

УДК 579.2:579.5

DOI: 10.31040/2222-8349-2025-0-1-68-74

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ДВУХ НОВОИЗОЛИРОВАННЫХ БАКТЕРИОФАГОВ,
СПЕЦИФИЧНЫХ ДЛЯ *MORAXELLA BOVIS***

© З.С. Мохаммед, Н.В. Пименов

Moraxella – это бактерии, которые вызывают ряд заболеваний как у людей, так и у животных. Одним из самых социально значимых заболеваний, которое может быть вызвано данным микроорганизмом, является кератит. Многочисленные отчеты указывают на то, что рост устойчивости бактерий к антибиотикам приводит к увеличению случаев неэффективности лечения. Таким образом, наше исследование подчеркивает потенциал фаговой терапии в борьбе с бактериальной антибиотикорезистентностью. *M. bovis* выделяли из глаз больных коров с различных российских ферм.

Изолировав фаги vB_MboM_R2 и vB_MboM_W17 из сточных вод, мы смогли определить морфологию и биологические характеристики протестированных фагов. Наше исследование привело к выделению двух специфических фагов к *M. bovis*. Эти фаги были отнесены к семейству Myoviridae на основе трансмиссионной электронной микроскопии. Фаги также демонстрировали минимальное снижение активности при температуре до 40°C и в щелочной среде (pH 8).

В данной работе рассматривается еще одно средство в арсенал против такого серьезного заболевания, как кератит, что может повысить интерес к фаговой терапии как к дополнению и альтернативе доступным антибиотикам.

Ключевые слова: *Moraxella*, *M. Bovis*, *Myoviridae*, фаги, фаговой терапии.

Введение. Бактерии рода *Moraxella* широко распространены. Некоторые виды эндемичны и/или эпизоотически значимы [1]. *M. bovis* – граммотрицательная коккобацилла, является возбудителем инфекционных кератоконъюнктивитов у крупного рогатого скота (КРС) [2, 3].

Не исключена ее роль в патогенезе воспалительных заболеваний органов зрения у других млекопитающих. Источники не описывают выделение *M. bovis* при болезнях глаз у человека, но, учитывая растущую роль зоонозных инфектов, изучение и разработка эффективных средств санации будет иметь существенное значение для медицины.

Отмечается, что вирулентность *M. bovis* связана с гемолитическими свойствами и пиллями. Однако сообщалось, что подобные бактерии присутствуют только в глазах больного КРС; негемолитические штаммы без антигенов в пиллях обнаруживаются у здорового крупного рогатого скота и, вероятно, присутствуют в нормальной микрофлоре конъюнктивы [4].

Для борьбы с *M. bovis* исследователи и специалисты предлагают использование антибиотиков и вакцин. Однако разрабатываемые вакцины не проявляют высокой эффективности, а применение антибиотиков является трудоемким, особенно в условиях мясного скотоводства, где проблема инфекционного кератоконъюнктивита КРС наиболее развита [5, 6].

Антибиотикорезистентность у патогенных бактерий в последнее время возросла и представляет проблему [7]. Поэтому крайне важно выявить, разработать и оценить альтернативные стратегии борьбы с бактериями *Moraxella*, особенно в контексте ветеринарных заболеваний [8]. Одной из возможных стратегий, о которой упоминается, является использование бактериофагов. Целью данного исследования является выделение, идентификация и характеристика нового лизирующего фага, который является специфичным для вида *M. bovis*, а также оценка его потенциала для лечения ИКК.

МОХАММЕД Захраа Сахиб Мохаммед, Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина, e-mail: Zahraasahib92@gmail.com

ПИМЕНОВ Николай Васильевич – д.б.н., Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина, e-mail: Pimenov-nikoli@yandex.ru

Материалы и методы. Исследование проводили на базе 5 животноводческих предприятий в Московской области и ее окрестностях, в Казани и Республике Башкортостан. Биологический материал для исследования был отобран от 40 голов крупного рогатого скота, у которых имелись такие клинические признаки как: конъюнктивит, чрезмерное слезотечение, помутнения роговицы. Также были взяты образцы у здоровых особей крупного рогатого скота. В общей сложности у 40 животных было отобрано 65 образцов биологического материала.

Были идентифицированы 5 изолятов *M. bovis*, рост на 10% кровяном агаре и соевом бульоне с триптофаном проявлялся в виде небольших выпуклых белых колоний с признаками гемолиза.

Поиск, изоляция и амплификация бактериофагов. Для изоляции бактериофагов, специфичных к *M. bovis*, использовали многочисленные образцы воды, включая стоячую и проточную воду, а также воду из прудов и рек. Фильтры, изготовленные из бактерий и хлороформа, использовали для очистки фагов. С небольшими корректировками применяли обычный метод пятнового тестирования для поиска бактериофагов. После смешивания 5 мл фильтрованного материала с 5 мл культуры *M. bovis* на ранней экспоненциальной стадии, смесь инкубировали в течение 24 часов при 37°C. После центрифугирования культур в течение 10 минут при 10 000g, супернатанты были отфильтрованы через мембрану с размером отверстий 0.22 мкм, чтобы избавиться от любых бактерий. Затем 50 микролитров отфильтрованного обогащенного материала с бактериальной клеточной культурой, содержащего 10^7 колониеобразующих единиц на миллилитр, нанесли на поверхность затвердевшего верхнего слоя агара (ВНИ с 6% агаром). После появления бляшек 1 мл расплавленного мягкого агара (ВНИ с 0.7% агаром) добавили к 4.5 мл физиологического раствора (рН 7.5) после того, как фильтрованный обогащенный материал из предыдущего этапа серийно развели (10^{-1} – 10^{-10}) в растворе. Наконец, для создания двухслойных агаровых пластин раствор был вылит на твердый слой агара (Агар Мюллера-Хинтона). Через 24 часа стерильной пастеровской пипеткой удалили одну прозрачную бляшку, после чего она была помещена в пробирку с 500 мкл буфера SM. Трубка затем была гомогенизирована и инкубирована при 4°C в течение одного часа.

Литический спектр исследованных фагов. 50 мкл фага (титр $\sim 10^7$ ПФУ/мл) был нанесен на пластинку с бактериальной подложкой выбранного штамма морокселлы для определения литического спектра бактериофагов. Подготовленные пластины затем оставили при комнатной температуре на несколько минут, прежде чем инкубировать их при 37°C на всю ночь. Кроме того, изоляты бактериофагов были протестированы на специфичность со штаммами *Pseudomonas aeruginosa* (n = 2), *Klebsiella pneumoniae* (n = 2), *Escherichia coli* (n = 3) и *Enterococcus faecalis* (n = 1), а также к штаммам, принадлежащим к *Moraxella* spp.

Литическая активность. В ряд стерильных пробирок налили 4.5 мл питательной среды. В первую пробирку добавили 0.5 мл тестируемого фага, который затем последовательно разбавляли, переливая по 0.5 мл из пробирки в пробирку. Готовили 10 разведений фага. Из последней пробирки удалили лишние 0.5 мл. Затем во все пробирки добавили по 1–2 капли бактериальные культуры раннего логарифмического роста. Дополнительные две пробирки служили контрольными; одна из них содержала жидкую питательную среду и культуру (без фага), другая содержала питательную среду. Все пробирки инкубировали в термостате при температуре 37°C в течение 18 часов.

Физико-химическая стабильность. Инкубируя центрифужные трубки, содержащие 100 мкл фаговой суспензии (10^7 ПФУ/мл), в течение одного часа при различных температурах (–20, 4, 37, 40, 50, 60, 70 и 80°C), исследовали влияния различных факторов на фаг, такие как рН и температура. Чтобы оценить стабильность фага при различных значениях рН, еще 100 мкл суспензии (10^7 ПФУ /мл) инкубировали в том же буферном растворе в течение одного часа при комнатной температуре при рН (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, и 12). Для измерения титра фага использовался метод двойного слоя пластин.

Трансмиссионная электронная микроскопия. Для подготовки фильтрованных фаговых лизатов для трансмиссионной электронной микроскопии они были титрованы до 10^8 ПФУ/мл в среде LB (lysogeny broth). После удаления супернатанта из образцов и центрифугирования их в течение одного часа при 25 000 g, добавили 0.1 М ацетат аммония, и образцы центрифуги-

ровали еще раз. Затем на медную сетку с размером ячейки 400 поместили одну каплю фагового лизата, добавили 2% уранил ацетата для контраста, дали высохнуть, после чего смесь исследовали. С помощью трансмиссионного электронного микроскопа JEOL JEM-1011 были получены изображения фагов. Размер и морфология исследуемых бактериофагов определяли на основе полученных результатов.

Тест на скорость адсорбции. Для оценки адсорбции бактериофагов vB_MboM_R2 и vB_MboM_W17 использовался следующий метод: культивировали клетки *M. bovis* на TSB до достижения ими экспоненциальной фазы роста ($0.3 = 10^6$). Культура затем была перенесена в стерильные микротрубки, по одному миллилитру культуры в каждой трубке, и добавлено 10 мкл раствора фагов с концентрацией 10^7 ПФУ/мл. Полученные смешанные суспензии инкубировались в течение 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20 и 25 минут при температуре 40°C. Каждую минуту брали по 50 мкл суспензии и смешивали с двумя каплями хлороформа и 950 мкл обычного физиологического раствора. После 5-минутного центрифугирования при $13\ 000 \times g$ суспензии были разделены, чтобы получить осадок, содержащий фаги, связанные с бактериальными клетками. Для того чтобы вычислить титр неадсорбированных фагов, супернатант в конце был собран в стерильные микротрубки и использован в методе с двойным слоем пластин.

Размер вспышки и латентный период. Центрифугирование использовалось для сбора клеток *M. bovis*, как только их культура достигла необходимой оптической плотности (OD) ($OD_{600\text{ нм}} = 0.3$) (10^6). Полученный осадок затем был смешан с 200 мкл разбавленного фага 10^7 и ресуспендирован в 0.5 мл солевого раствора. Затем смесь центрифугировали, чтобы удалить оставшиеся фаги после инкубации в течение одной минуты. После ресуспензии в 10 мл свежей бульонной среды гранулы инкубировались при 37°C. В течение 100 минут каждые 5 минут брали образцы по 500 мкл. После этого каждый образец разбавляли, чтобы уменьшить количество бактерий и бактериофагов. Титры фагов были затем определены с использованием метода двойного слоя агар-агара. Каждая процедура выполнялась трижды.

Результаты и их обсуждение.

Выделение фага. Из пяти выделенных фагов два уникальных для *M. bovis* были идентифицированы из образцов сточных вод, взятых из московского водоканала. Два образца Vb_Mbo-ISE2 и VB_Mbo-ISM17 были выбраны для дальнейшего исследования: Первый фаг формировал прозрачную центральную бляшку с ореолом (1–2 мм в диаметре), в то время как второй фаг формировал прозрачную центральную бляшку с гладкими краями (0.5–1 мм в диаметре).

Видоспецифичность. Чтобы определить влияние *Moraxella* на инфекционность фагов, мы использовали три различных вида *Moraxella* для оценки способности фагов vB_MboM_R2 и vB_MboM_W17 инфицировать бактерии при титре 2×10^7 PFU/мл. Все три бактерии *Moraxella* – *M.bovis*, *M.bovoculi* и *M.ovis* – были вовлечены в лизисную активность. Однако другие штаммы бактерий, которые были использованы (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* и *Enterococcus faecalis*), оказались устойчивыми к фаговой инфекции. Наши результаты демонстрируют специфичность отобранных фагов, которые лизировали только штаммы *Moraxella*, не нанося вреда другим грамотрицательным бактериям.

Литическая активность. Результаты полуколичественного определения титра, или титрования по Аппельману, определяются максимальным разведением фага, при котором произошел полный лизис соответствующей культуры. Литическую активность фага, выраженную в титре, определяли по последней пробирке, в которой нет помутнения или осадка. В наших результатах титр бактериофага vB_MboM_R2 составлял 10^{-8} , потому что он давал лизис в первых 8 пробирках серии, а титр бактериофага vB_MboM_W17 составлял 10^{-7} (табл. 1).

Определение оптимальных параметров температуры и pH. vB_MboM_R2, vB_MboM_W17 Стабильность фагов была проверена путем отслеживания изменений титров vB_MboM_R2 и vB_MboM_W17 при различных значениях pH и температурных условиях. Фаги vB_MboM_R2 были активны после 1 часа инкубации при температуре от –20 до 40°C, несмотря на наблюдаемые падения титра; однако значительное снижение титра было отмечено после инкубации при 50°C ($P < 0.001$) (рис. 1, а). Тогда

как после 1 часа инкубации при 4 до 40 °С другой фаг, vB_MboM_W17, был активен, но после инкубации при -20 и 50°С произошло значительное снижение титров ($P<0.001$) (рис. 1, б). При pH 7 и 8, vB_MboM_R2 был относительно стабилен в течение одного часа, но при pH 5 и 9 наблюдалось значительное снижение активности ($P<0.001$). После одного часа инкубации

при pH 3 и 11 (рис. 2, а) активные фаги не были обнаружены. Фаг vB_MboM_W17 оставался относительно стабильным в течение одного часа при значениях pH от 6 до 9 (рис. 2, б). Однако было отмечено значительное снижение активности при значениях pH 4 и 10 ($P<0.001$). При pH уровнях 3 и 11 через час активные фаги не были обнаружены.

Т а б л и ц а 1

Выделенные фаги и их эффективность

| Фаг | Бактерия | Морфология негативных колоний | | Литическая активность | |
|-------------|------------------------|----------------------------------|-------------|-----------------------|------------------|
| | | Форма | Диаметр, мм | По методу Аппельмана | По методу Грация |
| vB_MboM_R2 | <i>Moraxella bovis</i> | Прозрачный центр с гладким краем | 0.5–1.0 | 10^{-8} | $2 \cdot 10^9$ |
| vB_MboM_W17 | <i>Moraxella bovis</i> | Прозрачная центр, с ореолом | 1.0–2.0 | 10^{-7} | $5.3 \cdot 10^8$ |

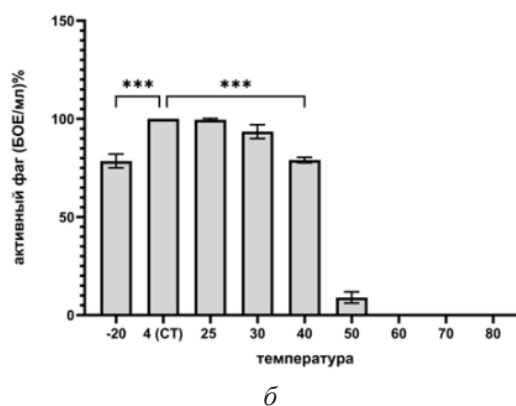
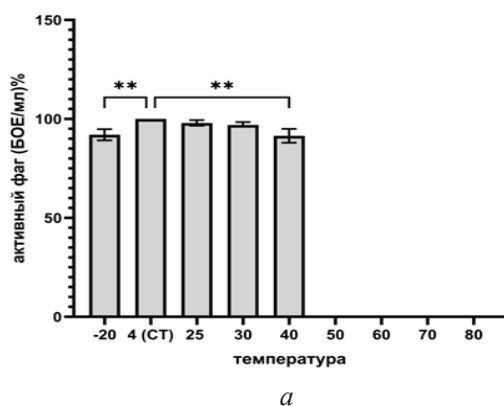


Рис. 1: а – термостабильность vB_MboM_R2 фага, инкубированного при различных температурах в течение одного часа; б – термостабильность vB_MboM_W17 фага, инкубированного при различных температурах в течение одного часа

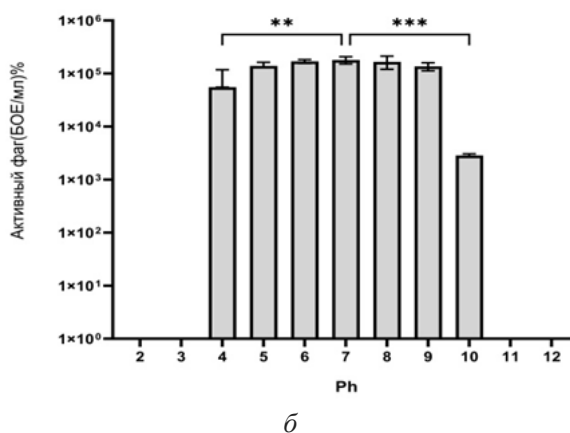
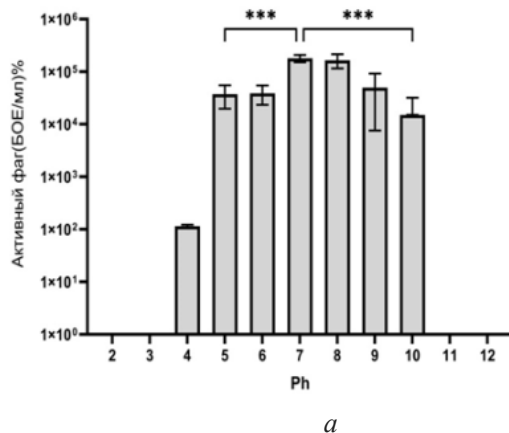


Рис. 2: а – ph vB_MboM_R2 фага, б – ph vB_MboM_W17 фага, инкубированного при различных pH в течение одного часа

Морфология и размеры фагов и их бляшек. Фаг vB_MboM_R2 образовал крошечные прозрачные бляшки с гладким краем, диаметром 0.5–1 мм, а фаг vB_MboM_W17 образовал бляшки с прозрачным центром и ореолом, диаметром 1–2 мм. Вместе они создали наблюдаемый эффект "ореола" (рис. 3).

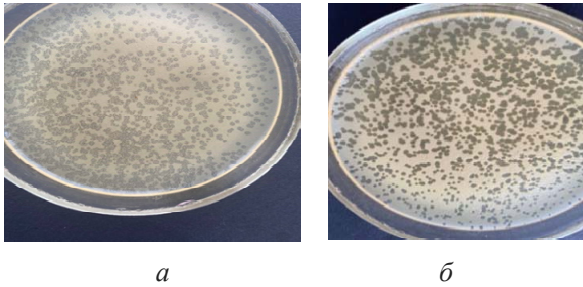


Рис. 3. Изображения, показывающие морфологию бляшек: *a* – vB_MboM_R2; *б* – vB_MboM_W17

Данные, полученные с помощью электронного микроскопа, указывают на то, что эти фаги являются членами семейства *Myoviridae*. Они состоят из головы и хвоста, которые разделены шейей, и не имеют раковины. Хвост трубчатый и обладает спиральной симметрией, в то время как голова имеет икосаэдрическую симметрию. На капсиде, который образует головку, находится 152 капсомера. Средний диаметр головки составляет 84 нм, а средняя длина хвоста – 193 нм. Шесть хвостовых стержней, шесть длинных волокон, манжета, опорная пластина, сократительная оболочка и центральная трубка составляют хвост (рис. 4).

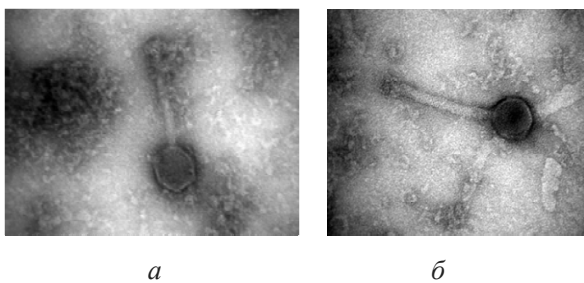


Рис. 4. Электронные микрографии с трансмиссионного электронного микроскопа JEOL JEM-1011, показывающие морфологию выбранных бактериофагов: панель *a* – Фаги vB_MboM_R2 и *б* – vB_MboM_W17 были сфотографированы с увеличением $\times 200.000$

Определение скорости адсорбции фагов. Уровень адсорбции фаговых частиц бактериальными клетками (0.3 по шкале МакФарланда) при 40°C показал, что *M. bovis* требуется почти

2 минуты, чтобы начать адсорбцию фагов vB_MboM_R2 (рис. 5, *a*). Максимальное количество фагов vB_MboM_R2 адсорбировалось через 5 минут, при этом были адсорбированы 80% фагов. Что касается фага vB_MboM_W17 (рис. 5, *б*) после доставки фагов к их хозяину, *M. bovis* понадобилось почти три минуты, чтобы начать их адсорбцию. Через пять минут 93.33% фагов были адсорбированы.

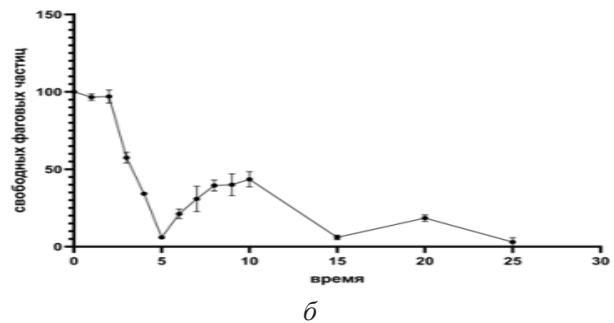
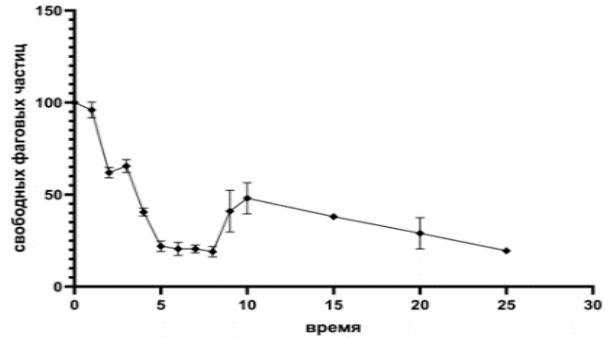


Рис. 5. Скорость адсорбции бактериофаг: *a* – vB_MboM_R2; *б* – vB_MboM_W17. Значения скорости адсорбции бактериофага являются средними \pm SD (стандартное отклонение) по результатам трехкратных анализов

Латентный период и размер выброса. Была установлена латентная фаза фагов vB_MboM_R2 и vB_MboM_W17 против *M. bovis*. Латентный период определяется как время между инфицированием бактерии фагом и первым высвобождением новых фаговых частиц. Кроме того, размер выброса определяется как количество новых фаговых частиц, высвобождаемых из одной инфицированной бактериальной клетки.

Согласно результатам, vB_MboM_R2 имел латентный период примерно 50 минут и размер пакета 84 фага на одну клетку хозяина (рис. 6, *a*). vB_MboM_W17 имел период задержки примерно 40 минут и размер пакета 39 ± 4 вирона на клетку (рис. 6, *б*). Поскольку размер упаковки явно связан с репродукцией

фагов и литической активностью, большой размер упаковки может повысить эффективность фаговой терапии. Согласно этому, данные фаги обладают достаточной литической активностью для использования в терапии.

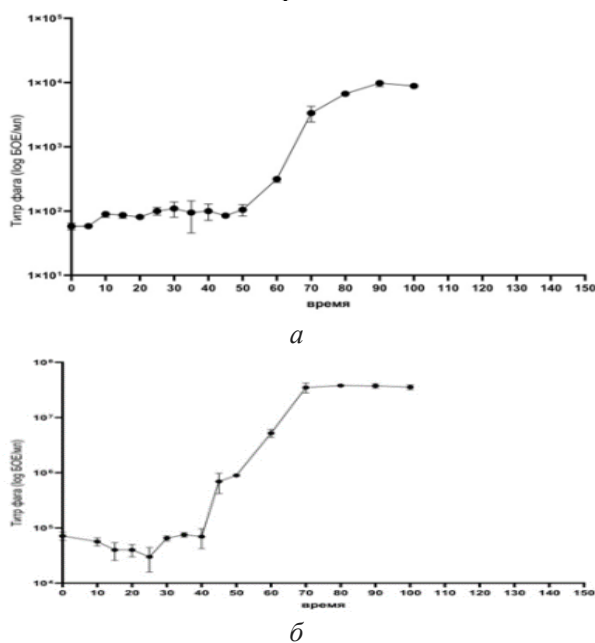


Рис. 6. Латентный период и урожайность бактериофага: *а* – латентный период действия фага vB_MboM_R2; *б* – латентный период действия фага vB_MboM_W17. Значения латентного периода и размера порции бактериофага являются средними \pm SD (стандартное отклонение) по результатам трехкратных анализов

Заключение. Биологическая характеристика двух широкоспектральных бактериофагов, специфичных для *Moraxella bovis*, выявила ключевые свойства, подчеркивающие их потенциал для терапевтического применения. Эти фаги продемонстрировали четкую морфологию бляшек, хорошо определенные ультраструктурные особенности и эффективную литическую активность против широкого спектра штаммов *M. bovis*. Кинетика адсорбции и латентные периоды соответствовали эффективной динамике инфекции, указывая на сильное взаимодействие между хозяином и фагом. Филогенетический анализ подтвердил классификацию фагов в рамках конкретного вирусного семейства, предоставив информацию об их эволюционных связях и функциональных возможностях. Полученные нами результаты подтверждают пригодность выбранных фагов в качестве кандидатов для разработки новых антимикробных агентов против *M. bovis* – патогена, представляюще-

го значительную угрозу для здоровья крупного рогатого скота во всем мире. Устойчивость и генетические характеристики этих фагов еще больше усиливают их терапевтический потенциал, предлагая перспективную альтернативу традиционным антибиотикам

Литература

1. Мохаммед З.С., Пименов Н.В. Патогенная роль *Moraxella* и направления в борьбе с моракселлезной инфекцией // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2023. № 1. С. 73–83.
2. Александр Д. Инфекционный кератоконъюнктивит у крупного рогатого скота // Обзор случаев из клинической практики. Вет. клин. питания животных. 2010. № 26. С. 487–503.
3. Сотникова Л.Ф., Пименов Н.В., Гончарова А.В., Назимкина С.Ф., Сложенкина М.И., Мосолов А.А. Неспецифическая резистентность к кератоконъюнктивиту моракселлезной этиологии у молодняка крупного рогатого скота // ИОР Conf. Серия: Наука о Земле и окружающей среде. 2021. № 6(7). С. 77.
4. Лой Дж.Д., Бродерсен Б.У. *Moraxella* spp., изолированные из полевых вспышек инфекционного кератоконъюнктивита у крупного рогатого скота: ретроспективное исследование случаев с 2010 по 2013 год // Журнал ветеринарной диагностической оценки. 2014. № 26(6). С. 761–768.
5. Деннис Э.Дж., Кнепп М. Обзор глобальной распространенности и экономических последствий инфекционного кератоконъюнктивита у крупного рогатого скота // Вет. клин. Северной Америки. Практика по питанию животных. 2021. № 37(2). С. 355–369.
6. Джордж Л.У., Арданс А.А., Михайл Дж.Е. Инфекционный кератоконъюнктивит у крупного рогатого скота: Сравнение вирулентности изолятов *Moraxella bovis* и *Moraxella bovoculi* // Журнал ветеринарной диагностической оценки. 2019. № 31(4). С. 545–553.
7. Джамал М., Чаудри У.Н., Хуссейн Т., Дас С.Р., Андлиб С. Характеризация нового бактериофага Myoviridae WZ1 против многорезистентной (MDR) *Shigella dysenteriae* // Базовая микробиология. 2015. № 55(4). С. 420–431.
8. Шен Г.Х., Ван Дж.Л., Вэнь Ф.С., Чанг К.М., Куо С.Ф., Линь С.Х., Ло Х.Р., Хунг Ч.Х. Изоляция и характеристика ukm18p, нового лизирующего фага с терапевтическим потенциалом против широко устойчивого к лекарствам *Acinetobacter baumannii*. PLoS ONE. 2012. № 7(10). С. 46–53.

References

1. Mokhammed Z.S., Pimenov N.V., Patogennaya rol' *Moraxella* i napravleniya v bor'be s morakselleznoy

infektsiye // Veterinariya, zootekhnika i biotekhnologiya, 2023, no. 1, pp. 73–83.

2. Aleksandr D. Infektsionnyy keratokon"yunktivit u krupnogo rogatogo skota // Obzor sluchaev iz klinicheskoy praktiki. Vet. klin. pitaniya zhivotnykh, 2010, no. 26, pp. 487–503.

3. Sotnikova L.F., Pimenov N.V., Goncharova A.V., Nazimkina S.F., Slozhenkina M.I., Mosolov A.A. Nespetsificheskaya rezistentnost' k keratokon"yunktivitu morakselleznoy etiologii u molodnyaka krupnogo rogatogo skota // IOP Conf. Seriya: Nauka o Zemle i okruzhayushchey srede, 2021, no. 6(7), 77 p.

4. Loy Dzh.D., Brodersen B.U. Moraxella spp., izolirovannye iz polevykh vspyshek infektsionnogo keratokon"yunktivita u krupnogo rogatogo skota: retrospektivnoe issledovanie sluchaev s 2010 po 2013 god // Zhurnal veterinarnoy diagnosticheskoy otsenki. 2014, no. 26(6), pp. 761–768.

5. Dennis E.Dzh., Knepp M. Obzor global'noy rasprostranennosti i ekonomicheskikh posledstviy

infektsionnogo keratokon"yunktivita u krupnogo rogatogo skota // Vet. klin. Severnoy Ameriki. Praktika po pitaniyu zhivotnykh, 2021, no. 37(2), pp. 355–369.

6. Dzhordzh L.U., Ardans A.A., Mikhayil Dzh.E. Infektsionnyy keratokon"yunktivit u krupnogo rogatogo skota: Sravnenie virulentnosti izolyatov Moraxella bovis i Moraxella bovoculi // Zhurnal veterinarnoy diagnosticheskoy otsenki, 2019, no. 31(4), pp. 545–553.

7. Dzhamal M., Chaudri U.N., Khusseyin T., Das S.R., Andlib S. Kharakterizatsiya novogo bakteriofaga Myoviridae WZ1 protiv mnogorezistentnoy (MDR) Shigella dysenteriae // Bazovaya mikrobiologiya, 2015, no. 55(4), pp. 420–431.

8. Shen G.Kh., Van Dzh.L., Ven' F.S., Chang K.M., Kuo S.F., Lin' S.Kh., Lo Kh.R., Khung Ch.Kh. Izolyatsiya i kharakteristika ukm18p, novogo liziruyushchego faga s terapevticheskimi potentsialom protiv shiroko ustoychivogo k lekarstvam Acinetobacter baumannii. PLoS ONE, 2012, no. 7(10), pp. 46–53.

BIOLOGICAL PROPERTIES OF TWO NEWLY ISOLATED BACTERIOPHAGES SPECIFIC TO *MORAXELLA BOVIS*

© Z.S. Mohammed, N.V. Pimenov

Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Skryabin,
23, ulitsa Akademika Skryabina, 109472, Moscow, Russian Federation

Moraxella is a bacteria that causes a number of diseases in both humans and animals. One of the most socially significant diseases that can be caused by this microorganism is keratitis. Numerous reports indicate that the rise of bacterial resistance to antibiotics is leading to an increase in cases of treatment ineffectiveness. Thus, our research highlights the potential of phage therapy in the fight against bacterial antibiotic resistance. *M. bovis* was isolated from the eyes of sick cows from various Russian farms. By isolating the phages vB_MboM_R2 and vB_MboM_W17 from wastewater, we were able to determine the morphology and biological characteristics of the tested phages. Our research led to the identification of two specific phages for *M. bovis*. These phages were classified into the Myoviridae family based on transmission electron microscopy. Phages also showed minimal reduction in activity at temperatures up to 40 °C and in alkaline environments. (pH 8). This work examines yet another tool in the inventory against such a serious disease as keratitis, which may increase interest in phage therapy as a complement and alternative to available antibiotics.

Keywords: *Moraxella*, *M. Bovis*, Myoviridae, phages, phage therapy.