

Supervivencia observada en tres familias de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) infectadas con *Streptococcus agalactiae*

C. O. Sánchez Roncancio^{1*} , R. T. Fonseca de Freitas² 

Recibido: 15/06/2021. Aprobado: 02/01/2022

RESUMEN

La estreptococosis es una de las principales enfermedades en los peces de agua dulce que causa altas tasas de mortalidad. El objetivo de este estudio fue evaluar la respuesta en la supervivencia a la infección por *Streptococcus agalactiae* en tres familias de tilapia. El experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de Enfermedades de los Peces de la Universidad Federal de Lavras. Se utilizaron peces con un peso de $93,7 \pm 5,4$ g de tres familias diferentes (FA, FB y FC). Se utilizaron 36 peces en cada unidad experimental, inoculados intraperitonealmente con 10^7 UFC/mL de *Streptococcus agalactiae* por peces y un grupo control por familia con 9 peces con 1 mL de caldo BHI (Infusión Cerebro Corazón) evaluados durante 15 días. No hubo mortalidad del grupo control. Se observó la presencia de exoftalmia, coloración oscura en todo el cuerpo, letargo y dilatación abdominal antes de la muerte en las tres familias evaluadas expuestas al patógeno. El estimador no paramétrico de Kaplan-Meier se utilizó para observar las curvas de supervivencia. Durante los 15 días del desafío, el tiempo promedio de supervivencia de un individuo en las familias FA, FB y FC fue de 9,4; 6,90 y 8,14 días, respectivamente. Pruebas de *Log-rank* y *Peto & Peto* para evaluar la diferencia entre las curvas de supervivencia arrojaron que no hubo diferencias significativas entre las familias evaluadas ($P=0,08$ y $P= 0,09$), respectivamente.

Palabras clave: estreptococosis, *Streptococcus agalactiae*, *Oreochromis niloticus*, tilapia, Kaplan-Meier.

Survival observed in three families of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) infected with *Streptococcus agalactiae*

ABSTRACT

Streptococcosis is one of the main diseases in freshwater fish that causes high mortality rates. The objective of this study was to evaluate the survival response to *Streptococcus agalactiae* infection in three families of tilapia. The experiment was carried out at the Laboratory of Fish Diseases of the Federal University of Lavras. Fish weighing 93.7

¹ Universidade Federal de Lavras (UFLA), Departamento de Zootecnia, Campus Universitário. Caixa Postal 3037–CEP: 37.200-000 Lavras, Minas Gerais, Brasil. Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Producción Animal-Docente ocasional, Bogotá, Colombia.

² Professor titular do departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Campus Universitário. Caixa Postal 3037– CEP: 37.200-000 Lavras, Minas Gerais, Brasil.

* Correo electrónico: cosanchezr@unal.edu.co

± 5.4 g from three different families (FA, FB, and FC) were used. 36 fish were used in each experimental unit, intraperitoneally inoculated with 107 CFU/mL of *Streptococcus agalactiae* per fish and a control group per family with 9 fish with 1 mL of BHI broth (Brain Heart Infusion) evaluated for 15 days. There was no mortality in the control group. The three evaluated families exposed to the pathogen observed the presence of exophthalmia, dark coloration throughout the body, lethargy, and abdominal dilation before death. The Kaplan-Meier nonparametric estimator was used to observe the survival curves. During the 15 days of the challenge, the average survival time of an individual in the FA, FB, and FC families was 9.4, 6.90, and 8.14 days, respectively. Log-rank and Peto & Peto test to evaluate the difference between the survival curves showed no significant differences between the assessed families ($P=0.08$ and $P=0.09$), respectively.

Keywords: streptococcus, *Streptococcus agalactiae*, *Oreochromis niloticus*, tilapia, Kaplan-Meier.

INTRODUCCIÓN

La aparición de brotes de enfermedades infecciosas ha demostrado ser una de las principales limitaciones para la piscicultura intensiva. La estreptococosis es una enfermedad bacteriana causada por *Streptococcus agalactiae* responsable de las altas tasas de morbilidad y mortalidad de muchas especies de peces de agua dulce, marinos y estuarinos, y se caracteriza por septicemia y meningoencefalitis (Evans *et al.* 2002; Mian *et al.* 2009). Los efectos ambientales, sociales y económicos de los brotes de enfermedades en la acuicultura son muchos y pueden ser muy importantes (FAO 2020). En 2017, la tilapia fue uno de los 10 principales grupos de especies acuícolas (clasificada en el cuarto lugar) en términos de cantidad y valor de producción (Cai *et al.* 2019).

La tilapia *Oreochromis niloticus* es la más afectada por enfermedades producidas por *Streptococcus agalactiae*, lo que resulta en una alta mortalidad que puede alcanzar entre 30% y 90% al año, asociada con grandes pérdidas económicas para la industria de la acuicultura anualmente (Li *et al.* 2015). En los cultivos de tilapia, se ha observado un aumento en el número de

casos informados durante la última década, como consecuencia de la intensificación de la producción (Mian *et al.* 2009).

En condiciones naturales, la interacción pez-patógeno habitualmente no es causa de enfermedad; sin embargo, en los sistemas intensivos de producción y según las condiciones de manejo, los agentes etiológicos se exacerbaban y producen cuadros clínicos asociados a pérdidas económicas (Fu *et al.* 2014). Los principales factores de riesgo para la aparición de brotes de estreptococosis son el aumento de la temperatura del agua (por encima de 27 °C), el manejo intensivo, las altas densidades de población, la interacción con los individuos y las altas concentraciones de amoníaco y nitrito (Evans *et al.* 2002; Mian *et al.* 2009; Yannog y Francis-Floid 2013). La presentación clínica de estreptococosis en la forma clásica de la enfermedad es atípica y puede ocurrir de manera concomitante en las fincas (Leal y Figueredo 2018). La tilapia puede infectarse debido a varias razones, incluido el estrés como factor predisponente (Liao *et al.* 2020).

Los métodos para controlar la enfermedad son la vacunación como medida preventiva y el uso de tratamientos con

antibióticos, lo que conlleva el aumento de los costos de la producción. Otra alternativa es la selección genética de peces resistentes a la enfermedad. Es posible que los genes de resistencia y tolerancia estén asociados con los principales factores de la respuesta inmune (Glass 2012). Se puede utilizar la información presente en los candidatos seleccionados o en padres cercanos, especialmente en el caso de enfermedades (Yáñez *et al.* 2014). Varios estudios en diferentes especies acuícolas han demostrado que la resistencia a enfermedades tiene una moderada heredabilidad (h^2) en condiciones de desafío a patógenos bacterianos y virales varían entre 0,03 a 0,60 (Ødegård *et al.* 2011). La variación genética aditiva de *Streptococcus sp.* en tilapia cultivada se determinó con una h^2 del $0,42 \pm 0,07$ para *S. iniae* y $0,58 \pm 0,09$ para *S. agalactiae* (Lafrentz *et al.* 2016) y $0,38 \pm 0,11$ en la selección para *S. agalactiae* (Shoemaker *et al.* 2016). Mediante el uso de diferentes modelos de estimación en el desarrollo de líneas resistentes de tilapia del Nilo a *S. agalactiae* se han encontrado h^2 que oscilan entre $0,15 \pm 0,03$ y $0,26 \pm 0,05$ (Joshi *et al.* 2021). El desarrollo de individuos resistentes representa una estrategia sostenible a largo plazo para controlar esta enfermedad.

Se deben considerar diferentes variables al elegir mejorar la resistencia, como la supervivencia. La metodología de Kaplan-Meier (Kaplan y Meier 1958) permite el análisis de las respuestas de supervivencia, definidas como la probabilidad de que un individuo sobreviva en un periodo de tiempo dado frente a un desafío o tratamiento considerando el tiempo en muchos intervalos pequeños; cuando algunos de los sujetos pueden no experimentar el evento o la muerte antes del final del estudio, se conoce como observaciones censuradas (Goel *et al.* 2010). Analizar

la supervivencia y estimar el tiempo que los animales sobreviven bajo condiciones de enfermedad son buenos estimadores, en contraste con la comparación de los porcentajes de individuos que desarrollan el evento (Goel *et al.* 2010). La selección indirecta de candidatos permite la selección de peces más resistentes dentro de la familia.

Comprender el panorama en relación con la sanidad de los peces y programar una estrategia para seleccionar genes resistentes a una enfermedad determinada reducirá sustancialmente la probabilidad de epidemias porque se observa que, incluso en casos de brotes causados por diferentes bacterias, hay algunos animales que no muestran síntomas de enfermedad y sobreviven. El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta en la supervivencia a la infección por *Streptococcus agalactiae* en tres familias de tilapia.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de Enfermedades de los Peces de la Universidad Federal de Lavras (UFLA) en Brasil. Se utilizaron 135 peces con un peso de $93,7 \pm 54$ g. Se utilizaron 45 peces para cada una de las tres familias (FA, FB y FC), provenientes del plantel de piscicultura de la UFLA, distribuidos aleatoriamente en cada unidad experimental (cuatro réplicas + grupo de control), en acuarios de vidrio de 57 litros con flujo continuo de agua. Los parámetros de calidad del agua fueron monitoreados al principio y al final de cada día, temperatura promedio de 26°C , pH ($7,3 \pm 0,8$) y concentración de oxígeno disuelto ($\text{OD} = 6 \text{ mg/L} \pm 1$), alimentados dos veces al día con alimento comercial extruido (30% PC), en la proporción de 2% de peso vivo.

Comité de ética

El experimento se realizó de acuerdo con el Comité de Ética sobre el Uso de Animales (CEUA) de la Universidade Federal de Lavras (UFLA), protocolo 017/13.

Para el estudio, se utilizó un aislado patogénico de *Streptococcus agalactiae* obtenido de un brote de estreptococosis en tilapia del Nilo en el estado de Minas Gerais, Brasil, perteneciente al banco bacteriano del Laboratorio de Bacteriología del Departamento de Medicina Veterinaria de la UFLA. La muestra utilizada fue previamente identificada en términos fenotípicos y genotípicos mediante pruebas bioquímicas y posteriormente mediante PCR especie-específico para *S. agalactiae* (Berridge *et al.* 2001). El aislado bacteriano fue almacenado en un congelador a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, se descongeló y se sembró en agar tripticasa de soya suplementado con sangre equina al 5% (TSA sangre) a $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 h. Transcurrido este tiempo, se inocularon en caldo BHI (Infusión Cerebro Corazón) durante 18h a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta alcanzar una densidad óptica de 0,1 a 600 nm, equivalente a una carga bacteriana de 10^7 UFC/mL.

Los peces se aclimataron por 10 días, después de lo cual se suspendió la alimentación durante un día. Durante el experimento de inoculación, los peces fueron anestesiados por inmersión con benzocaína con una dosis de 100 mg / L. Posteriormente, cada pez fue inoculado por vía intraperitoneal (IP) con (10^7 UFC/mL) de *Streptococcus agalactiae*. El grupo control negativo fue solo inoculado vía IP con 1 mL de caldo BHI. Luego de esto, la temperatura del agua de los acuarios se elevó de los $26\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ y fueron monitoreados durante 15 días. Los peces que morían en cada acuario fueron contados y sometidos a exámenes bacteriológicos de riñón y cerebro.

Para visualizar las curvas de supervivencia, se realizó un Kaplan-Meier y las pruebas de *Log-rank* y *Peto & Peto* para comparar los resultados de supervivencia entre grupos de familias de tilapia desafiadas con *Streptococcus agalactiae* con un $\alpha = 0,05$. Los análisis se realizaron con el software RStudio 3.2.3.

RESULTADOS

Durante el experimento, no hubo mortalidad en los grupos de control de las tres familias. Por tanto, se evaluaron 36 peces por familia, excluyendo el grupo de control de estos análisis. En los peces inoculados, independientemente del día de muerte, se obtuvo crecimiento de *S. agalactiae* en todas las placas en las que se sembraron muestras de riñón y cerebro, lo que resultó en una eficiente inoculación de todas las familias evaluadas. Los peces que murieron 24 h después de la inoculación mostraron un comportamiento similar en las tres familias con natación errática, lenta y balanceo lateral del cuerpo y no mostraron signos clínicos de la enfermedad antes de la muerte. Después de 48 h del desafío, se observó la presencia de exoftalmos, coloración oscura en toda el cuerpo, letargo y dilatación abdominal antes de la muerte en varios peces de las tres familias evaluadas. En la necropsia, se confirmó la presencia de *S. agalactiae* en los peces inoculados. Se presentó mortalidad del 2,8%, 25% y 8,3% para las familias FA, FB y FC, respectivamente a las 24 horas de iniciado el desafío. Sin embargo, en el último día del estudio se presentaron valores del 78%, 91% y 75% como promedio acumulado de mortalidad para las familias FA, FB y FC, respectivamente.

Se observa en la tabla 1 que la variable “sin censura” es la cantidad de peces

muertos durante el desafío por familia. Los peces censurados fueron los que sobrevivieron al desafío, siendo inferiores en FB. Durante los 15 días del desafío, el tiempo promedio de supervivencia de un individuo en las familias FA, FB y FC fue de 9,4, 6,90 y 8,14 días, respectivamente. La mediana de supervivencia que se estimó con el percentil 50 de la distribución en las familias FA, FB y FC fue de 9, 8 y 7 días, respectivamente.

La tabla 2 muestra dos pruebas no paramétricas para la comparación de las curvas de supervivencia *Log-rank* propuesta por Mantel-Haenszel y la *Peto & Peto*, en la que se evidencia que no hubo diferencia significativa entre las familias ($p > 0,05$).

Las funciones de supervivencia estimadas de Kaplan-Meier (figura 1) no fueron estadísticamente significativas entre las curvas de supervivencia de las tres familias evaluadas ($p > 0,05$), la estimación de las curvas solo cambió en momentos en que ocurría un evento, siendo más pronunciados a medida que se censuraron más peces, *number risk* indica que después de 10 días de desafío quedan en riesgo de evento 14,5 y 12 individuos de la FA, FB y FC, respectivamente. En el tiempo cero, la probabilidad de supervivencia es 1,0 (100% vivos) para las tres familias, en el día 1, la mayor caída fue observada en la familia FB, llegando al 0,75 (75%) y muy leve en la familia FA 0,97 (97%); en

TABLA 1. Supervivencia promedio de la tilapia del Nilo hasta el día 15 después de la inoculación de *Streptococcus agalactiae*, con el número de peces censurados y sin censura por familia

Familias	N.º	Supervivencia %	Mediana	Censurados**	No censurados**
FA	36	9,40	9	8	28
FB	36	6,90	8	3	33
FC	36	8,14	7	9	27

*Peces sobrevivientes al desafío.

**Peces muertos por familia.

Fuente: elaboración propia.

TABLA 2. Pruebas no paramétricas de *Log-rank* y *Peto & Peto* utilizadas para comparar curvas de supervivencia de diferentes familias

Familias	N.º	Observado	Esperado	(O-E)²/E	(O-E)²/V
FA	36	28	34,3	1,14	2,17
FB	36	33	24,4	2,99	4,90
FC	36	27	29,3	0,18	0,31
Log-rank : Chisq= 5,1 on 2 degrees of freedom, $p= 0,08$					
Familias	N.º	Observado	Esperado	(O-E)²/E	(O-E)²/V
FA	36	15,4	21	1,450	3,71
FB	36	21,6	16,4	1,663	3,63
FC	36	18,1	17,8	0,005	0,01
Peto & Peto : Chisq= 4,9 on 2 degrees of freedom, $p= 0,09$					

Fuente: elaboración propia.

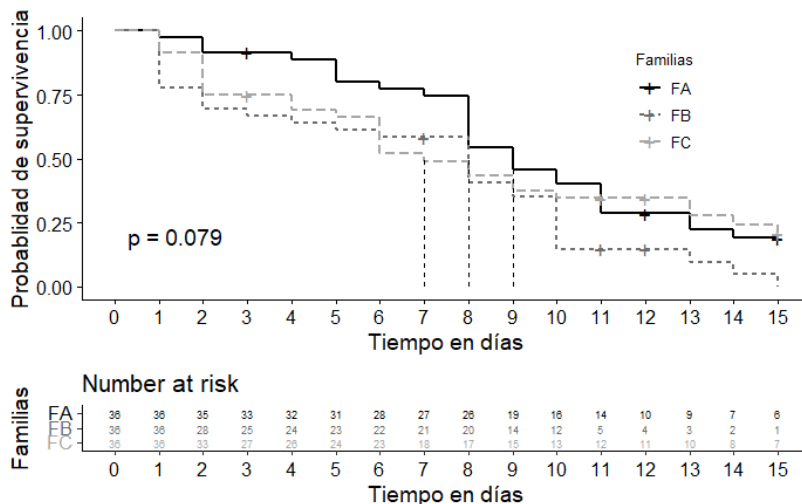


FIGURA 1. Función de distribución de supervivencia de Kaplan-Meier por familias durante el desafío de 15 días.

Fuente: elaboración propia.

el día 6, la probabilidad de supervivencia es aproximadamente 0,78 (78%) para la familia FA, 0,61 (61%) para la familia FB y 0,52 (52%) para la familia FC; al final del desafío (día 15), la probabilidad de supervivencia es del 0,08% de la familia FB y del 22% y 25% de las familias FA y FC, respectivamente.

En la evaluación de frecuencias (figura 2), es posible observar las distribuciones de cada familia según cada grupo de barras en el histograma, en los días 8, 1 y 2 hubo una mayor incidencia de mortalidad para las familias FA, FB y FC, respectivamente.

DISCUSIÓN

Gjedrem (2015) reporta que la selección en los programas de mejoramiento genético reduce con éxito la mortalidad, con una ganancia genética bastante baja en la supervivencia de (5%-8,4%) por generación en diferentes especies, siendo del 5% en

Oreochromis spp. Joshi *et al.* (2021) observan en 35 días de desafío con *S. agalactiae* una mortalidad promedio del 60,2 % y osciló entre 49,5% y el 67% en todas las líneas de tilapia del Nilo. Joshi *et al.* (2020) encuentran que el porcentaje de mortalidad para tilapias del Nilo desafiadas a *S. agalactiae* vía IP en líneas seleccionadas y normales es del 28,67% y 49,67%, respectivamente, y el Kaplan-Meier arroja significancias estadísticas, entre ellas $P < 0,0001$. En el presente estudio, la mortalidad promedio es del 81,3% con 15 días de desafío, y el gráfico de supervivencia de Kaplan-Meier no revela diferencias significativas entre las tres familias FA, FB, FC ($P > 0,05$). Fagundes *et al.* (2016) evalúa la supervivencia en tilapias del Nilo con pesos de $(100 \pm 10 \text{ g})$ las cuales fueron inoculadas con suero inactivado y suero activado que contenía anticuerpos anti *Streptococcus agalactiae* y, luego de 48 horas de desafío, con LD50 ($1 \times 10^8 \text{ UFC/mL}$) de *S. agalactiae*; en la evaluación de

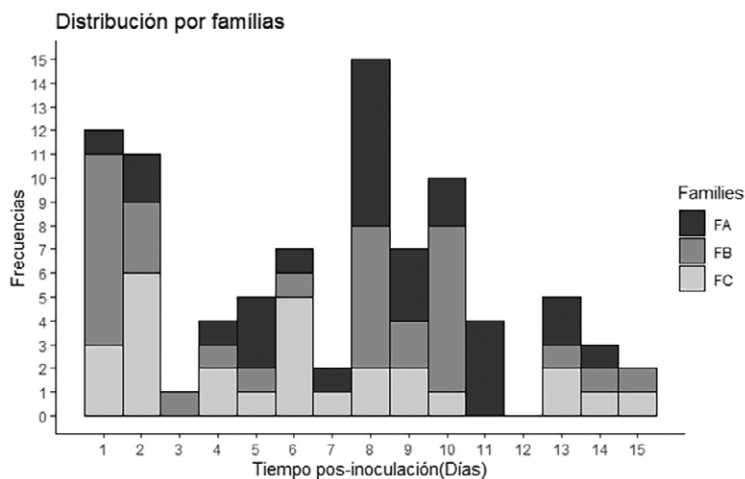


FIGURA 2. Frecuencias de mortalidad de peces después de la exposición a *Streptococcus agalactiae*. Fuente: elaboración propia.

supervivencia, el grupo control muestra una tasa de supervivencia del 0%.

Anshary *et al.* (2014) observan una supervivencia promedio de 1,83 días en el análisis de supervivencia de Kaplan-Meier en tilapia del Nilo infectada con 10^7 UFC de *S. agalactiae*. En comparación con esta investigación, en los resultados obtenidos en este estudio se encuentra un mayor valor de supervivencia, con 9,4, 6,9 y 8,14 días para las familias FA, FB y FC, respectivamente. Sukhavachana *et al.* (2019) encuentran después de 14 días de inoculación por vía intraperitoneal (1×10^9 UFC/mL) de *S. agalactiae* en tilapia roja (*Oreochromis spp.*) en las 128 familias de las generaciones base (G0) evaluadas una tasa de supervivencia del 15% y 19 % para los lotes 1 y 2, respectivamente.

Delannoy *et al.* (2014), tras inocular, vía intraperitoneal, diferentes dosis (102, 105 e 107 UFC/mL) de la cepa S 60 de *S. agalactiae* en tilapia, encuentran, por la metodología de Kaplan-Meier, con la

dosis de 107 UFC, en el día 5 después de la inoculación, una mortalidad del 100%. Se observa que en las tres familias evaluadas no se presentó mortalidad del 100 % a los 15 días de la posinoculación en peces llamados censurados.

Abuseliana *et al.* (2011) evalúan diferentes dosis de *S. agalactiae* en juveniles de tilapia roja infectadas por vía intraperitoneal (IP), e identifican que la dosis (3×10^7 CFU / ml) presenta en el día 5 después de la infección un 80% de mortalidad (16/20) y el día con mayor mortalidad es el día 2 (7 peces), siendo el más letal. Suebsong *et al.* (2019) inocularon por vía intraperitoneal 30 peces por familia con *S. agalactiae* con una dosis (1×10^7 UFC / ml), después de 14 días de desafío observan una supervivencia promedio de 9,9% y 18,7% para los lotes 1 y 2, respectivamente. Según la metodología de Kaplan-Meier, las familias evaluadas no difieren entre sí, siendo un resultado confiable para incluir en programa de selección.

CONCLUSIONES

Aunque no se presentaron diferencias al análisis de supervivencia en los peces expuestos a la bacteria *S. agalactiae* entre las diferentes familias, los resultados demuestran que este análisis en desafíos contra patógenos es un punto importante para incluir en los planes de selección de peces para resistencia a enfermedades.

AGRADECIMIENTOS

Universidad Federal de Lavras, UFLA, MG /Brasil.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

FUENTES DE FINANCIACIÓN

Este trabajo fue financiado con recursos de la Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais–FAPEMIG–CVZ APQ 02098/13.

REFERENCIAS

- Abuseliana AF, Daud HHM, Abdul AS, Bejo SK, Alsaid M. 2011. Pathogenicity of *Streptococcus agalactiae* isolated from a fish in Selangor to Juvenile Red tilapia (*Oreochromis* sp.). *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 10:914- 919. <https://doi.org/10.3923/javaa.2011.914.919>.
- Anshary H, Kurniawan RA, Sriwulan S, Ramli R, Baxa D. 2014. Isolation and molecular identification of the etiological agents of *streptococcosis* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in Lake Sentani, Papua, Indonesia. *Springer plus*. 3:627. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-627>.
- Berridge, BR, Bercovier, H, Frelrier, PF. 2001. *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus diffcile* 16S-23S intergenic rDNA: genetic homogeneity and species-specific PCR. *Veterinary microbiology*. 78:165- 173. [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(00\)00285-6](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(00)00285-6)
- Cai J, Zhou X, Yan X, Lucente D, Lagana C. 2017. Food and agriculture organization of the united nation-FAO. 2019. Top 10 species groups in global aquaculture 2017. wapi factsheet (june 2019). rome. Disponible en: <http://www.fao.org/3/ca5224en/ca5224en.pdf>.
- Delannoy CMJ, Zadoks RN, Crumlish M, Rodgers D, Lainson FA, Fergusonm HW, Turnbull J, Fontaine MC. 2014. Genomic comparison of virulent and non-virulent *Streptococcus agalactiae* in fish. *Journal of Fish Diseases*. 39:13-29. <https://doi.org/10.1111/jfd.12319>
- Evans JJ, Klesius PH, Gilbert PM, Shoemaker C A, Al Sarawi MA, Landsberg J, Duremdez R , Marzouk A, Zenki S Al. 2002. Characterization of haemolytic group b *Streptococcus agalactiae* in cultured seabream, *Sparus auratus* L., and wild mullet, *Liza klunzingeri* (day), in kuwait. *Journal of Fish Diseases*. 25(9):505- 513. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2002.00392.x>.
- Fagundes LC, ETO SF, Marcusso PF, Fernandes DC, Marinho-Neto FA, Claudiano GS, Moraes JRE, Moraes FR, Loyola W, Freitas JC, Salvador R. 2016. Transferência passiva de soro hiperimune anti-*Streptococcus agalactiae* e seu efeito profilático em tilápias-do-nilo infectadas experimentalmente: sobrevivência e títulos de anticorpos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 68(2):379-386. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-8170>.
- FAO. 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>.
- Fu GH, Wan ZY, Xia JH, Liu F, Liu XJ, Yue GH. 2014. The MCP-8 gene and its possible association with resistance to *Streptococcus agalactiae* in tilapia. *Fish & shellfish immunology*. 40:331-6. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.07.019>.
- Glass EJ. 2012. The molecular pathways underlying host resistance and tolerance to pathogens. *Frontiers in genetics*. 3 :1-12. <https://doi.org/10.3389/fgene.2012.00263>.
- Gjedrem T. 2015. Disease Resistant Fish and Shellfish Are within Reach: A Review. *Journal of Marine Science and Engineering*. 3:146-153. <https://doi.org/10.3390/jmse3010146>.

- Goel MK, Khanna P, Kishore J. 2010. Understanding survival analysis: Kaplan-Meier estimate. International Journal Ayurveda Research. 1(4):274-278. <https://doi.org/10.4103/0974-7788.76794>.
- Joshi R, Skaaurd A, Tola Álvarez A. 2020. Experimental validation of genetic selection for resistance against *Streptococcus agalactiae* via different routes of infection in the commercial Nile tilapia breeding programme. J Anim Breed Genet. 138(3):338-348. <https://doi.org/10.1111/jbg.12516>.
- Joshi R, Skaaurd A, Álvarez AT, Moen T, Ødegård J. 2021. Bayesian genomic models boost prediction accuracy for survival to *Streptococcus agalactiae* infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Genetics Selection Evolution. 53:37-47. <https://doi.org/10.1186/s12711-021-00629-y>.
- Kaplan EL, Meier P. 1958. Nonparametric estimation from incomplete observations. Journal of the American Statistical Association, 53(283):457-481. <https://doi.org/10.2307/2281868>.
- LaFrentz BR, Lozano CA, Shoemaker CA, García JC, Xu DH, Løvoll M, Rye M. 2016. Controlled challenge experiment demonstrates substantial additive genetic variation in resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to *Streptococcus iniae*. Aquaculture, 458,134-139. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.02.034>
- Leal CA, Figueiredo CP. 2018. Mortalidade na piscicultura? O que coletar e como enviar para diagnostico laboratorial. Panaroma da Aquicultura. 168:28-35.
- Li LP, Wang R, Liang WW, Huang T, Huang Y, Luo FG, Lei AY, Chen M, Gan X. 2015. Development of live attenuated *Streptococcus agalactiae* vaccine for tilapia via continuous passage in vitro. Fish & shellfish immunology. 4 5:955-63. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.06.014>
- Liao PC, Tsai YL, Chen YC, Wang PC, Liu SC, Chen SC. 2020. Analysis of Streptococcal Infection and Correlation with Climatic Factors in Cultured Tilapia *Oreochromis* spp. in Taiwan. Applied Sciences. 10:1-10. <https://doi.org/10.3390/app10114018>
- Mian GF, Godoy DT, Leal CAG, Yuhara TY, Costa GM, Figueiredo HCP. 2009. Aspects of the natural history and virulence of *S. agalactiae* infection in Nile tilapia. Veterinary Microbiology. 136:180-183. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.10.016>
- RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA Disponible en: <http://www.rstudio.com/>
- Shoemaker CA, Lozano CA, LaFrentz BR, García JC, Soto E, Xu DH, Beck BH, Rye M. 2016. Additive genetic variation in resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to *Streptococcus iniae* and *S. agalactiae* capsular type Ib: Is genetic resistance correlated. Aquaculture. 468:193-198. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.10.022>
- Suebsong W, Poompuang S, Srisapoom P, Koonawootrittriron S, Luengnaruemitchai A, Johansen H, Rye M. 2019. Selection response for *Streptococcus agalactiae* resistance in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Journal Fish Diseases. 11:1553-1562. <https://doi.org/10.1111/jfd.13074>
- Sukhavachana S, Poompuanga S, Onmingc S, Luengnaruemitchai A. 2019 Heritability estimates and selection response for resistance to *Streptococcus agalactiae* in red tilapia *Oreochromis* spp. Aquaculture. 502:384-390. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.075>
- Ødegård, J, Baranski, M, Gjerde, B, Gjedrem, T. 2011. Methodology for genetic evaluation of disease resistance in aquaculture species: Challenges and future prospects. Aquaculture Research. 42:103-114. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02669.x>
- Yáñez JM, Houston RD, Newman S. 2014. Genetics and genomics of disease resistance in salmonid species. Frontiers in genetics. 5:1-13 <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00415>

Forma de citación del artículo:

Sánchez Roncancio CO, Fonseca de Freitas RT. 2022. Supervivencia observada en tres familias de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) infectadas con *Streptococcus agalactiae*. Rev Med Vet Zoot. 69(3):236-244. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v69n3.103804>