
Semen microorganisms' prevalence in tabapuã bulls

Prevalência de microrganismos no sêmen de touros tabapuã

Received: 15-06-2024 | Accepted: 19-07-2024 | Published: 23-07-2024

Monalyse Kevelyn Borges de Oliveira

ORCID: <http://orcid.org/0009-0002-4512-6793>

University of Uberaba, Brasil

E-mail: monakevelyn@hotmail.com

Mariluce Mazetto de Araujo

ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1357-2975>

Central Uberaba, Brasil

E-mail: marilucemazetto@hotmail.com

Amanda Pifano Neto Quintal

ORCID <http://orcid.org/0000-0001-6972-1568>

Faculdade Associadas de Uberaba, Brasil

E-mail: apnquintal@yahoo.com

André Belico de Vasconcelos

ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1091-9531>

University of Uberaba, Brasil

E-mail: andre.vasconcelos@uniube.br

ABSTRACT

The study objective was to characterize the microbiological aspects of raw semen from Tabapuã bulls kept in a semen production center. Five Tabapuã bulls were used, and four ejaculates were collected using the artificial vagina method. Bacterial colonies were quantified and identified by morphotintorial analysis (Gram staining) and identification tests for bacterial isolates. Among the twenty semen samples collected, bacteria genera were identified: *Citrobacter* sp. (3.03%); *Corynebacterium* sp. (3.03%); *Enterobacter* sp. (9.09%); *Escherichia* sp. (9.09%); *Klebsiella* sp. (9.09%); *Providencia* sp. (3.03%); *Pseudomonas* sp. (12.12%); *Staphylococcus* sp. (45.46%) and *Streptococcus* sp. (6.06%). It was possible to observe and identify the microbial agents present in the semen samples.

Keywords: Microbiology; Ejaculate; Bovines; Antimicrobials

RESUMO

O objetivo do trabalho foi caracterizar os aspectos microbiológicos do sêmen *in natura* de touros da raça Tabapuã, mantidos em central de produção de sêmen. Foram utilizados cinco touros da raça Tabapuã, destes foram coletados quatro ejaculados, pelo método de vagina artificial. As colônias bacterianas foram quantificadas e identificadas por análise morfotintorial (coloração de Gram) e provas de identificação dos isolados bacterianos. Dentre as vinte amostras de sêmen coletadas, foram identificados os gêneros *Citrobacter* sp. (3,03%); *Corynebacterium* sp. (3,03%); *Enterobacter* sp. (9,09%); *Escherichia* sp. (9,09%); *Klebsiella* sp. (9,09%); *Providencia* sp. (3,03%); *Pseudomonas* sp. (12,12%); *Staphylococcus* sp. (45,46%) e *Streptococcus* sp. (6,06%). Conclui-se que foi possível observar e identificar os agentes microbianos presentes nas amostras de sêmen.

Palavras-chave: Microbiologia; Ejaculado; Bovinos; antimicrobianos

INTRODUÇÃO

A comercialização de sêmen bovino está em constante expansão, o que intensifica a produção bem como a exportação desse produto e movimenta a economia nacional. Segundo a Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA), no 1º semestre de 2021 foram comercializadas 12.071.376 doses de sêmen no mercado brasileiro, uma variação superior de 35,7% em comparação ao ano de 2020. Foram coletadas 9.450.015 doses de sêmen de touros com aptidão para corte nesse período e exportadas 149.085 destas doses. Esses dados elucidam o crescimento da produção e exportação do sêmen bovino na pecuária brasileira (INDEX ASBIA, 2021).

A avaliação andrológica é primordial para o sucesso da produção de doses de sêmen. Critérios mais rigorosos e atualizados nas avaliações macroscópicas e microscópicas do exame andrológico resultam na classificação de touros com maior potencial reprodutivo (DINIZ et al., 2021).

O aspecto sanitário também deve ser considerado dentre as avaliações andrológicas. Diversos microrganismos já foram detectados em ejaculados de touros, e a provável causa dessas contaminações está vinculada a agentes bacterianos oportunistas presentes nos equipamentos, nos diluidores e no sêmen a fresco (GOULARTE et al., 2020).

Os microrganismos frequentemente identificados em ejaculados de touros saudáveis de centrais de inseminação artificial são *Aerococcus* spp., *Enterobacter* spp., *Enterococcus* spp., *Escherichia* spp., *Leuconostoc* spp., *Staphylococcus* spp. (GOULARTE et al., 2020), *Corynebacterium* spp. (REDA et al., 2020), *Pseudomonas* spp., *Micrococcus* spp., *Proteus* spp., *Klebsiella* spp., *Anthracooid* spp., *Streptococcus* spp (MITRA et al., 2016).

Parâmetros de motilidade, vigor espermático e aspectos morfológicos normais são negativamente influenciados pela presença de contaminantes bacterianos. Portanto, protocolos sanitários devem ser implantados durante todas as etapas de manipulação do sêmen, desde a coleta, transporte, processamento e armazenamento, a fim de se evitar a contaminação desse material e a disseminação de patógenos entre os rebanhos (REDA et al., 2020).

O desenvolvimento de estudos descritivos da flora bacteriana nos ejaculados, bem como a realização periódica de testes de sensibilidade a antimicrobianos são indispensáveis para direcionar medidas corretivas e preventivas, no controle de qualidade sanitária do sêmen comercializado (GOULARTE et al., 2020).

Este trabalho objetivou determinar as características gerais e os aspectos microbiológicos de amostras de sêmen *in natura* coletadas por vagina artificial de touros Tabapuã, mantidos em Central de Coleta de Sêmen no Triângulo Mineiro, cidade de Uberaba, isolar e identificar os microrganismos presentes nas amostras e realizar o teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA) das bactérias isoladas.

METODOLOGIA

O Projeto foi submetido ao comitê de ética em experimentação Animal – Processo nº 011/2021, sendo considerado aprovado.

Foram utilizados cinco touros da raça Tabapuã, hípidos, com idade entre 3 e 8 anos, peso médio de 800 kg, escore corporal de quatro a cinco, oriundos de Central de Coleta de sêmen no Triângulo Mineiro, cidade de Uberaba, durante o segundo semestre/2021. Os animais eram mantidos em piquetes individuais com sombreamento natural e/ou artificial, cama de areia, área de pastagem, cocho e bebedouro. O fornecimento de concentrado e volumoso era realizado duas vezes ao dia e o consumo de água e suplemento mineral *ad libitum*.

Para admissão dos animais na Central, estes permaneceram isolados durante 28 dias em condição de quarentena para realização dos exames exigidos pela Instrução Normativa Nº48/2003 (BRASIL, 2003). Foi realizada a pesquisa de antígenos das enfermidades Tricomonose e Campilobacteriose por quatro repetições com intervalo de 7 dias. Também foram realizados os exames para Brucelose e Tuberculose conforme preconizados pelo Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT), Instrução Normativa Nº10/2017 (BRASIL, 2001), além da pesquisa do antígeno da Diarreia Viral Bovina (BVD). Somente foram utilizados no trabalho os animais que apresentaram resultado negativo em todos os testes, como também considerados aptos para coleta e comercialização do sêmen, desde que apresentem resultado andrológico satisfatório.

As coletas de sêmen foram realizadas em piquete sombreado na presença de fêmea no cio, a lavagem do prepúcio foi realizada com solução composta por detergente neutro 1% e solução salina, posteriormente foi feito o enxague com água corrente.

O método de eleição para obtenção dos ejaculados foi a vagina artificial, conforme protocolo da Central de Sêmen. Tanto as vaginas artificiais quanto as mucosas que as compõem eram enxaguadas em água corrente, lavadas com detergente neutro, novamente enxaguadas e permaneciam de molho por 30 minutos em solução de CB30[®] na proporção 1:3000. Posteriormente eram dispostas na secadora até a secagem completa para uso.

Foram realizadas quatro coletas de sêmen de cada animal, com intervalo entre as coletas de sete dias, com respeito ao descanso dos touros. Os ejaculados eram imediatamente encaminhados ao Laboratório da Central para análise de motilidade, vigor, concentração, pH e volume espermático. Foram utilizados no presente experimento ejaculados com volume acima de 3,0mL, concentração maior ou igual a 600×10^6 /mL, motilidade maior ou igual 30 % e vigor maior ou igual a 2, por ejaculado. Estes parâmetros foram aceitos com enfoque no perfil bacteriano das amostras, independente da qualidade de comercialização do ejaculado.

Parte do ejaculado foi mantido *in natura* para determinação da concentração espermática e pH. Posteriormente, a amostra foi diluída em diluente Tryladil[®] (1:50) para avaliação microscópica dos parâmetros de motilidade e vigor, conforme protocolo da própria central.

Para o procedimento microbiológico, com auxílio de chama em bico de Bunsen e ponteira estéril, uma alíquota de 100 μ L de sêmen *in natura* foi acondicionada em tubo plástico tipo Falcon[®] estéril contendo 5 mL de meio caldo BHI (Brain Heart Infusion). Estes tubos foram mantidos a temperatura entre 10°C e 5°C para envio ao Laboratório de Microbiologia da Universidade de Uberaba.

No Laboratório de Microbiologia da Universidade de Uberaba, os tubos de meio BHI contendo as amostras de sêmen eram acondicionados em estufa a 37°C em condições de aerobiose durante 24 horas. O material era então semeado nos meios sólidos de cultivo ágar com 5% de sangue de ovino desfibrinado (Ágar sangue), Manitol e MacConkey em capela de fluxo laminar (Veco[®]). As placas em triplicata foram mantidas em estufa

(Fanem[®]) para cultivo bacteriológico a 37°C em condições de aerobiose por um período de 48 horas.

As leituras do crescimento microbiano foram realizadas com 24h e 48h após incubação. As colônias eram avaliadas de acordo com suas características microscópicas, mediante características morfotintoriais (coloração de Gram), e provas de identificação presuntiva por meios de cultivo.

A coloração de Gram, consistiu na avaliação das colônias por meio de microscopia óptica (100X) com óleo de imersão, conforme determinado por metodologia de Hans Cristian Joaquim Gram, em 1884. A presença de coloração roxa indicou microrganismos gram positivos, enquanto bactérias de coloração rosa foram identificadas como gram negativas (MARTINS et al., 2001).

Colônias de cocos gram positivos foram submetidas a prova de catalase, para identificação de bactérias do gênero *Staphylococcus*. Este resultado positivo direcionou a uma segunda avaliação, a prova coagulase, a presença de coagulabilidade permite identificar as bactérias como *Staphylococcus* coagulase positiva. Testes negativos na avaliação catalase identificou microrganismos do gênero *Streptococcus* (BRASIL, 2013).

Colônias de bastonetes gram positivos foram submetidas aos testes de Motilidade, Ureia, TSI, Sulfeto, meio Bile esculina e ausência de hemólise, para confirmação do gênero *Corynebacterium sp.* (BRASIL, 2013).

Por fim, um conjunto de testes com meios de cultivo para identificação presuntiva dos isolados bacterianos foram aplicados para bastonetes gram negativos, para a classificação de microrganismos fermentadores de glicose (Enterobactérias) e os não fermentadores de glicose (*Pseudomonas spp / Acinetobacter spp*). As provas em análise envolveram os meios: Sulfeto, Indol, Motilidade (SIM), Ureia, TSI, Citrato de Simmons, Fenilalanina, Lisina e meio Cetrimide, de acordo com os resultados, foi possível identificar os gêneros bacterianos por meio de tabelas preconizadas pela legislação (BRASIL, 2013).

Os microrganismos isolados e identificados nos dois últimos ejaculados foram então utilizados para a realização dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos: gentamicina, estreptomomicina e penicilina. A escolha destes antibióticos foi vinculada ao uso rotineiro nas Centrais de coleta de sêmen (BRASIL, 2005).

Os dados obtidos da avaliação prévia dos ejaculados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) ($p > 0,05$). Os dados microbiológicos foram submetidos a análise estatística descritiva, com a apresentação na forma de tabelas e gráficos de frequências.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Da coleta dos 20 ejaculados, todos foram mantidos *in natura* para determinação do volume, concentração espermática e pH. Posteriormente, a amostra foi diluída em diluente Tryladil®(1:50) para avaliação microscópica dos parâmetros de motilidade e vigor espermático, a média aritmética e desvio padrão dos dados obtidos estão descritos abaixo na Tabela 1.

Tabela 1: Aspectos macroscópicos e microscópicos de amostras do sêmen *in natura* coletadas por vagina artificial de touros Tabapuã adultos, doadores de sêmen, mantidos em Central de Coleta de Sêmen no Triângulo Mineiro, cidade de Uberaba-MG.

Animais	Parâmetros Avaliados				
	Volume (mL)	Concentração espermática/mL ($\times 10^6$)	Motilidade espermática (%)	Vigor (0 a 5)	pH
Touro 1	6,25 ± 3,4	1330 ± 461,65 ^a	38,75±22,5 ^a	2,5 ± 1	6,3 ± 0,6
Touro 2	5,33 ± 1,4	1898 ± 1030,5 ^a	47,5±11,9 ^a	3 ± 0	6 ± 0
Touro 3	5,63 ± 1,2	576,75 ± 418,65 ^b	19±22,2 ^b	1,75 ± 0,95	6,7 ± 0,3
Touro 4	4,90 ± 1,7	1067,25±448,26 ^a	46,25±6,3 ^a	3 ± 0	6,2 ± 0,3
Touro 5	4,65 ± 0,2	814,5± 467,87 ^a	40±21,6 ^a	2,75 ± 0,5	6,5 ± 0,5

ANOVA $p > 0,05$ para todos os parâmetros avaliados (Média e desvio padrão dos ejaculados)

De acordo com o Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal, 2013), ejaculados com enfoque na comercialização, precisam apresentar motilidade maior que 50% e vigor acima de 3, os ejaculados coletados nesse estudo apresentaram resultados divergentes ao padrão comercial.

Para a determinação do perfil microbiano do sêmen bovino da raça Tabapuã, uma vez que o recorte experimental (metodologia) aportava (Volume $> 3,0$ mL; Motilidade \geq a 30%, Vigor \geq a 2 e Concentração $\geq 600 \times 10^6$ /mL), somente o Touro 3 apresentou resultados abaixo do estabelecido experimentalmente (tabela 1), contudo foi mantido na

avaliação dos parâmetros microbiológicos estabelecidos no experimento, uma vez que os resultados andrológicos apresentados podem ter relação ao método eletivo de coleta do ejaculado e o animal não está condicionado a tal metodologia.

Após a identificação dos isolados bacterianos, entre as 20 amostras de sêmen coletadas, 14 apresentaram crescimento bacteriano duplo, 5 amostras apresentaram crescimento bacteriano único e 1 amostra não apresentou crescimento bacteriano, conforme Tabela 2.

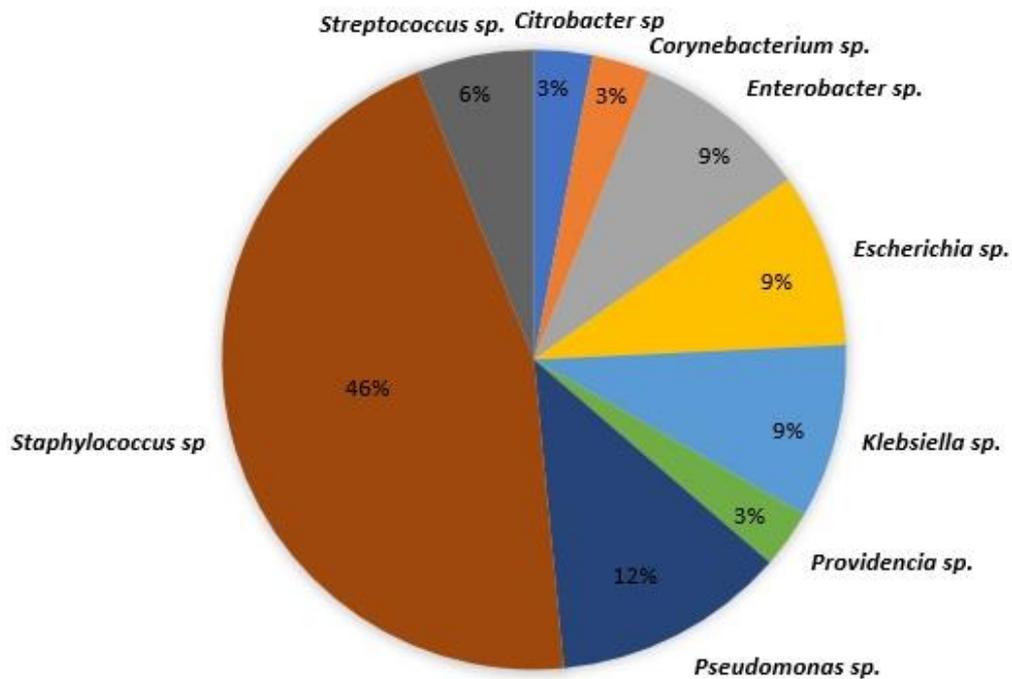
Tabela 2: Descrição dos agentes microbianos isolados e identificados nas amostras do sêmen *in natura* coletadas por vagina artificial de touros Tabapuã adultos, doadores de sêmen, mantidos em Central de Coleta de Sêmen no Triângulo Mineiro, cidade de Uberaba-MG.

	Coleta 1	Coleta 2	Coleta 3	Coleta 4
Touro 1	<i>Staphylococcus</i> sp	<i>Staphylococcus</i> sp	<i>Staphylococcus</i> sp	<i>Streptococcus</i> sp
	<i>Pseudomonas</i> sp	<i>Klebsiella</i> sp	<i>Citrobacter</i> sp	NHC
Touro 2	<i>Staphylococcus</i> sp	<i>Staphylococcus</i> sp	<i>Staphylococcus</i> sp	NHC
	<i>Escherichia</i> sp	<i>Pseudomonas</i> sp	<i>Enterobacter</i> sp	<i>Providencia</i> sp
Touro 3	<i>Streptococcus</i> sp	<i>Staphylococcus</i> sp	<i>Staphylococcus</i> sp	<i>Staphylococcus</i> sp
	<i>Klebsiella</i> sp	<i>Klebsiella</i> sp	<i>Escherichia</i> sp	<i>Pseudomonas</i> sp.
Touro 4	<i>Staphylococcus</i> sp	<i>Staphylococcus</i> sp	<i>Corinebacterium</i> sp	NHC
	NHC	<i>Escherichia</i> sp	NHC	NHC
Touro 5	<i>Staphylococcus</i> sp	<i>Staphylococcus</i> sp	<i>Staphylococcus</i> sp	<i>Staphylococcus</i> sp
	<i>Pseudomonas</i> sp	<i>Enterobacter</i> sp	<i>Enterobacter</i> sp	NHC

Abreviações: NHC: Não houve crescimento bacteriano.

Dos 20 ejaculados coletados, 33 microrganismos de 9 gêneros distintos foram isolados e identificados. Trata-se dos gêneros *Citrobacter* sp. (3,03%); *Corynebacterium* sp. (3,03%); *Enterobacter* sp. (9,09%); *Escherichia* sp. (9,09%); *Klebsiella* sp. (9,09%); *Providencia* sp. (3,03%); *Pseudomonas* sp. (12,12%); *Staphylococcus* sp. (45,46%) e *Streptococcus* sp. (6,06%), conforme Figura 1.

Figura 1: Perfil microbiológico de amostras de sêmen *in natura* coletadas por vagina artificial de touros Tabapuã adultos, doadores de sêmen, mantidos em Central de Coleta de Sêmen no Triângulo Mineiro, cidade de Uberaba-MG.



De acordo com a OIE (2010) não há definição do limite máximo aceitável de Unidades Formadoras de Colônias por mL de sêmen coletado, porém, orienta quanto às boas práticas de higiene nos centros de coleta e tratamento de sêmen, a fim de controlar a microbiota do trato reprodutivo masculino e a transmissão de doenças para as fêmeas. A Organização Mundial de Saúde Animal determina os espaços das instalações, manejo dos animais, procedimentos e manipulação do ejaculado no laboratório de processamento do sêmen, além dos cuidados de higiene necessários aos touros das centrais antes da coleta do material.

Um estudo desenvolvido por Goularte et al. (2020) utilizou ejaculados de touros da região sudeste do Brasil, a fim de descrever os microrganismos presentes nas etapas de processamento do sêmen. Eles avaliaram as vaginas artificiais, sêmen a fresco, diluidores, a gema de ovo, o sêmen resfriado, os tubos flexíveis de preenchimento das palhetas e o sêmen envasado. Muitos dos gêneros dos microrganismos identificados pelos

pesquisadores condizem com os isolados durante este estudo. Entre eles destacam-se, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Leuconostoc*, *Sphigomonas* e *Staphylococcus* em amostras coletadas da vagina artificial. Ao avaliarem o sêmen a fresco, os mesmos microrganismos foram detectados, com exceção do microrganismo do gênero *Sphigomonas*, e identificação do gênero *Aerococcus*. Vale ressaltar que o método de vagina artificial também foi utilizado no presente trabalho, e a prevalência de 46% do gênero *Staphylococcus* sugere a influência direta do método de coleta por vagina artificial no grau de contaminação dos ejaculados examinados.

Dentre os estudos de sêmen na veterinária, principalmente entre grandes animais, foi desenvolvido um estudo por Al-Kass et al. (2019) que avaliou 25.512 amostras de sêmen de 2.308 equinos, no período de 10 anos. O microrganismo *Taylorella equigenitalis* foi detectado, bem como os patógenos *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus* beta hemolíticos e *Pseudomonas aeruginosa*. Estes três últimos gêneros de bactérias foram também identificados no presente estudo, apesar de demonstrarem baixo percentual entre as amostras analisadas, prevalência de 9%, 6% e 12%, respectivamente.

Entre os animais de produção, há estudos que avaliaram a diversidade de bactérias seminais de suínos, por meio de sequenciamento genômico, os autores revelaram uma prevalência dos gêneros *Pseudomonas* (34,41%) e *Lactobacillus* (19,93%) entre as 120 amostras testadas (ZHANG et al. 2020). O perfil traçado no presente trabalho evidenciou a prevalência de apenas 12% do gênero *Pseudomonas*, e não foram identificados microrganismos do gênero *Lactobacillus*.

Uma avaliação microbiológica de palhetas de sêmen congelado de touros foi realizada em centrais de sêmen na Índia por Mitra et al. (2016), neste trabalho foi observado que o perfil bacteriano é semelhante ao detectado no presente estudo. Uma vez que foram identificadas as bactérias *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., *Corynebacterium* spp., *Proteus* spp., *Klebsiella* spp., *Bacillus* spp. e *Streptococcus* spp.

Deve-se ressaltar que a presença destes contaminantes após o congelamento do sêmen é preocupante, e permite discussão a respeito da qualidade e eficiência dos antibióticos utilizados nos diluentes do sêmen para o congelamento deste material. Diante disso, o presente estudo avaliou a sensibilidade microbiana frente a antibióticos comumente utilizados nas centrais de sêmen bovino.

Todos os gêneros isolados e identificados durante o experimento foram utilizados para a realização dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos, com exceção do gênero *Klebsiella sp.* por apresentar reduzido crescimento nas placas de cultivo. Os agentes microbianos foram classificados como sensíveis, intermediários e resistentes aos antibióticos testados (Tabela 3).

Tabela 3: Perfil de resistência antimicrobiana dos isolados nas amostras de sêmen *in natura* coletadas por vagina artificial de touros Tabapuã adultos, doadores de sêmen, mantidos em Central de Coleta de Sêmen no Triângulo Mineiro, cidade de Uberaba - MG.

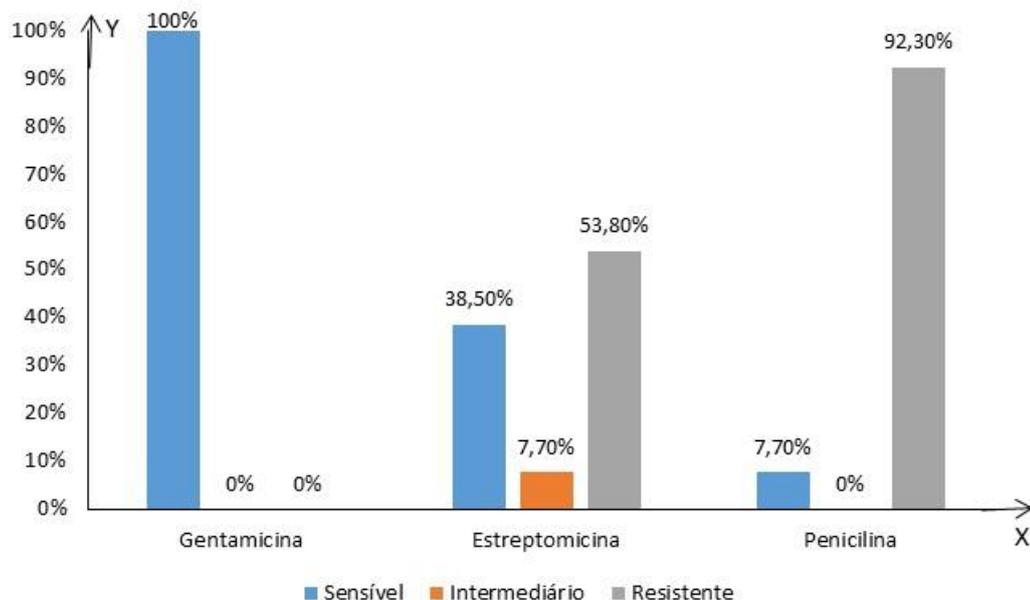
Bactérias isoladas	Antibióticos		
	Gentamicina (10µg)	Estreptomicina (10µg)	Penicilina (10µg)
<i>Citrobacter sp.</i>	(S)	(R)	(R)
<i>Corynebacterium sp.</i>	(S)	(S)	(R)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	(S)	(R)	(R)
<i>Enterobacter agglomerans</i>	(S)	(S)	(R)
<i>Escherichia coli</i>	(S)	(I)	(R)
<i>Providencia rettgeri</i>	(S)	(S)	(R)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(S)	(R)	(R)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	(S)	(R)	(R)
<i>Staphylococcus sp.</i>	(S)	(R)	(R)
<i>Staphylococcus sp.</i>	(S)	(S)	(R)
<i>Staphylococcus sp.</i>	(S)	(R)	(R)
<i>Staphylococcus sp.</i>	(S)	(R)	(R)
<i>Streptococcus sp.</i>	(S)	(S)	(S)

Abreviações: S: Sensível; I: Intermediário; R: Resistente.

Dentre os 13 microrganismos avaliados, foi apresentada uma efetividade de 100% entre as amostras testadas ao antibiótico gentamicina. O antibiótico estreptomicina apresentou 53,8% de microrganismos resistentes, 38,5% de microrganismos sensíveis e 7,7% de microrganismos com efeito intermediário ao antibiótico estudado.

Com relação ao antibiótico penicilina, 92,3% dos microrganismos testados apresentaram resistência ao antibiótico, com apenas 7,7% dos microrganismos sensíveis ao fármaco em questão, observe a Figura 2.

Figura 2: Perfil de resistência antimicrobiana dos isolados nas amostras de sêmen *in natura* coletadas por vagina artificial de touros Tabapuã adultos, doadores de sêmen, mantidos em Central de Coleta de Sêmen no Triângulo Mineiro, cidade de Uberaba - MG.



No estudo desenvolvido por Goularte et al. (2020) das 174 amostras de sêmen cultivadas, 135 microrganismos foram identificados como pertencentes a 25 gêneros diversos. Entre estes gêneros, 22 foram submetidos ao teste de sensibilidade antimicrobiana, o que correspondeu a 55 microrganismos. Todos os microrganismos foram resistentes ao antibiótico penicilina (100%), para o antibiótico gentamicina, as bactérias apresentaram sensibilidade de 76,4% e para o antibiótico estreptomicina, uma sensibilidade de 7,3% entre os microrganismos testados. Kilburn et al. (2013) também observaram resultados positivos com o uso do antibiótico gentamicina entre amostras de sêmen *in natura*. Ambos os trabalhos corroboram com os dados obtidos no presente estudo.

CONCLUSÃO

Dentre as amostras avaliadas, foi possível identificar nove gêneros de microrganismos, foram em maioria sensíveis ao antibiótico gentamicina, eficiência de 100%. Já para o

antibiótico penicilina, 92,3% dos microrganismos foram resistentes, o que evidenciou a ineficiência desse antibiótico no controle microbiano dos ejaculados.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001; Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

REFERÊNCIAS

AL-KASS, Z. et al. Bacteria Detected in the Genital Tract, Semen or Pre-Ejaculatory Fluid of Swedish Stallions from 2007 to 2017. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.61, n.1, p.4-9, 2019.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Deteção e Identificação de Bactérias de Importância Médica Módulo V**. Brasília, DF, 2013. 93p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Normas de Desempenho Para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana. 15º Suplemento Informativo**. Brasília, DF, v.25, 2005, 177p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - BINAGRI - SISLEGIS. **Instrução Normativa 48/2003**. Brasília, DF, 2003, 4p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - **Instrução Normativa 10/2017**. Brasília, DF, 2001, 4p.

DINIZ, J.H.W. et al. The Importance of Updated Criteria in Breeding Soundness Examination of Commercial Nellore Bulls for the Herd Reproductive Improvement. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 73, n. 2, p. 285-292, 2021.

GOULARTE, K.L. et al. Antibiotic Resistance in Microorganisms Isolated in a Bull Semen Stud. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 55, n. 3, p. 318-324, 2020.

INDEX ASBIA / Associação Brasileira de Inseminação Artificial, 1º Semestre / 2021, Universidade de São Paulo: ASBIA, 2021. Disponível em: <www.asbia.org.br>. Acesso em 29 ago. 2021.

KILBURN, C. et al. Antimicrobial Resistance in Some Gram-Negative Bacteria Isolated from the Bovine Ejaculate. **Reproduction in Domestic Animals**, v.48, n.3, p.525-528, 2013.

Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal / Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 3ª ed., Belo Horizonte: CBRA 2013. Disponível em: <www.cbra.org.br> Acesso em 01 out. 2021.

MITRA, J. et al. Microbiological Evaluation of Bovine Frozen Semen Samples in West Bengal, India. **Exploratory Animal and Medical Research**, v.6, n.2, p.185-191, 2016.

MARTINS, C.R.F. et al. Ministério da Saúde. **Técnica de Coloração de GRAM**. Brasília, DF, 2001, 67p.

OIE. **Word organization for animal health.** Terrestrial Animal Health Code. 13^a ed., Paris: OIE 2010. Disponível em: <<https://www.oie.int/>>. Acesso em 29 dez. 2021

REDA, A.A. et al. Bacteriospermia and Sperm Quality of Cryopreserved Bull Semen Used in Artificial Insemination of Cows in South Wollo Zone, Ethiopia. **Veterinary Medicine International**, p.1-11, 2020.

ZHANG, J. et al. Genomic Sequencing Reveals the Diversity of Seminal Bacteria and Relationships to Reproductive Potential in Boar Sperm. **Frontiers in Microbiology**, v.11, p.1-16, 2020.