

УДК 579.66:639.3

## ПРЕИМУЩЕСТВА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОБИОТИКОВ НА ОСНОВЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ В АКВАКУЛЬТУРЕ

**Чижаева А.В., Олейникова Е.А., Амангелды А.А., Алыбаева А.Ж.**

*ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии»,  
Алматы, e-mail: anna\_chizhaeva@mail.ru*

Индустриальная аквакультура является динамично развивающимся направлением продовольственно-го сектора, способным решить проблемы здорового питания и продовольственной безопасности. Однако серьезными проблемами индустриального выращивания рыб представляются увеличение уровня органического загрязнения, числа условно-патогенных микроорганизмов в водной среде рыбоводных хозяйств и глобальное загрязнение кормового сырья и кормов микотоксигенными грибами. При этом происходят ослабление общего состояния рыб, возникновение различных заболеваний, осложненных лекарственной сопротивляемостью, накоплением антибиотиков, химических соединений в тканях и иммуносупрессией. Одним из биологических методов поддержания и восстановления нормального физиологического состояния рыб, повышения их продуктивности является применение пробиотических препаратов. Цель данного обзора – научное обоснование применения молочнокислых бактерий в разработке пробиотиков как наиболее успешных и безопасных микроорганизмов для аквакультуры. Молочнокислые бактерии являются представителями микробиоты рыб и человека, они проявляют антагонистическую активность в отношении условно-патогенных бактерий, грибов и вирусов, возбуждающих микробиологическую порчу кормов, загрязняющих водоемы, а также вызывающих заболевания рыб. Многочисленные научные исследования доказывают ценность этой обширной группы микроорганизмов для предотвращения и лечения заболеваний рыб и других водных организмов. Живые клетки молочнокислых бактерий, их ферменты и метаболиты положительно влияют на резистентность к инфекционным заболеваниям, выживаемость и продуктивность рыб. Предварительная тщательная оценка свойств молочнокислых бактерий и их безопасности в условиях *in vitro* и *in vivo* позволяет использовать их для всей системы рыбоводства в качестве пробиотиков и как весьма эффективную и экологичную альтернативу антибиотикам, способствующую устойчивому развитию аквакультуры и получению безопасной рыбной продукции.

**Ключевые слова:** пробиотик, молочнокислые бактерии, рыба, аквакультура, безопасность производства

## ADVANTAGES OF USING PROBIOTICS BASED ON LACTIC ACID BACTERIA IN AQUACULTURE

**Chizhayeva A.V., Oleinikova Ye.A., Amangeldi A.A., Alybaeva A.Zh.**

*LLP «Scientific and Production Center of Microbiology and Virology»,  
Almaty, e-mail: anna\_chizhaeva@mail.ru*

Industrial aquaculture is a dynamic area capable of solving problems of healthy nutrition and food security. Increase of organic pollution, number of opportunistic microorganisms in the aquatic environment of fish farms and the global pollution of feed by mycotoxigenic fungi are serious problems of industrial fish cultivation. In this case, there is a weakening of general condition of fish, the occurrence of various diseases complicated by drug resistance, the accumulation of antibiotics, chemical compounds in tissues and immunosuppression. One of the biological methods of maintaining and restoring normal physiological state of fish, increasing their productivity is the use of probiotic. The aim of this review is the scientific justification use of lactic acid bacteria in the development of probiotics as the most valuable and safest microorganisms for aquaculture. Lactic acid bacteria are representatives of the fish and humans microbiota, they have antagonistic activity to opportunistic bacteria, fungi and viruses that excite microbiological spoilage of feed, contaminate reservoirs, and cause various fish diseases. Numerous scientific studies prove the value of this vast group of microorganisms for the prevention and treatment of diseases of fish and other aquatic organisms. Living cells of lactic acid bacteria, their enzymes and metabolites positively affect the resistance to infectious diseases, survival and productivity of fish. A preliminary careful assessment of the properties of lactic acid bacteria and their safety *in vitro* and *in vivo* allows to using them for the entire fish farming system as probiotics and as a very effective and environmentally friendly alternative to antibiotics, contributing to the sustainable development of aquaculture and the production of safe fish products.

**Keywords:** probiotic, lactic acid bacteria, fish, aquaculture, production safety

Ожидается, что в ближайшие несколько лет в результате роста численности населения, развития стран с низким средним уровнем дохода и меняющихся предпочтений в пище потребление рыбы и морепродуктов увеличится почти на одну треть. В удовлетворении спроса на безопасные рыбные продукты глобальная аквакультура будет играть все более важную роль среди рыбо-

го промысла. Аквакультура – это один из самых быстрорастущих продовольственных секторов в мире, ее производство стабильно растет на 7,5% в год начиная с 1970 г.; ожидается, что к 2030 г. производство аквакультуры достигнет 109 млн т [1].

Однако, по прогнозам FAO, при достижении такого роста этот сектор столкнется с огромными экологическими проблемами,

требующими новой стратегии устойчивого развития аквакультуры [2]. Глобальный тренд в аквакультуре – это возникновение новых возбудителей, вызывающих новые и неизвестные заболевания, которые будут быстро распространяться, в том числе по национальным границам, и вызывать крупные производственные убытки примерно каждые 3–5 лет. Быстрое расширение интенсивной аквакультуры во всем мире уже привело к увеличению распространенности трансграничных вирусных, бактериальных, паразитарных и грибковых инфекций у культивируемых водных организмов, что повлияло на устойчивость производства аквакультуры во многих странах [1].

В связи с этим возникла необходимость смены парадигмы в работе с рисками биобезопасности аквакультуры. Новая глобальная программа прогрессивного управления предусматривает инновационные технические разработки, касающиеся кормов, генетического отбора, биозащиты и контроля болезней, цифровых инноваций и т.д. Важно, что первым пунктом этой программы значится «усиление профилактики заболеваний в аквакультуре за счет ответственного рыбоводства (включая снижение устойчивости к противомикробным препаратам в аквакультуре и применение подходящих альтернатив противомикробным препаратам) и использования других научно обоснованных и проверенных технологиями мер» [1].

Цель исследования – научное обоснование применения пробиотиков на основе молочнокислых бактерий как наиболее успешных и безопасных противомикробных средств для аквакультуры.

#### Результаты исследования и их обсуждение

Успешный кандидат в пробиотики должен обладать несколькими важными критериями: не должен быть патогенным для рыб; не должен содержать генов устойчивости к антибиотикам, кодируемых плазмидой; должен обладать способностью переносить широкий диапазон pH (от слабокислого до сильнощелочного) и высокую концентрацию (2,5%) солей желчных кислот; иметь высокую колонизационную способность; антагонистическую или ингибирующую активность против разнообразных возбудителей болезней рыб; производить внеклеточные ферменты (протеазу, амилазу, целлюлозу, фитазу, хитиназу, липазу, и др.); иметь местное происхождение [3]. Молочнокислые бактерии (МКБ), обладающие ценными свойствами, необходимыми для кандидата в пробиотики, могут быть

весьма перспективными микроорганизмами для использования их в аквакультуре [4].

МКБ являются представителями нормофлоры как человека, так и рыб, обладают антагонистической активностью против условно-патогенных бактерий, вирусов и грибов, вызывающих заболевания рыб и моллюсков [5–7].

Молочнокислые бактерии являются безопасными микроорганизмами. Они имеют статус GRAS, объявленный FDA, а также статус QPS, присвоенный им EFSA, и могут служить биологическими пищевыми консервантами благодаря антимикробной активности их метаболитов, таких как органические кислоты (главным образом молочная кислота и уксусная кислота), диоксид углерода ( $\text{CO}_2$ ), перекись водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), лизоцим, фенолмолочная кислота, жирные кислоты, антибиотики (Реутерин) и бактериоцины [8–10].

Основной продукт жизнедеятельности гомоферментативных МКБ – молочная кислота. Гетероферментативные молочнокислые бактерии в процессе ферментации гексоз образуют эксимоллярные количества молочной кислоты, уксусной кислоты/этанола и диоксид углерода ( $\text{CO}_2$ ). Антимикробная активность молочной кислоты при низких концентрациях невысока, особенно при нейтральном pH. Уксусная кислота – более сильный ингибитор по сравнению с молочной кислотой в отношении бактерий, плесеней и дрожжей, тогда как пропионовая кислота обладает высокой антимикробной активностью. Из смеси кислот, производимых МКБ, молочная кислота, в основном, снижает кислотность, в то время как остальные кислоты (уксусная кислота и пропионовая кислота) работают как противомикробные средства путем воздействия на клеточную мембрану патогенов [11]. Недиссоциированные формы кислот диффундируют через стенку микробной клетки из-за их гидрофобного характера и затем диссоциируют внутри клетки. Это явление приводит к ингибированию метаболической активности патогенов и разрушению протонной движущей силы. Этот механизм, вероятно, также влияет на некоторые виды грибов.

Углекислый газ может выступать в качестве потенциального антимикробного средства в отношении других микроорганизмов в окружающей среде. Низшая концентрация  $\text{CO}_2$  способна стимулировать рост некоторых организмов, но наличие более высокой концентрации углекислого газа ингибирует его. Грамотрицательные бактерии более чувствительны к диоксиду углерода по сравнению с грамположительными бактериями [11].

Некоторые из МКБ (*Lactobacillus johnsonii* NCC 533, *Lacticaseibacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* и др.) производят пероксид водорода  $H_2O_2$  в присутствии кислорода под действием флавопротеинсодержащих оксидаз, супероксиддисмутазы и NADH-оксидазы [12]. Бактерицидное влияние  $H_2O_2$  объясняется его сильным окислительным воздействием на бактериальную клетку. Некоторые  $H_2O_2$  образующие реакции поглощают кислород, тем самым создается анаэробная окружающая среда, которая не подходит для определенных организмов.

Молочнокислые бактерии продуцируют вещества с антимикробной активностью, такие как реутерин, бактериоцины, антифунгальные пептиды и иные, активные в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий [9, 13]. Спектр ингибирования антимикробными соединениями МКБ включает такие микроорганизмы, вызывающие болезни рыб и моллюсков, как *Aeromonas salmonicida*, *A. hydrophila*, *Edwardsiella tarda*, *Pasteurella piscicida*, *Vibrio anguillarum*, *V. salmonicida*, *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus* and *Yersinia ruckeri*, *Lc. garvieae*, *S. iniae*, патогенная *E.coli*, грибы рода *Candida*, плесневые грибы и др. [4–6].

Самыми изученными бактериоцинами молочнокислых бактерий в настоящее время являются Низин, Lactacin B, Lactocin 27, Plantaricin A, Plantacin B и Helveticin, Лейкоцин, Сакацин, Педиоцин PAI/AcH, Энтероцины AS-48, A, B и др. [9, 13, 14]. Они могут влиять на бактерии, ингибируя синтез клеточной стенки, увеличивая клеточную проницаемость мембран клеток-мишеней или ингибируя активности RNазы или DNазы. Бактериоцины молочнокислых бактерий нетоксичны для животных и человека, не меняют питательных свойств пищевых продуктов, эффективны при низкой концентрации, не теряют активности при охлаждении или нагревании и у патогенов не вырабатывается устойчивость к ним.

Антифунгальные пептиды молочнокислых бактерий демонстрируют потенциальные противогрибковые признаки в отношении микотоксигенных грибов родов *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* и *Rhizopus*, а также ингибирование синтеза микотоксинов и детоксикацию микотоксинов в растительном сырье, являющемся компонентом рыбных кормов, что немаловажно для рыбоводного сектора [15]. Gourama и Bullerman [16] сообщили о противогрибковых и антиафлатоксиновых свойствах молочной кислоты и других активных метаболитов МКБ. Известно о антифунгальной актив-

ности фенолмолочной кислоты и 4-гидрокси-фенилмолочной кислоты, выделенных из *Lactiplantibacillus plantarum* [17]. Точно так же Dalie и иные [18] наблюдали ингибирование роста *F. proliferatum* и *F. verticillioides* молочнокислыми бактериями *P. pentosaceus* L006, выделенными из листа кукурузы. Считается, что штаммы МКБ обладают способностью детоксикации микотоксинов посредством механизма связывания с компонентами бактериальной клеточной стенки, такими как полисахариды и белки [19]. Некоторые ученые доказали детоксикацию молочнокислыми бактериями и бифидобактериями B1 афлатоксина, а также патулина и охратоксина А в водном растворе *L. acidophilus* BM 20 и *B. animalis* BM 12 [20]. Определены антифунгальная активность *Pediococcus acidilactici* и *Pediococcus pentosaceus*, а также их способность ингибировать образование зераленона [21].

Молочнокислые бактерии в многочисленных исследованиях *in vitro* и *in vivo* демонстрируют потенциальную противовирусную активность в отношении респираторных и желудочно-кишечных вирусов, таких как ротавирусы, норовирусы и энтеровирусы, сальмонидные вирусы [22]. Многие исследователи объясняют механизм противовирусной активности молочнокислых бактерий прямым контактом с вирусом, подавлением регуляции репликации вируса путем индукции экспрессии противовирусных генов или стимуляцией функций иммунной системы хозяина [23]. В исследованиях команды Y. Jung показано, что введение высоких доз *Lacticaseibacillus casei* способствует быстрой индукции антител IgG1 и IgG2a, врожденных иммунных клеток и цитокинов [24]. Лактобактерии поддерживают гуморальный и клеточный иммунитет, стимулируют выделение лизоцима, активируют фагоцитоз, что повышает общий уровень защиты организма от инфекций. Помимо этого, они обладают способностью сорбировать вещества, вызывающие аллергические реакции и гиперчувствительность к компонентам корма. Они участвуют в формировании феномена «оральной толерантности» к пищевым антигенам, т.е. помогают организму при пищевых аллергиях.

Производство и доступность внеклеточных ферментов, таких как протеазы, карбогидразы, амилазы, липазы и фитазы у молочнокислых бактерий, способствуют тому, что пробиотики на их основе положительно влияют на темпы роста хозяина, улучшая усвояемость корма.

Репродуктивное здоровье и качество гамет рыб является очень важным вопросом

для рыбоводства, особенно для интенсивно размножающихся видов, поскольку большинство из них демонстрируют низкое качество гамет. Некоторые пробиотики на основе молочнокислых бактерий способствуют овуляции и плодовитости, а также положительно влияют на качество спермы и яйцеклеток, способствуют вылуплению и выживанию эмбрионов и личинок [25].

Молочнокислые бактерии, как мы уже указывали выше, считаются безопасными как для животных, так и для людей. Однако исследователи отмечают, что некоторые бактерии этой большой группы (*Lactococcus lactis*, *Lc. garvieae*, *Enterococcus sp.*, *Lacticaseibacillus casei* и *Lacticaseibacillus rhamnosus*) могут быть причинами бактериальных инфекций [26]. Поэтому перед введением штаммов молочнокислых бактерий в кормовые пробиотики, добавкой к воде или пробиотики для борьбы с болезнями необходимо не пренебрегать тщательной оценкой их безопасности (патогенности, вирулентности, инвазивных свойств и т.д.). В целом же эта группа пробиотических микроорганизмов является наиболее безопасной и ценной для применения в аквакультуре, тем более что конечной инстанцией этой пищевой цепи является человек.

### Заключение

Аквакультура – одно из самых динамично развивающихся направлений рыбного хозяйства, призванное восполнить потребности растущего населения в белке. Однако инфекционные болезни рыб и моллюсков являются серьезной проблемой, сдерживающей рост производства этого сектора рыбоводства. И важной проблемой в усилении профилактики и борьбы с заболеваниями водных животных представляется поиск новых экологичных, эффективных антимикробных средств, альтернативных антибиотикам и химическим препаратам, которые создают избирательные условия для появления устойчивых к лекарствам бактерий.

Пробиотики – это живые микроорганизмы, которые производят несколько полезных эффектов на водных животных – рыб, моллюсков и прочих (повышают иммунитет, помогают пищеварению, защищают от патогенов, улучшают качество воды, способствуют росту и размножению) и могут быть использованы в качестве альтернативы антибиотикам. Наиболее привлекательными потенциальными кандидатами в пробиотики для сектора индустриального рыбоводства являются молочнокислые бактерии из-за их высокой антагонистической активности, выработки и доступности вне-

клеточных ферментов. Используя пробиотики на основе молочнокислых бактерий в качестве добавок к воде, можно увеличить количество полезной микробиоты хозяина и активность иммунных ферментов в иммунных тканях слизистой оболочки рыбы, улучшить качество воды, воздействуя на микробные сообщества окружающей среды и уменьшая метаболические отходы в водной системе.

Пробиотики для аквакультуры на основе молочнокислых бактерий, прошедших тщательную оценку их пробиотических свойств и безопасности в условиях *in vitro* и *in vivo*, весьма эффективны и экологичны, могут обеспечить более быструю защиту рыб, чем пероральные вакцины, более безопасную защиту, чем антибиотики, при этом оказывая положительное влияние на здоровье рыб, их питание, иммунитет, воспроизводство и качество воды.

*Данное исследование финансируется Комитетом науки Министерства образования и науки Республики Казахстан (Грант № AP09258412).*

### Список литературы

1. FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome, 2020. 224 p. DOI: 10.4060/ca9229en.
2. Stentiford G.D., Sritunyalucksana K., Flegel T.W., Williams B.A., Withyachumnarnkul B., Itsathitphaisarn O., Bass D. New paradigms to help solve the global aquaculture disease crisis. *PLoS Pathog.* 2017. No. 13. e1006160.
3. Ringø E., Doan H.V., Lee S.O., Soltani M., Hoseinifar S.H., Harikrishnan R., Song S.K. Probiotics, lactic acid bacteria and bacilli: interesting supplementation for aquaculture. *J. Appl. Microbiol.* 2020. Vol. 129. is. 1. P. 116–136. DOI: 10.1111/jam.14628.
4. Doan H.V., Soltani M., Ring E. *In vitro* antagonistic effect and *in vivo* protective efficacy of Gram-positive probiotics versus Gram-negative bacterial pathogens in finfish and shellfish. *Aquaculture.* 2021. Vol. 540. P.736581. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2021.736581.
5. Ringø E., Hoseinifar S.H., Ghosh K., Doan H.V., Beck B.R., Song S.K. Lactic acid bacteria in finfish-An update. *Front. Microbiol.* 2018. No. 9. P. 1818. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01818.
6. Ringø E. Probiotics in shellfish aquaculture. *Aquac. Fish.* 2020. Vol. 5. No. 2. P. 1–27. DOI: 10.1016/j.aaf.2019.12.001.
7. Сергалиев Н.Х., Андронов Е.Е., Пинаев А.Г. Изучение микрофлоры осетровых видов рыб, разводимых в УЗВ с применением методов метагеномики // Сборник научных трудов КНЦЗВ. 2019. Т. 8. № 1. С. 63–68.
8. Garc'és M.E., Olivera N.L., Fernández M., Rossi C.R., Sequeiros C. Antimicrobial activity of bacteriocin-producing *Carnobacterium* spp. isolated from healthy Patagonian trout and their potential for use in aquaculture. *Aquac. Res.* 2020. 00. P. 1–11. DOI: 10.1111/are.14806.
9. Kaktcham P.M., Temgoua J.B., Zambou M.N., Diaz-Ruiz G., Wache, C., P'erez-Chabela M.L. *In Vitro* evaluation of the probiotic and safety properties of bacteriocinogenic and non-bacteriocinogenic lactic acid bacteria from the intestines of Nile Tilapia and common carp for their use as probiotics in aquaculture. *Probiotics Antimicrob. Prot.* 2018. Vol. 10. No. 1. P. 98–109.

10. Gong L., He H., Li D., Cao L., Ali Khan T., L. Y., Pan L., Yan L., Ding X., Sun Y., Zhang Y., Yi G., Hu S., Xia L. A new isolate of *Pediococcus pentosaceus* (SL001) with antibacterial activity against fish pathogens and potency in facilitating the immunity and growth performance of grass carps. *Front. Microbiol.* 2019. Vol. 10. P. 1384. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01384.
11. Akbar A., Anal A.K. Food safety concerns and food-borne pathogens, *Salmonella*, *Escherichia coli* and *Campylobacter*. *FUUAST. J. Biol.* 2011. vol.1. No. 1. P. 5–17.
12. Pridmore R.D., Pittet A.C., Praplan F., Cavadini C. Hydrogen peroxide production by *Lactobacillus johnsonii* NCC 533 and its role in anti-*Salmonella* activity. *FEMS. Microbiol. Lett.* 2008. Vol. 283. P. 210–215.
13. Похиленко В. Д., Перельгин В. В. Бактериоцины: их биологическая роль и тенденции применения // Исследовано в России. 2011. [Электронный ресурс]. URL: <http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles//016.pdf> (дата обращения: 18.09.2021).
14. Balcazar J.L., Vendrell D., de Blas I., Ruiz-Zarzuela I., Girones O., Múzquiz J.L. In vitro competitive adhesion and production of antagonistic compounds by lactic acid bacteria against fish pathogens. *Vet. Microbiol.* 2007a. Vol. 122. P. 373–380.
15. Muhialdin B.J., Algboory H.L., Kadum H., Mohammed N.K., Saari N., Hassan Z., Hussin A.S.M. Antifungal activity determination for the peptides generated by *Lactobacillus plantarum* TE10 against *Aspergillus flavus* in maize seeds. *Food Control.* 2020b. Vol. 109. P. 106898.
16. Gourama H., Bullerman L.B. Inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* by *Lactobacillus* species. *J. Food Prot.* 1995. Vol. 58. P. 1249–1256.
17. Lavermicocca P., Valerio F., Visconti A. Antifungal activity of phenyllactic acid against molds isolated from bakery products. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003. Vol. 69. P. 634–640.
18. Dalie D.K.D., Deschamps A.M., Atanasova-Penichon V. and Richard-Forget F. Potential of *Pediococcus pentosaceus* (L006) isolated from maize leaf to fumonisin-producing suppress fungal growth. *J. Food Prot.* 2010. Vol. 73. P. 1129–1137.
19. Wang L., Yue T., Yuan Y., Wang Z., Ye M., Cai R. A new in sight in to the adsorption mechanism of patulin by the heat-inactive lactic acid bacteria cells. *Food Control.* 2015. Vol. 50. P. 104–110. DOI: 10.1016/j.foodcont.2014. 08.041.
20. Fuchs S., Sontag G., Stidl R., Ehrlich V., Kundi M. and Knasmüller S. Detoxification of patulin and ochratoxin A, two abundant mycotoxins, by lactic acid bacteria. *Food Chem. Toxicol.* 2008. Vol. 46. P. 1398–1407. DOI: 10.1016/j.fct.2007.10.008.
21. Muthulakshmi S., Naveen K.K., Chandranayaka S., Venkataramana M., Kadirvelu K., Gopalan N., Venkata L.R.P. Antifungal and Zearalenone Inhibitory Activity of *Pediococcus pentosaceus* Isolated from Dairy Products on *Fusarium graminearum*. *Frontiers in Microbiology.* 2016. Vol. 7. P. 890. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00890.
22. Muhialdin B.J., Zawawi N., Razis A.F.A., Bakar J., Zarei M. Antiviral activity of fermented foods and their probiotics bacteria towards respiratory and alimentary tracts viruses. *Food Control.* 2021. Vol. 127. P. 108140. DOI: 10.1016/j.foodcont.2021.108140.
23. Seo D. J., Jung D., Jung S., Yeo D., Choi C. Inhibitory effect of lactic acid bacteria isolated from kimchi against murine norovirus. *Food Control.* 2020. Vol. 109. P. 106881.
24. Jung Y.J., Lee Y.T., Le Ngo V., Cho Y.H., Ko E.J., Hong S.M. et al. Heat-killed *Lactobacillus casei* confers broad protection against influenza A virus primary infection and develops heterosubtypic immunity against future secondary infection. *Scientific Reports.* 2017. Vol. 7. No. 1. P. 1–12.
25. Fatmagün Aydın, Şehriban Çek-Yalınz. Effect of Probiotics on Reproductive Performance of Fish. *NE Sciences.* 2019. Vol. 4. No. 2. P. 153–162. DOI: 10.28978/nesciences.567113.
26. Brazaca S.G., Bicalho R.C. The *Lactococcus* genus as a potential emerging mastitis pathogen group: A report on an outbreak investigation. *J. Dairy Sci.* 2016. Vol. 99. No. 12. P. 9864–9874.