

**YEŞİLHISAR YÖRESİNDEKİ KOYUN VE KEÇİLERDE *BABESIA*
ETKENLERİNİN REVERSE LINE BLOTTING (RLB)
YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI***

**Investigation of the *Babesia* Agents in Sheep and Goats by the Reverse Line Blotting
Hybridization Method Around Yeşilhisar**

**Hülya SARAYLI¹, Abdullah İNCİ², Anıl İÇA³, Alparslan YILDIRIM³,
Önder DÜZLÜ⁴**

Özet: Bu çalışma Kayseri Yeşilhisar yöresindeki koyun ve keçilerde, Reverse Line Blotting (RLB) testi ve mikroskopik bakı ile *Babesia* türlerinin prevalansını tespit etmek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla Yeşilhisar merkez ve köylerinden rastgele seçilen sağlıklı 200 koyun ve 100 keçi olmak üzere toplam 300 küçük ruminanttan EDTA'lı tüplere kan alınmıştır. Kanlar RLB testi ile Catch-all, *Babesia ovis* ve *Theileria ovis* yönünden incelenmiştir. Aynı zamanda bu hayvanlardan perifer kan frotileri hazırlanarak mikroskopik muayenesi yapılmıştır. Mikroskopik muayene ile 200 koyunun 28'inde (%14) ve 100 keçinin 5'inde (%5) toplam 300 hayvanın 33'ünde (%11) piroplasmik form görülmüştür. Bunların 9'unda (%27,3) *Babesia* spp. ve 24'ünde (%72,7) *Theileria* spp. tespit edilmiştir. RLB ile incelenen 200 koyunun 99'unda (%49,5) ve 100 keçinin 18'inde (%18) olmak üzere toplam 300 küçük ruminantın 117'sinde (%39) Catch-all pozitiflik saptanmıştır. Catch-all pozitif 99 koyunun 91'inde (%92) *T. ovis*, 3'ünde (%3) *B. ovis* ve 5'inde (%5) miks (*B. ovis*+*T. ovis*); 18 Catch-all pozitif keçinin 15'inde (%83,3) *T. ovis*, 1'inde (%5,6) *B. ovis* ve 2'sinde (%11,1) miks (*B. ovis*+*T. ovis*) enfeksiyon bulunmuştur. Toplam 117 Catch-all pozitifin 4'ünde (%3,4) *B. ovis*, 106'sında (%90,6) *T. ovis* ve 7'sinde de (%6) *B. ovis*+*T. ovis* (miks) tespit edilmiştir. Sonuç olarak koyun ve keçilerde *Theileria* ve *Babesia* türlerinin moleküler prevalansı, *B. ovis* için koyunlarda %4 (8/200), keçilerde %3 (3/100) ve toplamda %3,7 (11/300); *T. ovis* için koyunlarda %48 (96/200), keçilerde %17 (17/100) ve toplamda %37,6 (113/300) tespit edilmiştir. *Babesia motasi* ve *B. crassa*'ya ise rastlanamamıştır.

Anahtar kelimeler : RLB, Catch-all, *Babesia* spp

Summary: This study was carried out to detect *Babesia* spp. prevalence by Reverse Line Blotting (RLB) test and microscopic examination on sheep and goats around Yeşilhisar in Kayseri region. For this purpose, the blood samples were randomly collected into the tubes with EDTA from a total of 300 healthy small ruminants that consisted of 200 sheep and 100 goats in Yeşilhisar its and vicinity. Blood samples were investigated against Catch-all, *Babesia ovis* and *Theileria ovis* using RLB test. In addition, peripheral blood smears were prepared and examined under the microscope. In the microscopic examination, piroplasms were determined in 28 (14%) of 200 sheep, 5 (5%) of 100 goats and totally 33 (11%) of 300 small ruminants. It was also determined that 9 (27.3%) of them had *Babesia* spp. and 24 (72.7%) of them had *Theileria* spp. In 300 small ruminants, Catch-all positive was found in 99 (49.5%) of 200 sheep and 18 (18%) of 100 goats, totally 117 (39%) of 300 using RLB. It was determined *T. ovis* in 91 (92%), *B. ovis* in 3 (3%) and *B. ovis*+*T. ovis* in 5 (5%) of 99 Catch-all positive sheep. *Theileria ovis*, *B. ovis* and *B. ovis*+*T. ovis* were found in 15 (83.3%), in 1 (5.6%) and in 2 (11.1%) of 18 Catch-all positive goats respectively. Totally, it was detected *B. ovis* in 4 (3.4%), *T. ovis* in 106 (90.6%) and *B. ovis*+*T. ovis* in 7 (6%) of 117 Catch-all positive small ruminants. As a result, molecular prevalence was determined in sheep 4% (8/200), in goats 3% (3/100) and in the total 3.6% (11/300) for *B. ovis*; in sheep 48% (96/200), in goats 17% (17/100) and in the total 37.6% (113/300) for *T. ovis*, but *B. motasi* and *B. crassa* were not found in this study.

Key words : RLB, Catch-all, *Babesia* spp

¹ Bilim Uz.Erciyes Ün.Sağlık Bil.Ens.Vet.Parazit.AD, Kayseri

² Prof.Dr.Erciyes Ün.Vet.Fak.Parazitoloji AD, Kayseri

³ Yrd.Doç.Dr.Erciyes Ün.Vet.Fak.Parazitoloji AD, Kayseri

⁴ Araş.Gör.Erciyes Ün.Vet.Fak.Parazitoloji AD, Kayseri

* Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından SBT 06-03 nolu proje ile desteklenmiştir.

Babesiosis *Apicomplexa* anacındaki *Babesia* türlerinin meydana getirdiği, tropik ve subtropik bölgelerde evcil ve yabani hayvanlarda yaygın olarak görülen protozoer bir kan hastalığıdır. Bu kan protozoonları, heteroksen olup omurgalı hayvanların eritrositleri içerisinde gelişmelerini tamamladıktan sonra *Ixodidae* ailesindeki vektör kenelerde gelişmelerini sürdürürler ve biyolojik olarak nakledilirler (1). Koyun ve keçilerde babesiosis; *Babesia ovis*, *B. motasi* ve *B. crassa*'nın neden olduğu bir hastalıktır. Hastalık, Türkiye'de bilhassa koyunlarda çok yaygın olup; halk tarafından ağrı, ağırma, zerk, sıtma ve kan işeme olarak isimlendirilmektedir (2).

Babesia ovis pozitifliği, Türkiye'nin çeşitli yörelerinde mikroskopik bakı ile araştırılmış (2-7) ve prevalans %40-%67 arasında bildirilmiştir. Kayseri yöresindeki koyun ve keçilerde yapılan mikroskopik incelemede *B. ovis* pozitifliği; koyunlarda %17,70, keçilerde %6,38 olarak rapor edilmiştir (8). *Babesia ovis*'in Türkiye'deki seroprevalansının %42,12-%91,02 arasında değiştiği bildirilmiştir (9-16). Van yöresinde yapılan mikroskopik bir çalışmada, *B. motasi*'nin varlığı rapor edilmiştir (6). Diğer taraftan bugüne kadar Türkiye'de *B. crassa*'nın varlığı ile ilgili bir yayına rastlanmamıştır.

Theileria, *Babesia* ve *Plasmodium* gibi protozoon türlerinin serolojik teşhisinde çapraz reaksiyonların görülmesi (17), mikroskopik bakıda paraziteminin düşük olduğu durumlarda negatif sonuçlarla karşılaşılması, bazen piroplasmik formların görülmesine rağmen antikorların saptanamaması gibi dezavantajlar dikkate alınarak, son yıllarda daha duyarlı ve daha özgün teşhise imkan sağlayan moleküler teşhis yöntemlerinin [Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) gibi] kullanılmasına başlanmıştır (18-21). PZR kullanılması durumunda, her hastalık etkeni için ayrı ayrı testlerin yapılması gerektiğinden bu durum hem zaman açısından, hem de ekonomik açıdan kayıplara neden olmaktadır. Bu kayıpların giderilmesi amacıyla bir defada birden fazla parazit türünün teşhisine olanak sağlayan ve aynı zamanda PZR'ye göre daha duyarlı olan Reverse Line Blotting (RLB) yöntemi geliştirilmiştir (22-25).

Bu teknik ile Türkiye'de koyunlarda ilk defa Kayseri yöresinde yapılan bir çalışmada, %2,6 oranında *B. ovis*, % 5,1 oranında da *T. ovis* + *B. ovis* miks enfeksiyonu tespit edilmiştir (26).

Bu çalışma ile Kayseri'nin Yeşilhisar yöresinde klinik belirti göstermeyen koyun ve keçilerde *Babesia* türlerinin mikroskopik muayene ve RLB testi ile eş zamanlı teşhisi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ixodidae ailesinde yer alan birçok vektör kenenin Yeşilhisar yöresinde yaygın olarak görüldüğünün ortaya konmuş (27) olması ve yılın her mevsiminde ulaşım olanağının mevcudiyeti dolayısıyla Yeşilhisar ilçesi ve bazı köyleri çalışma sahası olarak tercih edilmiştir. Yeşilhisar ilçesinde (köyler dahil) 17.700 baş küçük ruminant mevcuttur (28). Türkiye'de daha önce 509 koyun üzerine yapılan bir saha çalışmasında (13) saptanan %79 seropozitiflik değeri, referans kabul edilerek NCS ve PASS programında a=0.05, b=0.80, d=0.08 durumunda n değerinin 295 alınması hesaplanmış olup bu çalışmaya da 300 örnek dahil edilmiştir. Gerekli materyali toplamak amacıyla Yeşilhisar ve bazı köylerinde mevcut 36 sürünün 18'inde klinik belirti göstermeyen ve sağlıklı görünen hayvanlardan rastgele 200 koyun ile 100 keçi seçilmiştir. Örnekleme alınan koyunların ilçe merkezi ve köylere göre dağılımı Tablo I'de gösterilmiştir.

Örnek seçilen koyun ve keçilerin vena jugularisinden RLB için EDTA'lı tüplere, tekniğine uygun olarak kan alınmıştır. Ayrıca mikroskopik bakı için aynı hayvanların kulak ve kuyruk uçlarından perifer kan frotileri hazırlanmıştır.

Mikroskopik muayene için perifer kandan hazırlanan frotiler havada kurutulduktan sonra, metil alkolde 5 dakika tutularak tespit edilmiştir. Tespit edilen frotiler % 5'lik Giemsa boya solüsyonu ile oda ısısında 30 dakika boyanmış, boyanan frotiler distile su ile yıkanıp kurutulduktan sonra immersiyon yağı damlatılarak mikroskopun 100'lük objektifi altında *Babesia* ve *Theileria* türleri yönünden incelenmiştir.

Tablo I. Örnekleme alınan koyunların ilçe merkezi ve köylere göre dağılımı

Araştırma Merkezi	Mevcut Sürü Sayısı (Ağıl Sayısı)	Seçilen Sürü Sayısı (Ağıl Sayısı)	Mevcut Hayvan Sayı		İncelenen Hayvan Sayısı	
			Koyun	Keçi	Koyun	Keçi
Yeşilhisar Merkez	10	3	5000	500	45	20
İçmece	1	1	120	12	10	5
Musahacılı	5	2	2020	66	20	9
Çiftlik	2	2	600	40	20	15
Kuşçu	1	1	40	4	20	4
Yeşilova	2	2	386	50	20	20
Soğanlı	2	2	600	6	5	3
Güzelöz	8	3	2500	150	40	15
Buket	5	2	1300	29	20	9
Toplam	36	18	12566	857	200	100

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) uygulamasında parazit DNA'sının elde edilmesi için EDTA'lı tüplere alınarak +4 °C'de saklanan kanlar kullanılmıştır. DNA ekstraksiyon işlemi d'Oliveira ve ark. (20) ile Gubbels ve ark. (22)'nin bildirdiği şekilde yapılmıştır.

Reaksiyonda primer olarak *Theileria* ve *Babesia* soylarındaki parazitlerin 18S ssr RNA (small subunit ribozomal RNA) geninin değişken V4 bölgesinden büyüklüğü 460 ile 520 bp (baz çifti) arasında değişen bir parçayı amplifiye eden genel primerler (RLBF₂ 5'GAC ACA GGG AGG TAG TGA CAA G'3 ve RLBR₂ Biotinle işaretli 5'-TCT TCG ATC CCC TAA CTT TC-3') kullanılmıştır (22,23).

Reverse Line Blotting (RLB) yöntemi için RLB membranının hazırlanması işleminde kullanılan problemler Tablo II'de gösterilmiştir. Tamamı negatif yüklü Biotin C membrana kovalent bağlanabilmeleri amacıyla, 5'- uçlarında amino grubu N terminal N-(Trifluoracetamidohexyl-cyanoethyl, N,N-diisopropyl phosporamidite (=TFA)-C₆ aminolinker) içerecek şekilde sentezletirilmiştir

Membran hazırlanması ve hibridizasyon işlemi Georges ve ark. (23), Gubbels ve ark. (22)'nin bildirdiği şekilde yapılmıştır.

Değerlendirme de filmler üzerinde prob ve PZR ürünlerinin döküldüğü sıraların kesiştiği yerlerde meydana gelen siyah lekeler pozitif olarak kabul edilmiştir.

Testlerin sonuçları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemliliği Pearson's Chi-Square ve Fisher's Exact Testleriyle incelenmiş ve istatistiksel testler için SPSS 10,0 programından yararlanılmıştır.

BULGULAR

Toplam 300 adet perifer kan frotisinin mikroskopik sonuçları Tablo III'de gösterilmiştir. Tablo III'de gösterildiği gibi 300 frotinin 33'ünde (%11) piroplasm saptanmıştır. Pozitif saptanan 33'ün 24'ü (%72,7) *Theileria* spp. ve 9'u (%27,3) *Babesia* spp. olarak teşhis edilmiştir.

Tablo II. Çalışmada kullanılan problemlerin 5'-3' dizilişi

Prob	Dizilişi (5' - 3')	Kaynaklar
Catch-all	TAATGGTTAATAGGA(AG)C(AG)GTTG	Gubbels ve al. 1999 (22)
<i>Theileria</i> spp.	TGATGGGAATTTAAACC(CT)CTTCCA	Nagora et al. 2004 (24)
<i>T. ovis</i>	TTTTGCTCCTTTACGAGTCTTTGC	Nagora et al. 2004 (24)
<i>Babesia</i> spp.	CCT(GT)GGTAATGGTTAATAGGAA	Schnittger et al. 2004 (29).
<i>B. motasi</i>	ATTGGAGTATTGCGCTTGCTTTTT	Nagora et al. 2004 (24)
<i>B. crassa</i>	TTATGGCCCGTTGGCTTAT	Schnittger et al. 2004 (29)

T: thymine; A:adenine; C:cytosine; G:guanine

Üç yüz küçük ruminantın RLB testi ile incelenen kan örneklerinden elde edilen sonuçlar Tablo IV'te gösterilmiştir. RLB sonucunda 200 koyunun 99'unda (%49,5) ve 100 keçinin 18'inde (%18) olmak üzere, toplam 300 küçük ruminantın 117'sinde (%39) Catch-all pozitiflik bulunmuştur. Catch-all pozitif bulunan 99 koyunun 91'inde (% 92) *T. ovis*, 3'ünde (%3) *B. ovis* ve 5'inde de (%5) *B. ovis*+*T. ovis* (miks enfeksiyon) tespit edilmiştir. Catch-all pozitif 18 keçinin 15'inde (%83,3) *T. ovis*, 1'inde (%5,6) *B. ovis* ve 2'sinde de (%11,1)

B. ovis +*T. ovis* (miks enfeksiyon) saptanmıştır. Toplam 117 Catch-all pozitifin 4'ünde (%3,4) *B. ovis*, 106'sında (%90,6) *T. ovis* ve 7'sinde de (%6) *B. ovis*+*T. ovis* miks bulunmuştur.

Yeşilhisar yöresinde koyun ve keçilerde *Theileria* ve *Babesia* türlerinin moleküler prevalansı, *B. ovis* için koyunlarda %4 (8/200), keçilerde %3 (3/100) ve toplamda % 3,7 (11/300); *T. ovis* için koyunlarda %48 (96/200), keçilerde %17 (17/100) ve toplamda %37,6 (113/300) olarak tespit edilmiştir. *Babesia motasi* ve *B. crassa* ise saptanamamıştır.

Tablo III. Mikroskobik muayene ile Yeşilhisar yöresinde koyun ve keçilerde tespit edilen piropiasm enfeksiyonlarının prevalansı

İncelenen Hayvanın		Piroplasm		Sonuç		<i>Theileria</i> spp.	
Türü	Sayısı	Piroplasm	%	<i>Babesia</i> spp.	%	<i>Theileria</i> spp.	%
Koyun	200	28	14,0	8	4,0	10,0	10,0
Keçi	100	5	5,0	1	1,0	4,0	4,0
Toplam	300	33	11,0	9	3,0	24,0	8,0

* Fisher's Exact Test

Tablo IV. Yeşilhisar yöresinde RLB ile tespit edilen türlerin moleküler prevalansı

Tür	Sayısı	Catch-all (+)	%	<i>T. ovis</i>		<i>B. ovis</i>		<i>B. ovis</i> + <i>T. ovis</i>		Toplam			
				Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	<i>T. ovis</i>		<i>B. ovis</i>	
				Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Koyun	200	99	49,5	91	91,9	3	3,0	5	5,0	96	48	8	4
Keçi	100	18	18,0	15	83,3	1	5,6	2	11,1	17	17	3	3
Toplam	300	117	39,0	106	90,6	4	3,4	7	6,0	113	37,6	11	3,7
				$X^2 = 27,806$ P< 0,001		*P= 0,372		*P=0,492		$X^2 = 27,287$ P<0,001		*P=0,757	

* Fisher's Exact Test

TARTIŞMA

Koyun ve keçilerde babesiosis dünyada (1) ve Türkiye'de (4) yaygındır. Hastalığın teşhisi, vektör kenelerin aktif olduğu mevsimlerde klinik semptomlarla seyirli akut olgularda, perifer kandan hazırlanan frotilerin mikroskopik muayenesi ile subklinik enfeksiyonlarda ise serolojik testler ve nükleik asit tabanlı moleküler biyolojik yöntemlerle mümkündür.

Türkiye'nin çeşitli yörelerinde babesiosis'in prevalansı mikroskopik olarak, koyunlar için % 0,42-67 arasında (2-8), keçiler için %6,38-30 (7,8); serolojik olarak koyunlarda %22,1-91,02 (9-16), keçilerde %86,48 (15) bildirilmiştir. Van yöresinde yapılan bir çalışmada rapor edilen *B. motasi* (6) hariç, diğer çalışmaların tamamında babesiosis etkeni olarak *B. ovis* tespit edilmiş olup sonuçlar birbirine benzerlik göstermiştir.

Theileria, *Babesia* ve *Plasmodium* gibi protozoon türlerinin serolojik teşhisinde çapraz reaksiyonların görülmesi (17), mikroskopik bakıda paraziteminin düşük olduğu durumlarda negatif sonuçlarla karşılaşılması, bazen piroplasmik formların görülmesine rağmen antikorların saptanamaması gibi dezavantajlar dikkate alınarak, son yıllarda daha duyarlı ve daha özgün teşhise imkan sağlayan moleküler teşhis yöntemlerinin kullanılması yaygınlaşmıştır. Bu moleküler teşhis yöntemlerinden PZR (18-21) ve RLB (22-24,29) ile *Babesia* türlerinin duyarlı ve özgün biçimde teşhisi mümkündür.

İspanya'da koyunlarda RLB ile yapılan bir saha çalışmasında, *Theileria* ve *Babesia* türlerinin prevalansı; *Theileria* spp. OT1 %46,8, *Theileria* spp. OT3 %46,6, *T. ovis* %18, *B. ovis* %2,5 ve *B. motasi* %2 bulunmuş, *T. lestoquardi* ve *B. crassa*'ya bulunamamıştır (24). Diğer taraftan Uganda'da aynı yöntemle sığırlarda *T. parva* %32, *T. mutans* %77, *T. taurotragi* %22, *T. velifera* %71 ve *B. bigemina* %1 bulunmuştur (25).

Dünya'daki gelişmelere paralel olarak, son yıllarda Türkiye'de sığırlarda (30-33), koyunlarda (26) ve vektör kenelerde (34) PZR ve RLB ile kan protozoonları araştırılmıştır. Türkiye'de ilk kez Kayseri yöresinde RLB ile koyunlarda yapılan moleküler saha çalışmasında, *B. ovis* prevalansı %2,6; *T. ovis* + *B. ovis* miks enfeksiyonu ise %5,1 bildirilmiştir (26). Bu çalışmada RLB incelemesinde, *B. ovis* koyunlarda %4 (8/200), keçilerde %3 (3/100) ve toplamda %3,7 (11/300); *T. ovis* koyunlarda % 48 (96/200), keçilerde %17 (17/100) ve toplamda % 37,6 (113/300) olarak tespit edilmiştir. *Babesia motasi* ve *B. crassa*'ya ise rastlanamamıştır. Bu sonuçlar, dünyadan (24) ve Türkiye'den (26) bildirilen sonuçlarla paralellik göstermektedir. Bu çalışmayla Türkiye'de ilk defa Kayseri yöresinde RLB ile keçilerde *Theileria* ve *Babesia* türlerinin moleküler prevalansı ortaya konmuştur. Mikroskopik muayenede saptanan piroplasm pozitifliği de, Türkiye'nin değişik yörelerinden (2-7) ve Kayseri'den (8) bildirilen mikroskopik bulgularla uyumludur.

Piroplasmik formların görülmesi açısından koyun ve keçiler arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür. Fakat parazit türlerinin konağa göre dağılımında istatistiksel bir farkın olmadığı dikkati çekmiştir. RLB ile saptanan moleküler prevalansının, Catch-all bazında konak türlerine göre istatistiksel açıdan önemli olduğu, fakat pozitifliğin *B. ovis*, *T. ovis* ve her iki türün görüldüğü miks enfeksiyon olarak konak türlerine göre dağılımında ise önemli olmadığı saptanmıştır. *Babesia ovis* ve *T. ovis* ile enfekte toplam hayvan sayısının konak türüne göre dağılımında, *T. ovis* ile enfekte koyun ve keçiler arasındaki istatistiksel fark önemli olmasına karşın, *B. ovis* ile enfekte koyun ve keçiler arasındaki farkın önemsiz olduğu bulunmuştur. Ortaya çıkan bu farklılıkların, parazitlerin epidemiyolojisi, vektör kenelerin mevsimsel aktiviteleri ve parazitlerle enfeksiyonu, konakların vektör kenelerle enfestasyonu, koyun ve keçilerin meradaki davranış farklılıkları ve yörede mevcut koyun ve keçi popülasyonları gibi birçok faktörle ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmayla Kayseri'nin Yeşilhisar yöresinde sağlıklı görünen koyun ve keçilerde RLB ile *Babesia* türlerinin eş zamanlı moleküler prevalansı tespit edilmiş ve yörede bu parazitlere karşı kontrol stratejilerinin belirlenmesi için daha kapsamlı moleküler parazitolojik araştırmaların gerekliliği ortaya konmuştur.

KAYNAKLAR

1. Kuttler KL. *Worldwide impact of babesiosis*. In: Ristic M (ed), *Babesiosis of Domestic Animals and Man*. CRC Pres, Boca Raton Florida 1988.
2. Kurtpınar H. Erzurum, Kars, Ağrı vilayetleri sığır, koyun, keçilerinin yaz aylarına mahsus parazitleri ve bunların doğurdukları hastalıklar. *Türkiye Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*. 1956, 26: 3226-3232.
3. Güralp N, Sayın F, Tiğin Y ve ark. *Texel merinos ve kıvrıcık koyunları ile melezlerinde görülen parazit türler, bunların enfeksiyon oranları ve savaş çareleri*. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 1975, 22:1-7.
4. Göksu K. *Yerli koyunlarımızda Babesidae ve Theileridae'lerin epizootiyolojik durumlarıyla biyolojilerine dair araştırmalar*. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları*. 1976, 205.
5. Özcan HC. *Ankara ve civarında evcil hayvanlarda görülen piropalmoz vakaları ve tedavileri üzerine araştırmalar*. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 1979, 143.
6. Taşcı S. *Van bölgesinde sığır ve koyunlarda görülen kene türleri ile bunların taşıdığı kan parazitleri arasındaki ilişkiler*. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 1989, 36:53-63.
7. İnci A, Yukarı BA, Sayın F. *Çankırı yöresinde bazı koyun ve keçi sürülerinde babesiosis ve theileriosis etkenlerinin mikroskopik kan muayenesi ile araştırılması*. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 1998, 45:105-113.
8. İnci A, Karaer Z, İça A. *Kayseri yöresinde koyun ve keçilerde babesiosis*. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2002,16: 79-83.
9. Özkoç Ü. *Koyunlarda B.ovis enfeksiyonunun indirekt Floresan Antikor Tekniği ile serolojik teşhisi üzerine araştırma*. *Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Enstitüsü Dergisi*. 1979,11: 70-83.
10. Değer S. *Van ilinde koyunlarda babesiosis'in seroepidemiolojisi üzerine araştırmalar*. *Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*. Ankara, 1990.

11. Çakmak A, Dinçer Ş, Karaer Z. Samsun yöresinde koyunlarda *B. ovis*'in serodiagnozu üzerinde araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 1991, 38:242-251.
12. Sevinç F. Konya yöresi koyunlarında *B. ovis*' in IFAT ve ELISA ile teşhisi. *Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*. Konya, 1996.
13. Yukarı BA, Çakmak A, Karaer Z ve ark. Ankara yöresinde koyunlarda *B. ovis*'in IFAT ve ELISA yöntemleri ile serodiagnozu. *Türkiye Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*. 1996, 67: 42-45.
14. Dumanlı N, Köroğlu E, Düzgün A ve ark. Elazığ yöresinde koyunlarda *B. ovis*'in Seroprevalansı. *Türk J Vet Anim Sci*. 1997, 21:183-186.
15. Çakmak A, İnci A, Karaer Z. Çankırı yöresinde koyun ve keçilerde subklinik *B. ovis* enfeksiyonlarının Indirekt Floresan Antikor Testiyle saptanması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*. 1998, 22:73-76.
16. Aktaş M, Düzgün A, Cahit B. Malatya yöresinde koyunlarda *B. ovis* 'in seroprevalansı. *Türk J Vet Anim Sci*. 2001, 25:241-243.
17. Ludford CG, Hall WTK, Sulzer AJ, et al. *Babesia argentina*, *Plasmodium vivax* and *P. Falciparum*: Antigenic cross reactions. *Exp Parasitol*. 1972, 24: 327-335.
18. Fahrimal Y, Goff WL, Jasmer DP. Detection of *Babesia bovis* carrier cattle by using polymerase chain reaction amplification of parasite DNA. *J Clin Microbiol*. 1992, 30:1374-1379.
19. Figueroa JV, Chieves LP, Johnson GS, et al. Multiplex polymerase chain reaction based assay for the detection of *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* DNA in bovine Blood. *Vet Parasitol* 1993, 50:69-81.
20. d'oliveira C, Van Der Weide M, Habella MA, et al. Detection of *Theileria annulata* in Blood samples of carrier cattle by PCR. *J Clin Mikrobiol*. 1995, 33:2665-2669.
21. Calder JAM, Reddy GR, ChievesL, et al. Monitoring *Babesia bovis* infections in cattle by using PCR-based tests. *J Clin Microbiol*. 1996, 34:2748-2755.
22. Gubbels MJ, de VOS S, van der Weide M, et al. Simultaneous detection of bovine *Theileria* and *Babesia* species using Reverse Line Blot hybridization. *J Clin Microbiol*. 1999, 37:1782-1789.
23. Georges K, Loria GR, Riili S, et al. Detection of haemoparasites in cattle by Reverse Line Blot hybridition with a note on the distribution of ticks in sicily. *Vet Parasitol* 2001, 99:273-286.
24. Nagora D, Garcia Sammartin J, Garcia Perez AL, et al. Identification, genetic diversity and prevalence of *Theileria* and *Babesia* species in sheep population from Northern Spain. *Int J Parasitol* 2004, 34: 1059- 1067.
25. Oura CAL, Bishop RP, Wampande EM, et al. Application of a reverse line blot assay to the study of haemoparasites in cattle in Uganda. *Int J Parasitol*. 2004, 34: 603-613.
26. İça A, Yıldırım A, İnci A. Kayseri yöresinde koyunlarda kan protozoonlarının Reverse Line Blotting yöntemi ile araştırılması. *Türkiye XIV Ulusal Parazitoloji Kongresi Kitabı, Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir 18-25/ Eylül 2005*, ss 161.
27. İnci A, Nalbantoğlu S, Çam Y ve ark. Kayseri yöresinde koyun ve keçilerde *Theileriosis* ve kene enfestasyonları. *Türk J Vet Anim Sci*. 2003, 27: 57-60.
28. Kayseri Tarım İl Müdürlüğü. *Hayvan Populasyonu Bildirimi, Kayseri*. 2005.

29. Schnittger L, Yin H, Qi B, et al. Simultaneous detection and differentiation of *Theileria* and *Babesia* parasites infecting small ruminants by reverse line blotting. *Parasitol Res.* 2004, 92: 189-196.
30. Tanyüksel M, Vatansever Z, Karaer Z ve ark. Sığır babesiosisinin epidemiyolojisi ve zoonotik önemi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2002, 26: 42-47.
31. İça A. Sığırlarda bazı *Babesia* türlerinin Reverse Line Blotting ve İndirekt Floresan antikor testi ile karşılaştırmalı tanısı. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2004, 1: 77-85.
32. İça A, İnci A, Yıldırım A. Parasitological and Molecular prevalence of Bovine *Theileria* and *Babesia* Species in Kayseri Vicinity. *Turk J Vet Anim Science*, 2007, 31:33-38
33. Vatansever Z, İça A, Deniz A, ve ark. Ankara yöresinde sığırlarda kene kaynaklı protozoon enfeksiyonların yayılışının reverse line blotting (RLB) ve İndirek Floresan Antikor Testi (IFAT) ile saptanması. 13. Ulusal Parazitoloji Kongresi, Konya. 2003.
34. İça A, İnci A, Yıldırım A. Sığırlarda görülen *Theileria* ve *Babesia* türlerinin vektör kenelerde moleküler biyolojik teşhisi. T.C. Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi, Proje No: EÜBAP VA-05-05. Final Raporu, Kayseri, 2006.

