelho de Andrade**

Universidade Federal Rural de Pernambuco

**Márcio Douglas Leal da Silveira**

Universidade Federal Rural de Pernambuco

**Emmylly Victória Gomes de Lima**

Universidade Federal Rural de Pernambuco

**Lucilene Martins Trindade Gonçalves**

Universidade Federal Rural de Pernambuco

**Erika Fernanda Torres Samico-Fernandes**

Universidade Federal Rural de Pernambuco

**Huber Rizzo**

Universidade Federal Rural de Pernambuco

[huber.rizzo@ufrpe.br](mailto:huber.rizzo@ufrpe.br)

**Resumo.** Diversas bactérias podem estar presentes no ejaculado de pequenos ruminantes, podendo algumas ter efeito negativo sobre a sua qualidade. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a presença de microrganismos no sêmen fresco de reprodutores caprinos e ovinos criados em Pernambuco, Brasil. Foram utilizados vinte pequenos ruminantes (três caprinos e dezessete ovinos), aparentemente hígidos, criados na mesorregião Metropolitana do Recife (Paulista e Recife) e participantes da Feira Agropecuária de Carpina, mesorregião da Mata Pernambucana, submetidos a exame clínico e andrológico com colheita de sêmen por eletroejaculação e pesquisa microbiológica e fúngica. As amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Doenças Infecciosas (LDIC) do DMV/UFRPE para cultura, isolamento e identificação dos agentes. Todos os machos apresentavam-se hígidos e aprovados quanto aos parâmetros avaliados no exame andrológico. Em 80% (16/20) das amostras (um caprino e quinze ovinos), ocorreu o crescimento de ao menos um agente bacteriano e/ou fúngico sendo os microrganismos isolados: *Candida* sp. (n=5), *Bacillus* spp. (n=4), *Cocobacilo* gram negativo, *Escherichia coli* (20%), *Klebsiella* spp. (n=3), *Pseudomonas* sp. e *Citrobacter* sp. (n=1). Em treze amostras ocorreu o isolamento de apenas um microrganismo, em duas houve associação entre *Cocobacilo* gram negativo e *Candida* sp. e *Bacillus* spp. e *Candida* sp. e uma isolamento com esses três agentes. Os agentes isolados aparentemente fazem parte da flora do trato reprodutivos dos machos, no entanto é preciso mais pesquisas para determinar seus reais efeitos no trato reprodutor, a depender da espécie, cepa bacteriana, indivíduo e da carga microbiana presente no organismo.

**Palavras-chave:** bactéria, *Candida* sp., *Escherichia coli*, exame andrológico, fungo.

**Abstract.** Several bacteria may be present in the ejaculate of small ruminants, some of which may have a negative effect on its quality. Therefore, this work aimed to evaluate the presence of microorganisms in the fresh semen of goat and sheep breeders raised in Pernambuco, Brazil. Twenty small ruminants were used (three goats and seventeen sheep), apparently healthy, raised in the Metropolitan mesoregion of Recife (Paulista and Recife) and participating in the Agricultural Fair of Carpina, Mata Pernambucana mesoregion, submitted to clinical and andrological examination with semen collection. by electroejaculation and microbiological and fungal research. The samples were sent to the Infectious Diseases Laboratory (LDIC) at DMV/UFRPE for culture, isolation and identification of the agents. All males were healthy and approved regarding the parameters assessed in the andrological examination. In 80% (16/20) of the samples (one goat and fifteen sheep), there was growth of at least one bacterial and/or fungal agent, the microorganisms being isolated: *Candida* sp. (n=5), *Bacillus* spp. (n=4), Gram-negative coccobacillus, *Escherichia coli* (20%), *Klebsiella* spp. (n=3), *Pseudomonas* sp. and *Citrobacter* sp. (n=1). In thirteen samples, only one microorganism was isolated, in two there was an association between gram-negative Cocobacillus and *Candida* sp. and *Bacillus* spp. and *Candida* sp. and isolation with these three agents. The isolated agents apparently are part of the flora of the male reproductive tract, however more research is needed to determine their real effects on the reproductive tract, depending on the species, bacterial strain, individual and the microbial load present in the organism.

**Keywords:** bacteria, *Candida* sp., *Escherichia coli*, andrological examination, fungus.

## Introdução

A utilização de biotecnologias da reprodução contribui para alavancar o melhoramento genético através do incremento das taxas de fertilidade, que está intimamente relacionada com a produção de espermatozoides viáveis e em concentração satisfatória (Cosentino et al., 2022).

O exame clínico e andrológico é a forma mais segura de atestar a aptidão dos machos para a reprodução, sendo importante estar associados a análises microbiológicas do sêmen para pesquisa de possíveis agentes que possam comprometer os índices de fertilidade do rebanho, uma vez que diversos microrganismos já foram isolados no sêmen de carneiros e bodes (Souza et al., 2006; Rizzo, 2011, Fernandes et al., 2013, Bernardy et al., 2022). As bactérias presentes no sêmen podem ser transmitidas tanto pela monta natural quanto pela inseminação artificial e prejudicar a função reprodutiva da fêmea (Andrabi et al., 2001). Pode ocorrer contaminação via sistema urinário, sendo as infecções geniturinárias responsáveis por 15% dos casos de infertilidade em machos (Pellati et al., 2008).

Os agentes isolados em sêmen de pequenos ruminantes no Brasil, relatados na literatura, foram; *Acinetobacter* spp., *Bacillus* spp., *Brucellas ovis*, *Corynebacterium* spp., *Enterobacter* spp., *Escherichia coli*, *Listeria* spp., *Klebsiella* spp., *Micoplasmas* spp., *Micrococcus* spp., *Salmonella* spp., *Staphylococcus* spp., *Shigella* spp., *Streptococcus* spp. e *Rodococcus* spp. (Blobel et al., 1972; Alves et al., 2004; Carvalho Júnior et al., 2010; Souza et al., 2006; Madeira, 2011; Rizzo, 2011, Bezerra et al., 2012; Gregory et al., 2012; Celeghini et al., 2013; Fernandes et al., 2013). O principal efeito negativo desses microrganismos na qualidade seminal é a redução da motilidade espermática, afetando a função acrossomal e causando danos ultra estruturais (Diemer et al.,

2000), além de estarem envolvidos em quadros de orquite, epididimite e vesiculites (Alves et al., 2004; Gregory et al., 2012; Celeghini et al., 2013; Rizzo et al., 2023). Devido à escassez de dados sobre a microbiota do sêmen de reprodutores caprinos e ovinos, objetivou-se pesquisar as bactérias presentes em amostras seminais de pequenos ruminantes hígidos.

## Material e métodos

### Seleção dos animais

Foram selecionados, de forma aleatória e por conveniência, vinte pequenos ruminantes, três bodes e dezessete carneiros, em bom estado nutricional, aparentemente saudáveis e sexualmente maduros, com idade entre dois e cinco anos. Os animais eram criados em uma propriedade de Recife (n=3) e outra em Paulista (n=6), mesorregião Metropolitana de Recife e os demais (n=11) eram participantes da Feira Agropecuária de Carpina, mesorregião da Mata Pernambucana, sendo criados em diversos municípios do estado (Tabela 1). As raças dos ovinos eram Santa Inês (n=12), Somalis (n=3), White Dorper (n=2) e dos caprinos a Saanen (n=3).

**Tabela 1.** Procedência dos pequenos ruminantes utilizados para pesquisa de agentes em amostras de sêmen fresco, Pernambuco, 2023.

Procedência	Espécie		Total
	Caprino	Ovino	
Feira Agropecuária, Carpina	1	10	11
Paulista	-	6	6
Recife	2	1	3
<b>Total</b>	<b>3</b>	<b>17</b>	<b>20</b>

### Exame físico

Para identificar possíveis alterações clínicas os animais foram submetidos ao exame físico onde foram avaliados os seguintes parâmetros: escore de

condição corporal, aprumos, pelame, temperatura retal, frequência cardíaca, respiratória e ruminal, turgor cutâneo, tempo de perfusão capilar, coloração de mucosas e tamanho dos linfonodos. Para determinar possíveis alterações no aparelho genital, os animais foram submetidos ao exame físico (inspeção e palpação) dos cordões espermáticos, testículos, epidídimos, escroto, pênis com mensuração do perímetro escrotal com fita métrica (Stockler et al., 2020; Bernardy et al., 2022; Cosentino et al., 2022)

#### Colheita de amostras

Os materiais utilizados no momento da colheita (funil e tubos) passaram por limpeza com gliconato de clorexidina 2% degermante e desinfetante a base de amônia quaternária seguido de esterilização (Figura 1A). Para certificação do procedimento foi utilizado indicador químico de esterilização Classe 5 da 2Ibiological®. Os animais, previamente a colheita, foram submetidos a lavagem com água e sabão do prepúcio e toda região circunvizinha, tricotomia e outra limpeza do prepúcio com gliconato de clorexidina 2%, iodo polvidine degermante e soro fisiológico, por fim, a área foi seca utilizando gaze estéril. As amostras de sêmen foram colhidas através de eletroejaculador com probe para pequenos ruminantes (Figura 1B). Foi alíquotado, em tubos Falcon estéreis, 100µL do ejaculado e transportados em caixa térmica contendo baterias resfriadas para análise microbiológica no Laboratório de Doenças Infecciosas (LDIC) do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil.

#### Princípios éticos

Essa pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal

Rural de Pernambuco (CEUA/UFRPE) com registro nº 7673130622.



**Figura 1.** Colheita de sêmen para exame andrológico e análise microbiológica. (A) Material de colheita (funil e tubos) esterilizados e embalados e (B) colheita seminal por eletroejaculação em carneiro da raça White Dorper.

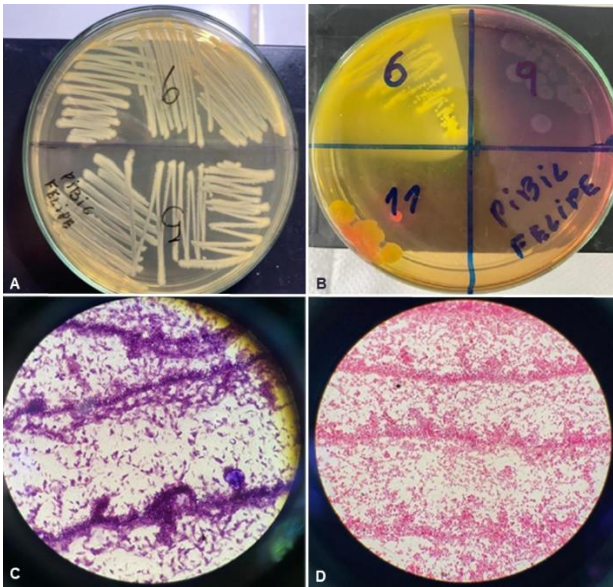
#### Resultados e discussão

Os animais avaliados apresentaram-se hígidos, sem alterações morfológicas do sistema reprodutor, como epididimites e/ou orquite. A circunferência escrotal é um importante componente da avaliação da capacidade reprodutiva e presença de infecções, sendo de fácil realização e associada a qualidade seminal e produção espermática, em reprodutores clinicamente saudáveis. Os vinte machos apresentaram espermograma com parâmetros de animais aptos a reprodução quanto a coloração, pH, motilidade, vigor, turbilhonamento, concentração e patologias (Bernardy et al., 2022; Cosentino et al., 2022).

Em 80% (16/20) das amostras de sêmen colhidas observou-se crescimento bacteriano e/ou fúngico dos seguintes agentes: *E. coli*, *Cocobacilo* gram-negativo, *Klebsiella* spp., *Bacillus* spp., *Candida* sp., *Citrobacter* sp. e *Pseudomonas* sp. e em três amostras associação entre bactérias e *Candida* sp. (Tabela 2 e Figuras 2).

**Tabela 2.** Frequência absoluta e relativa de microrganismos isolados no sêmen fresco de reprodutores ovinos e caprinos, Pernambuco, 2023.

Microrganismos	Ocorrência %(n)	Isolamento único %(n)	Espécie	
			Caprino	Ovino
<i>Candida</i> sp.	31,25 (5)	12,5 (2)	-	2
<i>Bacillus</i> spp.	25 (4)	12,5 (2)	-	2
<i>Cocobacilo</i> gram (-)	18,75 (3)	6,25 (1)	-	1
<i>E. coli</i>	18,75 (3)	18,75 (3)	-	3
<i>Klebsiella</i> spp.	18,75 (3)	18,75 (3)	1	2
<i>Pseudomonas</i> sp.	6,25 (1)	6,25 (1)	-	1
<i>Citrobacter</i> sp.	6,25 (1)	6,25 (1)	-	1
<b>Total de isolamentos</b>	<b>20</b>	<b>81,25 (13)</b>	<b>1</b>	<b>12</b>
<b>Associação de isolados</b>				
<i>Candida</i> sp. + <i>Cocobacilos</i> gram (-)		6,25 (1)	-	1
<i>Candida</i> sp. + <i>Bacillus</i> spp.		6,25 (1)	-	1
<b>Total dois organismos</b>		<b>12,5 (2)</b>	<b>-</b>	<b>2</b>
<i>Candida</i> sp. + <i>Bacillus</i> spp. + <i>Cocobacilos</i> gram (-)		6,25 (1)	-	1
<b>Total três organismos</b>		<b>6,25 (1)</b>	<b>-</b>	<b>1</b>
<b>Total amostras com isolamento</b>		<b>80 (16/20)</b>	<b>33,33 (1/3)</b>	<b>94,11 (16/17)</b>



**Figura 2.** Agentes isolados em amostras seminais de carneiros e bodes. (A) Crescimento bacteriano em meio Ágar BHI e (B) meio Ágar MacConkey. (C) Teste de coloração de Gram, positivo para bactéria Gram positiva e (D) Gram negativa.

Os microrganismos identificados mostraram semelhanças com os relatados por Souza et al. (2006), que ao investigarem a microbiota presente no sêmen fresco de caprinos, isolaram *Staphylococcus* spp. e *Bacillus* spp., com frequências de 72% e 64%, respectivamente. Fernandes et al. (2013), identificaram diferentes bactérias de acordo com o sistema de criação de ovinos Santa Inês, onde os animais submetidos ao confinamento apresentaram presença principalmente de *Bacillus* spp., enquanto nos animais a pasto o *Staphylococcus* spp., com diferença significativa ( $p < 0,05$ ) no isolamento de *E. coli*, *Bacillus* spp. e *Listeria* spp. no grupo confinado quando comparado com o grupo à pasto. Em estudo com sêmen de reprodutores da raça Crioula Lanada, os gêneros *Staphylococcus* spp., *Klebsiella* spp., *Corynebacterium* spp. e *Bacillus* spp., foram os mais isolados (Madeira, 2011), assim como observado nesse estudo.

Otter (2008), ao investigar a presença de bactérias em sêmen de carneiros com suspeita de infertilidade, identificou com maior frequência *E. coli*, *Staphylococcus* spp. coagulase negativa, *Bacillus* spp. e *Proteus* spp., sugerindo que essas bactérias possam ser comensais do trato reprodutor ou contaminantes, capazes de colonizar a mucosa peniana, prepucial e possivelmente a uretra distal, já que foram detectadas em proporções similares em amostras de sêmen com qualidade normal e reduzida.

*E. coli* quando presente nos ejaculados, normalmente, causa efeito inibitório na motilidade das células espermáticas, bem como provoca aglutinação e danos ultra estruturais na membrana, com redução significativa na motilidade, velocidade e viabilidade espermáticas (Yániz et al., 2010; Tvrdá et al., 2022). Neste estudo, as bactérias *E. coli*

isoladas não promoveram alterações significativas nos parâmetros avaliados do sêmen, justificado, uma vez que há indícios que o efeito deletério da bactéria no sêmen é concentração-dependente (Althouse et al., 2000). Yániz et al. (2010) identificaram as bactérias entéricas *E. coli*, *Proteus mirabilis* e *Enterobacter cloacae*, e as não entéricas *S. epidermidis* e *S. aureus* como as mais frequentes em amostras de sêmen de carneiros, associando a *E. coli* e a *E. cloacae* com redução da qualidade espermática. No Brasil a *E. coli* já foi descrita causando, juntamente com o *Corynebacterium* spp., quadro de orquite, epididimite e vesiculites em ovino (Rizzo et al., 2023), sendo recomendado a investigação dessas enfermidades na presença da bactéria em isolados seminais.

Quanto a *Candida* sp., o agente presente em mais amostras de sêmen do estudo, ainda não se sabe seu real potencial em causar infertilidade em ruminantes, no entanto avaliação *in vitro*, com sêmen humano, demonstrou o potencial do fungo em causar redução da motilidade espermática e danos a membrana mitocondrial, acelerando os mecanismos de apoptose (Burrello et al., 2009)

Assim, torna-se notoriamente desafiador determinar a significância da presença de microrganismos no sêmen e suas reais consequências, uma vez que esses resultados podem variar dependendo da espécie, indivíduo e concentração do agente em questão. A contaminação do ejaculado pode ter diversas origens, incluindo o sistema urinário, com infecções genitourinárias que causam infertilidade em machos (Pellati et al., 2008), microrganismos presentes no próprio sêmen, bactérias encontradas na mucosa peniana e prepucial, bem como durante os processos de colheita, processamento e armazenamento do sêmen. Estas situações podem ser atribuídas a práticas deficientes de higiene por parte dos manipuladores ou ao uso inadequado dos equipamentos (Amiridis; Cseh, 2012; Fernandes, 2013). Nesse estudo tentou-se minimizar os riscos de contaminação externa, com esterilização dos materiais e limpeza da região prepucial, no entanto o processo de colheita por eletroejaculador possibilita que bactérias presentes na região prepucial e abdominal possam contaminar a amostra, principalmente no momento da contração causada pelo estímulo elétrico, além da poeira levantada com o contato dos cascos dos animais no solo.

Apesar de nesse estudo não ter sido isolada nenhum agente bacteriano já relatado no Brasil causando problemas reprodutivos como; *A. seminis* (Gregory et al., 2009; Santos et al., 2014), já isolado em Pernambuco (Bezerra et al., 2012), *B. ovis* (Blobel et al., 1972) *Corynebacterium pseudotuberculosis* (Alves et al., 2004) e *Salmonella entérica sub-diarizonae* (Celeghini et al., 2013) a presença das bactérias isoladas nos dezesseis machos, a depender da carga e diversidade bacteriana, podem afetar a qualidade seminal, uma vez que podem desencadear processos

inflamatórios, superprodução de espécies reativas de oxigênio e, assim, contribuir para alterações na estrutura dos espermatozoides, comprometendo a capacidade de fertilização dos gametas masculinos (Tvrdá et al., 2022).

Em estudo realizado com sêmen de carneiros e bodes hígidos no Iran, *S. aureus*, *Enterobacter cloacae*, *P. mirabilis*, *S. epidermis* e *E. coli* representaram 97% dos isolados em diferentes períodos e estações do ano, sendo indicativos de compõem a flora bacteriana desses animais (Khalid, 2024).

Nesse estudo não ocorreu o isolamento de micoplasmas, uma vez que para a pesquisa desse agente é necessário alíquotar a amostra de sêmen em meio de manutenção e cultura específico, sendo um processo de isolamento laborioso, no entanto é um agente a ser considerada nas pesquisas de casos de infertilidade em pequenos ruminantes, podendo causar redução da motilidade e balanite (Gregory et al., 2012; Kalshingi et al., 2015), sendo já detectado em sêmen fresco de reprodutores ovinos (Santos et al., 2013) e isolado em sêmen congelado de bodes de Pernambuco (Alves et al., 2013).

### Conclusão

Conclui-se que é notoriamente difícil determinar a origem dos microrganismos presentes no sêmen e seus reais efeitos no trato reprodutor dos machos ovinos e caprinos, uma vez que pode haver variações dependendo da espécie, da cepa bacteriana, do indivíduo e da carga microbiana presente no organismo.

Dada a escassez de informações sobre a avaliação microbiológica e os efeitos dos microrganismos no sêmen dos pequenos ruminantes, é fundamental conduzir mais pesquisas com a avaliação de um número maior de reprodutores para que os resultados sejam mais fidedignos com a realidade dos machos da região. Estas investigações são necessárias para preencher a lacuna atual na literatura e para ajudar a identificar a microbiota seminal. Além disso, elas podem contribuir para a elaboração de medidas de controle visando a redução da contaminação, com o intuito de garantir rebanhos saudáveis, férteis e livres de afecções.

### Referências

ALVES, F.S.F.; PINHEIRO, R.R.; COX, M.; ANDRIOLI, A.; AQUINO NETO, H.M.; SILVA, A.M.C. Epididimite-orquite causado por *Corynebacterium pseudotuberculosis* em caprinos. Revista Brasileira de Medicina Veterinária, v.26, n.1, p.11-16, 2004.

ALVES, B.H.L.S.; SILVA, J.G.; MOTA, A.R.; CAMPOS, A.C.; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.; SANTOS, S.B.; MOTA, R.A. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.33, n.11, p.1309-1312, 2013.

AMIRIDIS, G.S.; CSEH, S. Assisted reproductive technologies in the reproductive management of small ruminants. Animal Reproduction Science, v.130, n.3-4, p.152-161, 2012.

ANDRABI, S.M.H.; AHMAD, N.; ABBAS, A.; ANZAR, M. Effect of two different antibiotic combinations on fertility of frozen buffalo and Sahiwal bull semen. Pakistan Veterinary Journal. v.21, n.4, p.166-169, 2001.

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.

BERNARDY, M.; MIGUEL, A.K.A.; OLIVEIRA, J.P.A.; SENEDA, M.M.; MORO, F. Exame andrológico em touros: aplicações práticas. Revista Brasileira de Buiatria, v.1, n.3, p.60-81, 2022.

BEZERRA, M.J.G.; SANTOS, A.S.; CRUZ, J.A.L.O.; KUNG, E.S.; SÁ, S.G.; JABOUR, F.F.A. BRITO, M.F.; MOTA, R.A. Epididimite ovina por *Actinobacillus seminis* no Estado de Pernambuco. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.32, n.5, p.369-373, 2012.

BLOBEL, H.; FERNANDES, J.C.T.; MIES FILHO, A.; RAMOS, A.A.; TREIN, E.J. Estudos sobre a etiologia da epididimite ovina no Rio Grande do Sul. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.7, n.5, p.1-4, 1972.

BURRELLO, N.; SALMERI, M.; PERDICHIZZI, A.; BELLANCA, S.; PETTINATO, G.; D'AGATA, R.; VICARI, E.; CALOGERO, A.E. *Candida albicans* experimental infection: effects on human sperm motility, mitochondrial membrane potential and apoptosis. Reproductive BioMedicine Online, v.18, n.4, p.496-501, 2009.

CARVALHO JÚNIOR, C.A.; XAVIER, M.N.; COSTA, L.F.; SILVEIRA, S.S.; SANT'ANNA, F.M.; BORGES, A.M.; GOUVEIA, A.M.G.; SANTOS, R.L. Agentes infecciosos que podem promover infertilidade em machos da espécie ovina. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.34, n.3, p.160-167, 2010.

CELEGHINI, E.C.C.; GREGORY, L.; PINHEIRO, E.S.; PIVA, F.M.; CARNEIRO, P.A.B.; PARAPINSKI-SANTOS, B.; BIANCHI, M.; BENESI, F.J. Orquiepididimite em carneiro por *Salmonella enterica sub-diarizonae*: primeiro caso na América do Sul. Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.65, n.1, p.139-144, 2013.

COSENTINO, I.O.; PINTO, P.H.N.; BALARO, M.F.A.; BRANDÃO, F.Z. Reprodução em pequenos ruminantes - aplicações práticas. Revista Brasileira de Buiatria, v.1, n.2, p.22-59, 2022.

- DIEMER, T.; HUWE, P.; MICHELMANN, H.W.; MAYER, F.; SCHIEFER, H.G.; WEIDNER, W. *Escherichia coli*-induced alterations of human spermatozoa. An electron microscopy analysis. *International Journal of Andrology*, v.23, n.3, p.176-186, 2000.
- FERNANDES, G.O.; LEAL, D.R.; MOREIRA, N.H.; SILVA, T.A.S.N.; RAMOS, A.F.; NEVES, J.P. Identificação de bactérias no sêmen de ovinos em diferentes sistemas de criação e o efeito do uso de Kilol<sup>®</sup>. *Ciência Animal Brasileira*, v.14, n.3, p.332-337, 2013.
- GREGORY, L.; RIZZO, H.; MEIRA JUNIOR, E.B.S.; LINS, G.J.V.; LINS, G.P.V.; PINHEIRO, E.S. Relato do primeiro caso de orquite e epididimite unilateral ovina causada por *Actinobacillus seminis* no estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.33, n.2, p.105-107, 2009.
- GREGORY, L.; RIZZO, H.; GAETA, N.C.; TORTORELLI, G.; CARDOSO, M.V.; METTIFOGO, E.; BUZINHANI M.; TIMENETSKY J.I Interference of *Mycoplasma* spp. or *Ureaplasma* spp. in ovine semen quality. *Journal of Microbiology Research*, v.2, n.5, p.118-122, 2012.
- KALSHINGI, H.A.; BOSMAN, A.M.; GOUWS, J.; VAN VUUREN, M. Molecular characterisation of *Mycoplasma* species isolated from the genital tract of Dorper sheep in South Africa. *Journal of the South African Veterinary Association*, v.8, n.86, p.1-11, 2015.
- KHALID, M.A. Comparative study of bacterial contamination in local Iraqi sheep and goats sêmen. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, v.18, n.1, p.71-78, 2024.
- MADEIRA, E.M. Eficácia da inclusão de antibióticos em diluente para criopreservação de sêmen ovino e sua influência na viabilidade espermática. 2011, 35p. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) - Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010.
- OTTER, A. Bacterial isolates from the semen of rams with suspected infertility. *The Veterinary Record*, v.162, n.19, p.623-624, 2008.
- PELLATI, D.; MYLONAKIS, I.; BERTOLONI, G.; FIORE, C.; ANDRISANI, A.; AMBROSINI, G.; ARMANINI D. Genital tract infections and fertility and infertility. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, v.140, n.1, p.3-11, 2008.
- QUINN, P.J.; CARTER, M. E.; BACT, D.; MARKEY, B.; CARTER, G.R. *Clinical Veterinary Microbiology*. 1ed. London: Wolfe, 1994. 648p.
- RIZZO, H. Estudo da ocorrência e avaliação clínica de enfermidades do trato genital de ovinos (*Ovis aries*, Linnaeus, 1758) criados no estado de São Paulo. 2011. 218p. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
- RIZZO, H.; CRUZ, J.A.L.O.; ROCHA, L.L.L.; ONO, M.S.B.; COUTINHO, L.C.A.; MOTA, R.A.; SILVA JÚNIOR, V.A. Urethral obstruction due to seminal vesiculitis in a sheep - case report. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.75, n.2, p.247-253, 2023
- SAMPAIO, I.B.M. *Estatística Aplicada à Experimentação Animal*. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 185p.
- SANTOS, S.B.; SOUZA NETO, O.L.; ALBUQUERQUE, P.P.F.; MOTA, A.R.; KIM, P.C.P.; MORAES, E.P.B.X.; NASCIMENTO, E.R.; MOTA R.A. Detection of *Mycoplasma* spp. and *Ureaplasma* spp. in semen samples from sheep in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.44, n.3, p.911-914, 2013.
- SANTOS, F.A.; AZEVEDO, E.O.; AZEVEDO, S.S.; GARINO JÚNIOR, F.; MOTA, R.A.; KIM, P.C.P.; GOMES, A.L.V.; ALVES, C.J. Isolation of *Actinobacillus seminis* from a goat with clinical epididymo-orchitis in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.45, n.1, p.205-209, 2014.
- SOUZA, A.F.; GUERRA, M.M.P.; COLETO, Z.F.; MOTA, R.A.; SILVA, L.B.G.; LEÃO, A.E.D.S.; SOBRINHO, E.S.N. Avaliação microbiológica do sêmen fresco e congelado de reprodutores caprinos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.13, n.3, p.329-336, 2006.
- STOCKLER, R.M.; STOCKLER, J.W.; SHIPLEY, C.F.; PUGH, D.G. Physical examination, handling, and restraint of sheep, goats, and cervids. In: PUGH, D.G.; BAIRD, A.N.; EDMONDSON, M.A.; PASSLER, T. *Sheep, Goat, and Cervid Medicine*. 3ed. Elsevier: Amsterdam, 2020. p.1-14.
- TVRDÁ, E.; KACÁNIOVÁ, M.; BALÁŽI, A.; VAŠÍČEK, J.; VOZAF, J.; JURČÍK, R.; DURACKA, M.; ŽIAROVSKÁ, J.; KOVÁČ, J.; CHRENEK, P. The impact of bacteriocenoses on sperm vitality, immunological and oxidative characteristics of ram ejaculates: does the breed play a role? *Animals*, v.12, n.54, p.1-22, 2022.
- YÁNIZ, J.L.; MARCO-AGUADO, M.A.; MATEOS, J.A.; SANTOLARIA, P. Bacterial contamination of ram semen, antibiotic sensitivities, and effects on sperm quality during storage at 15°C. *Animal*

Reproduction Science, v.122, n.1-2, p.142-149,  
2010.