

Elazığ Yöresinde Koyun ve Keçilerde *Theileria ovis* 'in Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Araştırılması

Münir AKTAŞ, Nazir DUMANLI, Kürşat ALTAY

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, Elazığ

ÖZET: Bu çalışma, Nisan – Ekim 2004 tarihleri arasında Elazığ yöresindeki küçük ruminantlarda *Theileria ovis*'in varlığının belirlenmesi amacıyla yapıldı. Farklı bölgelerdeki 15 sürüden, 103'ü koyun, 61'i keçi olmak üzere toplam 164 kan örneği ve ince yayma kan frotisi toplandı. Koyun ve keçi kanlarından ekstrakte edilen *T. ovis* piroplasm DNA'sı spesifik primerler kullanılarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile amplifiye edildi. Kan frotileri ise mikroskopta *Theileria* piroplasmaları yönünden incelendi. 103 koyun kanından ekstrakte edilen DNA'ların % 67,96'sında (70/103), 61 keçi kanından ekstrakte edilen DNA'ların ise % 1,63'ünde (1/61) *T. ovis*'in varlığını gösteren 520 baz çifti uzunluğunda pozitif amplifikasyon ürünü elde edildi. Kan frotilerinin mikroskopik muayenesinde 103 koyunun, % 38,83'ünde (40/103) *Theileria* spp. piroplasm formu tespit edilirken, keçilerin hiçbirinde bu etkene rastlanmadı. Mikroskopik bakı ile PZR sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu ($p<0.01$).

Anahtar kelimeler: *Theileria ovis*, PZR, Elazığ

Survey of *Theileria ovis* in Sheep and Goats in the Elazig Region Using the Polymerase Chain Reaction

SUMMARY: This study was carried out in order to investigate the presence of *Theileria ovis* in small ruminants in the Elazig region between April-October 2004. A total of 164 whole blood and thin blood smears (from 103 sheep and 61 goats) were collected from 15 flocks in different locations. *T. ovis* piroplasm DNA extracted from sheep and goats' blood was amplified by the polymerase chain reaction (PCR) using specific primers. Thin blood smears were examined for *Theileria* piroplasms by microscopic examination. In the examination of DNA extracted from 103 sheep and 61 goats, amplification with the molecular length 520 base pair was obtained in 67.96% (70/103) and 1.63% (1/61), respectively. In the microscopic examination of thin blood smears, *Theileria* spp. were observed in 40 out of 103 sheep (38.83%), but *Theileria* spp. were not seen in goats. The difference between microscopic examination and the PCR results was statistically significant ($p<0.01$).

Key words: *Theileria ovis*, PCR, Elazig

GİRİŞ

Theileriosis evcil ve yabani hayvanların protozoer bir hastalığı olup, tüm dünyada çiftlik hayvanlarında önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Koyun ve keçilerde theileriosis, *Theileria lestoquardi* (sin. *T. hirci*), *T. ovis* (sin. *T. recondita*), *T. separata* ve yeni tespit edilen *Theileria* sp. China 1'in neden olduğu (3, 15, 18, 19) ve hastalığın Ortadoğu, Akdeniz havzası, Güney Avrupa, Asya, Kuzey Afrika, Hindistan ve Çin'i içine alan geniş bir coğrafyada klinik ve subklinik enfeksiyonlar şeklinde görüldüğü bildirilmiştir (15, 21). Bu türlerden, *T. lestoquardi* ve *Theileria* sp. China 1'in sığırlardaki *T. parva* ve *T. annulata* gibi yüksek morbidite ve

mortaliteyle seyreden klinik (9, 13), *T. ovis* ve *T. separata*'nın ise subklinik enfeksiyonlara neden olduğu ifade edilmiştir (3, 15, 21).

Theileriosisin teşhisi, akut vakalarda klinik bulgular ve Giemsa ile boyanmış kan ve lenf yumrusu frotilerinin mikroskopik muayenesiyle yapılırken, latent enfeksiyonların saptanmasında uzun süre serolojik yöntemler kullanılmıştır. *Theileria* piroplasmalarının morfolojik yapıları benzer olduğundan, mikroskopik muayene ile tür ayırımının zor olduğu, bu türler arasında çapraz-reaksiyonların görülebilmesi, spesifik immün yanıtların zayıf olabilmesi ve uzun süreli portörlük durumunda antikorların her zaman tespit edilememesi gibi sebeplerden dolayı ile serolojik yöntemlerde yanlış pozitif ve negatif sonuçların söz konusu olabileceği ileri sürülmüştür (5, 7, 12). Moleküler biyolojik yöntemlerde katedilen gelişmelere paralel olarak, başta PZR olmak üzere,

kovensiyonel tekniklere göre daha yüksek özgülük ve duyarlılığa sahip çeşitli moleküler metotlar, pek çok paraziter hastalığın tanısı, tanımlanması ve tür ayırımlarının yapılmasında dünyada birçok ülkede kullanılmıştır (4, 18, 19, 20). Son yıllarda koyun ve keçilerde *Theileria* ve *Babesia* gibi kan protozoonlarının tanısında da bu metotların kullanıldığı görülmüştür (1, 4, 11, 14, 20).

Türkiye’de koyun ve keçilerde *Theileria* türlerini belirlemeye yönelik çalışmalar genellikle perifer kan frotilerinin mikroskopik bakısına göre yapılmış ve değişik bölgelerde theileriosis varlığı bildirilmiştir (6, 8, 10, 16, 17). Ancak gerek koyunlarda ve gerekse keçilerde klinik enfeksiyonun varlığı ile ilgili bir verinin yoktur (17). Subklinik enfeksiyonlara ise hangi *Theileria* türü ya da türlerinin neden olduğu tartışmalıdır. Son yıllarda yapılan moleküler çalışmalarla, Türkiye’de koyunlarda *T. ovis*’in varlığı kesin olarak belirlenmiştir (2, 4).

Bu çalışma ile, Elazığ yöresinde koyun ve keçilerde *Theileria ovis*’in varlığının mikroskopik bakı ve PZR yöntemleriyle araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Nisan – Ekim 2004 tarihleri arasında Elazığ merkez, Sivrice ve Baskil ilçeleri ve bu ilçelere bağlı köylerde değişik yaşta koyun ve keçiler üzerinde yürütülmüştür. Bu amaçla, 44’ü 1 yaşından küçük, 59’u 1 yaşından büyük 103 koyun ile; 32’si 1 yaşından küçük, 29’u 1 yaşından büyük 61 keçiden tekniğine uygun olarak EDTA’lı vakumlu tüplere 3 ml kan alınmıştır. Yaş grupları hayvanların hastalık sezonu geçirme sayısı (bir veya birden fazla hastalık sezonu geçiren) dikkate alınarak yapılmıştır. Bu kanlardan her hayvana ait sürme kan frotileri hazırlanmış ve numaralar verilerek protokolleri tutulmuştur. Frotiler metil alkolle tespit edildikten sonra Giemsa boyasıyla boyanarak, immersion objektifte, en az 100 mikroskop sahası taranarak, *Theileria spp.* Piroplazmaları yönünden incelenmiş ve bir piroplozomik formun görülmesi durumunda dahi frotiler pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Hayvanlardan alınan kanlardan total DNA ekstraksiyonu Altay ve ark. (4)’nın belirttikleri şekilde yapılmıştır. Kısaca, 125 µl kan, 250 µl lizis buffer (0.32 sucrose, 0.01 M Tris, 0.005 M MgCl₂, %1 Triton X – 100, pH 7.52) ile karıştırılarak 11.600 x g’de 1 dk. santrifüj edildikten sonra süpernatant atılmıştır. Bu işlem 3 defa tekrarlandıktan sonra elde edilen pelet üzerine 50 µl/ml proteinaz K içeren PCR buffer (50 mM KCl, 10mM Tris-HCl (pH 8), %1 Triton X – 100, pH 8.3)’dan 250 µl eklenmiş ve 56 °C’de 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonu takiben örnekler 95 °C 10 dk. kaynatılmış ve PZR yapıncaya kadar -20 °C’de muhafaza edilmiştir.

PZR testi, Altay ve ark. (4), tarafından geliştirilen ve *T. ovis*’in SSU rRNA geninin 520 bp’lik bölümünü amplifiye eden TSsr 170F (5’ – TCGAGACCTTCGGGT – 3’) ve TSsr 670R (5’ –

TCCGGACATTGTAACAAA – 3’) primerleri kullanılarak, 50 µl toplam hacimde yapılmıştır. Bu amaçla, 2,5 µl (20 pm/µl) primer (İontek), 125 µM dNTP (Promega), 1,25 U Taq DNA polymerase (Fermantase), 5 mM MgCl₂ (Fermantase), 1X PCR Buffer (Fermantase) ve 5 µl hedef DNA kullanılmıştır. PZR karışımına 30 µl mineral yağ damlatıldıktan sonra reaksiyon, 96 °C 3 dk. ilk denaturasyondan sonra 30 siklus olarak yapılmış ve her siklus 94 °C’de 30 sn. denaturasyon, 55 °C’de 30 sn. hibridizasyon ve 72 °C’de 2 dk. sentez aşamasından oluşmuştur. Son aşamada ayrıca 72 °C’de 10 dakikalık bir ekstensiyon yapılmıştır. Oluşan ürünler %1.6’lık agaroz jelde yürütülerek ethidium bromide ile boyanıp, UV transilluminatörde spesifik bantların varlığı izlenmiştir.

PZR testinde pozitif kontrol olarak, Fırat Üniversitesi Parazitoloji Anabilim Dalında bulunan, daha önce SSU rRNA geninin sekansı yapılarak *T. ovis* olduğu tespit edilmiş Erzincan koyun izolatına ait DNA kullanılmıştır.

Sonuçlar arasındaki farklılıklar, ChiSquare testi kullanılarak karşılaştırılmış ve %5 (0.05) düzeyindeki bir farklılık istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir.

BULGULAR

Elazığ yöresinde koyun ve keçi kanlarından ekstrakte edilen DNA’ların *T. ovis* spesifik primerler (TSsr 170F / TSsr 670R) kullanılarak yapılan PZR analizi sonucunda, incelenen 103 koyun ve 61 keçinin sırası ile 70’inde (%67,96) ve birinde (%1,63) beklenen ölçülerde (520 bp) pozitif amplifikasyon ürünü elde edilmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. *Theileria ovis* spesifik TSsr 170F ve TSsr 670R primerleri ile yapılan PZR’da elde edilen 520 bp’lik ürünlerin etidium bromide ile boyalı agar jel elektroforezde görünümü. M: marker (100 bp’lik), 1. Pozitif kontrol, 2. Negatif kontrol (distile su), 3-11. Sahadan toplanan örnekler.

Mikroskopik bakı ve PZR ile *Theileria* enfeksiyonu yönünden incelenen 103 koyun ve 61 keçiden elde edilen pozitiflik durumu tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Elazığ yöresinde theileriosis yönünden incelenen koyun ve keçilerde mikroskopik bakı ve PZR sonuçları.

| | Mikroskopik bakı | | | PZR | | |
|---------------|------------------|----------------------|-------|------|----------------------|-------|
| | Sayı | Pozitif Örnek sayısı | % | Sayı | Pozitif Örnek sayısı | % |
| Koyun | 103 | 40 | 38,83 | 103 | 70 | 67,96 |
| Keçi | 61 | 0 | 0 | 61 | 1 | 1,63 |
| Toplam | 164 | 40 | 24,39 | 164 | 71 | 43,29 |

Tablo 1'den anlaşılacağı gibi kan frotilerinin mikroskopik bakısında 103 koyunun 40'ında (%38,83) *Theileria spp.* tespit edilirken, 61 keçinin hiçbirinde etkene rastlanmamıştır. PZR analizinde ise 103 koyunun 70'inde (%67,96), 61 keçinin birinde (%1,63), *T. ovis* tespit edilmiş ve bu etkenden kaynaklanan theileriosisin keçilere göre koyunlarda çok daha yaygın olduğu görülmüştür. Toplam 164 hayvanın, mikroskopik bakıyla 40'ında (%24,39), PZR ile 71'inde (%43,29) *Theileria* enfeksiyonu belirlenmiştir. PZR *Theileria ovis*'in belirlenmesinde daha duyarlı olurken, iki testin sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$). Mikroskopik bakı ile pozitif bulunan 40 örneğin hepsinde PZR ile de amplifikasyon ürünü elde edilmiştir.

Mikroskopik bakı ve PZR ile *Theileria* enfeksiyonu yönünden kontrol edilen 103 koyun ve 61 keçideki pozitiflik durumunun yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Yaş gruplarına göre mikroskopik bakı ve PZR ile pozitiflik durumu.

| Yaş grupları | Numune sayısı | Mikroskopi pozitif | % | PZR pozitif | % |
|---------------|---------------|--------------------|-------|-------------|-------|
| <1 | 76 | 12 | 15,78 | 20 | 26,31 |
| 1< | 88 | 28 | 31,81 | 51 | 57,95 |
| Toplam | 164 | 40 | 24,39 | 71 | 43,29 |

Tablo 2'den izlenebileceği gibi mikroskopik bakı ile 1 yaşından küçük 76 hayvanın 12'sinde (%15,78), 1 yaşından büyük 88 hayvanın 28'inde (%31,81) *Theileria spp.* tespit edilmiştir. Aynı gruplarda PZR'nda ise sırası ile 20 (%26,31) ve 51 (%57,95) hayvanda *T. ovis* tespit edilmiştir.

Yaş grupları arasında pozitiflik yönünden yapılan istatistiksel değerlendirmede bir yaşından küçük grup ile bir yaşından büyük grup arasında gerek mikroskopik bakı ve gerekse PZR ile elde edilen farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0.05$).

Mikroskopik bakı ve PZR sonuçlarının karşılaştırılması tablo 3'te verilmiştir. Her iki testin en az biri ile, 164 örneğin 71'inde pozitif sonuç alınmıştır. İki test birlikte 40 örnekte pozitif, 93 örnekte negatif sonuç vermiştir. PZR pozitif, mikroskopi negatif örnek sayısı 31'iken, mikroskopi pozitif, PZR negatif örnek bulunmamaktadır. PZR esas alındığında mikroskopik bakının duyarlılığı %56,33 olarak bulunmuştur.

Tablo 3. Mikroskopik bakı ve PZR sonuçlarının karşılaştırılması.

| | Mikroskopik bakı | PZR | |
|--|------------------|------|------|
| | | Poz. | Neg. |
| | | 40 | 0 |
| | | 31 | 93 |

TARTIŞMA

Koyun ve keçilerde theileriosis'e neden olan türlerin Ortadoğu, Akdeniz havzası, Güney Avrupa, Asya, Kuzey Afrika, Hindistan ve Çin'i içine alan geniş bir coğrafyada klinik ve subklinik enfeksiyonlar oluşturdukları bildirilmiştir (3, 13, 15, 19, 21). Patojenite, vektör kene, coğrafik yayılış ve biyolojik özellikler bakımından önemli farklılıklar gösteren bu türlerden bazılarının (*T. lestoquardi*, *Theileria sp.* China 1) yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden klinik, diğer bazı türlerin (*T. seperata*, *T. ovis*) ise subklinik enfeksiyonlara neden olduğu ifade edilmiştir (3, 9, 13, 21).

Türkiye'de koyun ve keçi theileriosisi ile ilgili yeterli araştırma yapılmamıştır. Mikroskopik bakı temeline dayalı çalışmalarda enfeksiyonun Kayseri yöresinde (10), koyunlarda %18,44, keçilerde %6 ; İç Anadolu bölgesinde (6), koyunlarda %59,7, keçilerde %31,1 ; Malatya ve Güneydoğu Anadolu'nun bazı illerinde (16), koyun ve keçilerde %1 - 4 oranında yaygın olduğu bildirilmiştir. Elazığ yöresinde koyun ve keçilerde yapılan bu çalışmada, kan frotilerinin mikroskopik bakısında keçilerde piroplasm formu tespit edilemezken, koyunların %38,83'ünün *Theileria* piroplasmaları ile enfekte oldukları belirlenmiştir. Bütün bu sonuçlar, farklı endemik özelliklere sahip bölgelerde hastalığın prevalansında değişiklik olmakla beraber, koyun ve keçilerde *Theileria* enfeksiyonunun Türkiye'nin hemen her bölgesinde yaygın olduğunu göstermektedir.

Theileriosisin teşhisi, akut vakalarda klinik bulgular, Giemsa ile boyanmış lenf ve kan frotilerinin mikroskopik muayenesi ile yapılabilmektedir. Ancak subklinik enfekte hayvanların sürme kan frotilerinde etkenlerin eritrositler içindeki piroplasmik formlarının tespiti oldukça zor ve zaman alıcıdır. *Theileria* türlerinin morfolojik yapıları benzer olduğundan, mikroskopik bakı ile tür identifikasyonu yapılamamaktadır. Theileriosis'e neden olan türün identifikasyonu, patojenitesi ve vektör kenenin belirlenmesi, enfeksiyona karşı oluşturulacak kontrol stratejilerinin geliştirilmesinde önemlidir. Türkiye'de koyun ve keçilerde theileriosis ile ilgili son yıllara kadar

yapılan araştırmalar mikroskopik bakı temelinde dayandığı için, enfeksiyona hangi *Theileria* türü ya da türlerinin neden olduğu tartışmalıdır. Bu türün, *T. ovis* olduğu ifade edildiği gibi (6), keçilerdeki parazitin *T. hirci*'ye benzediği de ileri sürülmüştür (8). Diğer bazı araştırmalarda ise koyun ve keçilerde theileriosis'e neden olan bu parazitin *Theileria spp.* olarak ifade edildiği görülmüştür (10, 16). Ancak son yıllarda Türkiye'de konu ile ilgili moleküler düzeyde yapılan araştırmalarda koyun ve keçilerde *T. ovis*'in varlığı ortaya konmuştur (1, 2, 4). Altay ve ark. (2004), *T. ovis* ile diğer *Theileria* türlerini identifiye eden spesifik primerler dizayn ederek, Nested PZR metodu geliştirmişler ve Doğu ve Güneydoğu Anadolu'nun bazı illerinde sahadan topladıkları koyun kanlarının %54,3'ünde *T. ovis* DNA'sını amplifiye etmişlerdir. Aynı primerler (TSsr 170F / TSsr 670R) kullanılarak yapılan bu araştırmada Elazığ bölgesinde 103 koyun ve 61 keçiden oluşan toplam 164 hayvanın 71'inde (%43,29) *T. ovis* tespit edilmiştir.

Bu araştırmada, PZR ile 103 koyunun 70'i (%67,96), 61 keçinin biri (%1,63) *T. ovis* ile enfekte bulunmuş ve *T. ovis*'in koyunlarda keçilere göre çok daha yüksek oranlarda bulunduğu görülmüştür. Yine bu araştırmada, *T. ovis* enfeksiyonunun gençlere oranla yaşlılarda daha yüksek bulunduğu ve yaş grupları arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önem arzettiği ($p<0,05$) belirlenmiştir.

Koyun ve keçilerde kan protozoonlarının belirlenmesine yönelik yapılan karşılaştırmalı çalışmaları, PZR'nun konvensiyonel tekniklere göre, portör hayvanların belirlenmesinde çok daha duyarlı ve özgül olduğunu göstermiştir (4, 14). *Theileria* enfeksiyonunun tespiti amacıyla yapılan bu çalışmada, mikroskopik bakı ile 103 koyunun 40'ında (%38,83) pozitiflik belirlenirken, PZR ile aynı koyunların 70'inin (%67,96) pozitif olduğu, mikroskopi pozitif 40 örneğin hepsinin PZR ile de pozitif, PZR pozitif 31 örneğin ise mikroskopi negatif olduğu ve subklinik enfekte hayvanların belirlenmesinde PZR'nun mikroskopik bakıya göre daha duyarlı olduğu belirlenmiştir. Zira bu çalışmada kullanılan *T. ovis* spesifik primerlerin, %0,0001 düzeyindeki parazitemiyi tespit ettiği belirtilmiştir (4).

Sonuç olarak, mikroskopik bakı ve PZR ile Elazığ bölgesinde koyun ve keçilerde *Theileria* enfeksiyonunun varlığı belirlenmiş olup, enfeksiyona neden olan *Theileria* türünün *T. ovis* olduğu, bu parazitin koyunlarda keçilere göre, yaşlı hayvanlarda gençlere göre daha yüksek oranlarda bulunduğu, portör hayvanların tespitinde PZR metodunun mikroskopik bakıya göre daha avantajlı olduğu ortaya çıkmıştır.

KAYNAKLAR

1. Aktaş M, Altay K, Dumanlı N, 2004. Survey of *Theileria* parasites of sheep in Eastern Turkey using polymerase chain reaction.
2. Aktaş M, Altay K, Dumanlı N, Bendele KG, Holman PJ, 2004. Small subunit rRNA gene sequence analysis of *Theileria* spp. infecting sheep and cattle in Turkey. (Texas Agricultural Experiment Station Project No. H6261).
3. Alani AJ, Herbert IV, 1988. Pathogenesis of infection with *Theileria rceondita* (Wales) isolated from *Haemaphysalis punctata* from North Wales. *Vet Parasitol.*, 28 (4): 293-301.
4. Altay K, Dumanlı N, Holman PJ, Aktaş M, 2004. Detection of *Theileria ovis* in naturally infected sheep by nested PCR. *Vet Parasitol*, (baskıda).
5. Burridge MJ, Brown CG, Kimber CD, 1974. *Theileria annulata*: cross-reactions between a cell culture schizont antigen and antigens of East African species in the indirect fluorescent antibody test. *Exp Parasitol*, 35: 378-380.
6. Göksu K, 1967. Yerli koyunlarımızda *Babesidae* ve *Theileridae*'nin epizootiyolojik durumlarıyla biyolojilerine dair araştırmalar. (Epizootiological studies on *Theileria* spp. and *Babesia* spp. in local sheep). *Ank Univ Vet FakYay.*, s.205.
7. Gubbels MJ, d'Oliveira C, Jongejan F, 2000. Development of an indirect Tams1 enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of *Theileria annulata* infection in cattle. *Clin Diag Lab Immunol*, 7 (3): 404-411.
8. Hoffmann G, Horchner F, Schein E, Gerber E, 1971. Saisonales auftreten von zecken und piroplasmen bei haustieren in der asiatischen provinzen der Turkei. *Berl Munch Tierarztl Wschr.*, 84: 152-156.
9. Hoosmand-Rad P, Hawa NJ, 1973. Malignant theileriosis of sheep and goats. *Trop Anim Health Prod*, 5: 103-109.
10. İnci A, Nalbantoğlu S, Çam Y, Atasever A, Karaer Z, Çakmak A, Sayın F, Yukarı BA, İça A, Deniz A, 2003. Kayseri yöresinde koyun ve keçilerde theileriosis ve kene enfestasyonları. *Turk J Vet Anim Sci*, 27: 57-60.
11. Kirvar E, İlhan T, Katzer F, Wilke G, Hoosmand-Rad P, Brown D, 1998. Detection of *Theileria lestoquardi* (*hirci*) in ticks, sheep and goats using the polymerase chain reaction. *Ann NY Acad Sci*, 849: 52-61.
12. Leemans I, Brown D, Hoosmand - Rad P, Kirvar E, Uggla A, 1999. Infectivity and cross-immunity studies of *Theileria lestoquardi* and *Theileria annulata* in sheep and cattle I. *In vivo* response. *Vet Parasitol*, 82(3): 179-192.
13. Luo J, Yin H, 1997. Theileriosis in sheep and goats in China. *Trop Anim Health Prod*, 29: 8-10.
14. Nagore D, Garcia-Sanmartin J, Garcia-Perez AL, Juste RA, Hurdato A, 2004. Identification, genetic diversity and prevalence of *Theileria* and *Babesia* species in a sheep population from Northern Spain. *Int J Parasitol*, 34 (9): 1059-1067.
15. Norval RAI, Perry BD, Young AS, 1992. *The epidemiology of Theileriosis in Africa*. London: Academic Pres.
16. Özer E, Erdoğmuş SZ, Köroğlu E, 1993. Malatya ve Güneydoğu Anadolu illerinde sığır, koyun ve keçilerde bulunan kan parazitleri ve yayılışları. *Doğa-Tr J of Vet. Anim Sci*, 17: 209-215.

17. **Sayın F, Dinçer Ş, Karaer Z, Çakmak A, Yukarı BA, Eren H, Değer S, Nalbantoğlu S**, 1997. Status of the tick-borne diseases in sheep and goats in Turkey. *Parasitologia*, 39(2): 153-156.
18. **Schnittger L, Yin H, Gubbels MJ, Beyer D, Niemann S, Jongejan F, Ahmed JS**, 2003. Phylogeny of sheep and goat *Theileria* and *Babesia* parasites. *Parasitol Res*, 91 (5): 398-406.
19. **Schnittger L, Yin H, Jianxun L, Lugwing W, Shayan P, Rahbari S, Voss-Holtmann A, Ahmed JS**, 2000. Ribosomal small-subunit RNA gene-sequence analysis of *Theileria lestoquardi* and a *Theileria* species highly pathogenic for small ruminants in China. *Parasitol Res*, 86 (2): 352-358.
20. **Schnittger L, Yin H, Qi B, Gubbels MJ, Beyer D, Niemann S, Jongejan F, Ahmed JS**, 2004. Simultaneous detection and differentiation of *Theileria* and *Babesia* parasites infecting small ruminants by reverse line blotting. *Parasitol Res*, 92 (3): 189-196.
21. **Uilenberg G**, 1981. Theilerial species of domestic livestock. Irvın AD, Cunningham MP ve Young AS. eds. *Advances in the control of theileriosis*. Martinus Nijhoff Publishers.