



PUBLICATION

CHAI SI, M.E., SIBEKO, K.P., COLLINS, N.E., POTGIETER, F.T., OOSTHUIZEN, M.C.,
2011. Identification of *Theileria parva* and *Theileria* sp. (buffalo) 18S rRNA gene sequence variants in the African buffalo (*Syncerus caffer*) in southern Africa. *Veterinary Parasitology* 182, 150-162



APPENDICES

Appendix A: A comparison of the results obtained from the identification of *Theileria* spp. of buffalo and cattle by the RLB, 18S qPCR, and modified cox III qPCR assays. Highlighted areas indicate areas where data is not available.



Samples	RLB Results		18S RT-PCR	FRET RT-PCR	
	<i>T. parva</i>	Others	<i>T. parva</i>	<i>T. parva</i>	Others
KNP/102	+		+	+	
OVI/9433	+		+	+	
OVI/8227		T/B catchall probe	+	+	<i>T. mutans</i>
OVI/9424	+		+	+	
OVI/8389	-		-	+	<i>T. mutans</i>
KZN/bov	-	<i>T. sp (sable), T. velifera, T. mutans, T. taurotragi</i>			
AEGP/59	-	<i>T. buffeli</i>	-	-	<i>T. buffeli</i>
AEGP/63	-	<i>T. buffeli</i>	-	-	<i>T. buffeli</i>
AEGP/64	-	<i>T. buffeli</i>	-	-	<i>T. buffeli</i>
AEGP/65	-	<i>T. buffeli</i>	-	-	<i>T. buffeli</i>
AEGP/66	-	<i>T. buffeli</i>	-	-	<i>T. buffeli</i>
AEGP/67	-	<i>T. buffeli</i>	-	-	<i>T. buffeli</i>
AEGP/69	-	<i>T. buffeli</i>	-	-	<i>T. buffeli</i>
AEGP/70	-	<i>T. buffeli</i>	-	-	<i>T. buffeli</i>
AEGP/72	-	<i>T. buffeli</i>	-	-	<i>T. buffeli</i>
AEGP/73	-	<i>T. buffeli</i>	-	-	<i>T. buffeli</i>
AEGP/74	-	<i>T. buffeli</i>	-	-	<i>T. buffeli</i>
AEGP/75	-	<i>T. buffeli</i>	-	-	<i>T. buffeli</i>
AEGP/76	-	<i>T. buffeli</i>	-	-	<i>T. buffeli</i>



Sample	RLB assay		18S qPCR	cox III qPCR	
	<i>T. parva</i>	Others		<i>T. parva</i>	Others
KNP/B1	+				
KNP/B5	+	<i>T. mutans</i>		+	
KNP/B11	+			+	
KNP/B15	+		+	+	
KNP/B17	+	<i>T. mutans, T. velifera</i>	+	+	
KNP/B20	-	T/B catchall probe	-	+	
KNP/B22	+	<i>T. sp (buffalo), T. mutans, T. velifera</i>	+	+	<i>T. sp (buffalo)</i>
KNP/C2	+	<i>T. sp (buffalo), T. mutans, T. velifera</i>	+	+	<i>T. sp (buffalo)</i>
KNP/C5	+	<i>T. mutans</i>	+	+	<i>T. sp (buffalo)</i>
KNP/C8	-	<i>T. velifera, T. mutans</i>	+	+	<i>T. mutans, Non-specific</i>
KNP/C11	+		+	+	
KNP/C14	+	<i>T. mutans, T. velifera</i>			
KNP/C16	+	<i>T. mutans, T. velifera</i>	+	+	
KNP/C18	+	<i>T. mutans, T. velifera</i>	+	+	
KNP/C21	-	T/B catchall probe			
KNP/C24	+	<i>T. mutans</i>	+	+	
KNP/C26	-	<i>T. mutans, T. velifera</i>	+	+	Non-specific
KNP/E2	-	<i>T. mutans, T. velifera</i>	-	-	Non-specific
KNP/E3	-	T/B catchall probe		+	<i>T. taurotragi</i>
KNP/E5	-	<i>T. mutans, T. velifera</i>	+	+	Non-specific
KNP/E7	-	<i>T. mutans</i>	+	+	Non-specific
KNP/E10	-	<i>T. mutans</i>	-	-	Non-specific
KNP/E13	-	<i>T. mutans, T. velifera</i>	-	-	Non-specific
KNP/E18	-	<i>T. mutans</i>	+	+	<i>T. sp (buffalo)</i>
KNP/E20	-	<i>T. mutans, T. velifera</i>	+	+	Non-specific
KNP/E23	-	<i>T. velifera</i>	+	+	Non-specific
KNP/G1	+	<i>T. mutans, T. velifera</i>	+	+	
KNP/G2	+	<i>T. mutans</i>	+	+	
KNP/G5	-	<i>T. mutans, T. velifera</i>	+	+	Non-specific
KNP/G6	+	<i>T. mutans</i>	+	+	
KNP/G8	+	<i>T. sp (buffalo), T. mutans, T. velifera</i>	+	-	<i>T. sp (buffalo); Non-specific</i>
KNP/G10	-	<i>T. mutans, T. velifera</i>	+	+	Non-specific
KNP/G11	+	<i>T. mutans, T. velifera</i>	+	+	
KNP/G12	+	<i>T. mutans, T. velifera</i>	+	+	



Sample	RLB assay		18S qPCR	cox III qPCR	
	<i>T. parva</i>	Others		<i>T. parva</i>	Others
KNP/G14	-	<i>T. mutans</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	
KNP/J1	-	<i>T. mutans</i> , <i>T. velifera</i>	+		Non-specific
KNP/J4	+	<i>T. mutans</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	
KNP/J7	-	T/B catchall probe		+	<i>T. taurotragi</i>
KNP/J10	-	<i>T. mutans</i> ; <i>T. velifera</i>		+	<i>T. taurotragi</i>
KNP/K1	+	<i>T. mutans</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	Non-specific
KNP/K4	-	<i>T. mutans</i>	-	+	<i>T. taurotragi</i>
KNP/K8	-	<i>T. mutans</i>		+	<i>T. taurotragi</i>
KNP/K10	-	<i>T. mutans</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	Non-specific
KNP/Q4	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. mutans</i>	+	+	
KNP/Q7	-	<i>T. mutans</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
KNP/Q13		Negative	-	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
KNP/Q15	+	<i>T. sp</i> (buffalo)	+		
KNP/Q18	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. mutans</i>	+	+	<i>T. taurotragi</i> , Non-specific
KNP/Q22	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. mutans</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
KNP/V1	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. mutans</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
KNP/V2	+	<i>T. sp</i> (buffalo)	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
KNP/V3	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. mutans</i>	+	-	<i>T. sp</i> (buffalo)
KNP/V4	+	<i>T. mutans</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
KNP/V6	-	<i>T. sp</i> (buffalo)	-	-	<i>T. sp</i> (buffalo)
KNP/V7	-	<i>T. sp</i> (buffalo)	-	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
KNP/V8	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. mutans</i>	+		
KNP/V9	-	<i>T. mutans</i>	-	-	



Samples	RLB Results		18S RT-PCR	FRET RT-PCR	
	<i>T. parva</i>	Others	<i>T. parva</i>	<i>T. parva</i>	Others
HIP/A2	-	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i>	-	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/A4	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/A5	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. velifera</i> , <i>T. mutans</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/A6	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. mutans</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/A11	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. mutans</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/A12	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. mutans</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/A13	-	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. mutans</i>	-	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/A14	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/A17	-	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i>	-		<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/A19	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/A21	-	<i>T. sp</i> (buffalo) (faint signal)	-		
HIP/A22	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/A25	-	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. mutans</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/A27	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/A28	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/A29	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/A30	-	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/A33	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/A34	-	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/A36	-	<i>T. buffeli</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/A38	-	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/A41	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/A45	-	T/B catchall probe only	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/B7		Negative	-	+	
HIP/B11	-	T/B catchall probe only	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/B20		Negative	-	+	
HIP/B31	-	T/B catchall probe only	+	+	
HIP/B32	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. mutans</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/B44	-	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/B46	-	-	-	+	
HIP/B48	+	<i>T. buffeli</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/B49	+	<i>T. buffeli</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/B52	-	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/B56	-	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. mutans</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/B58	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. mut.</i> , <i>T. vel</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/B60	-	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/B62	-	<i>T. buffeli</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/B64	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. mutans</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/B65	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. mutans</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/B66	+		+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)



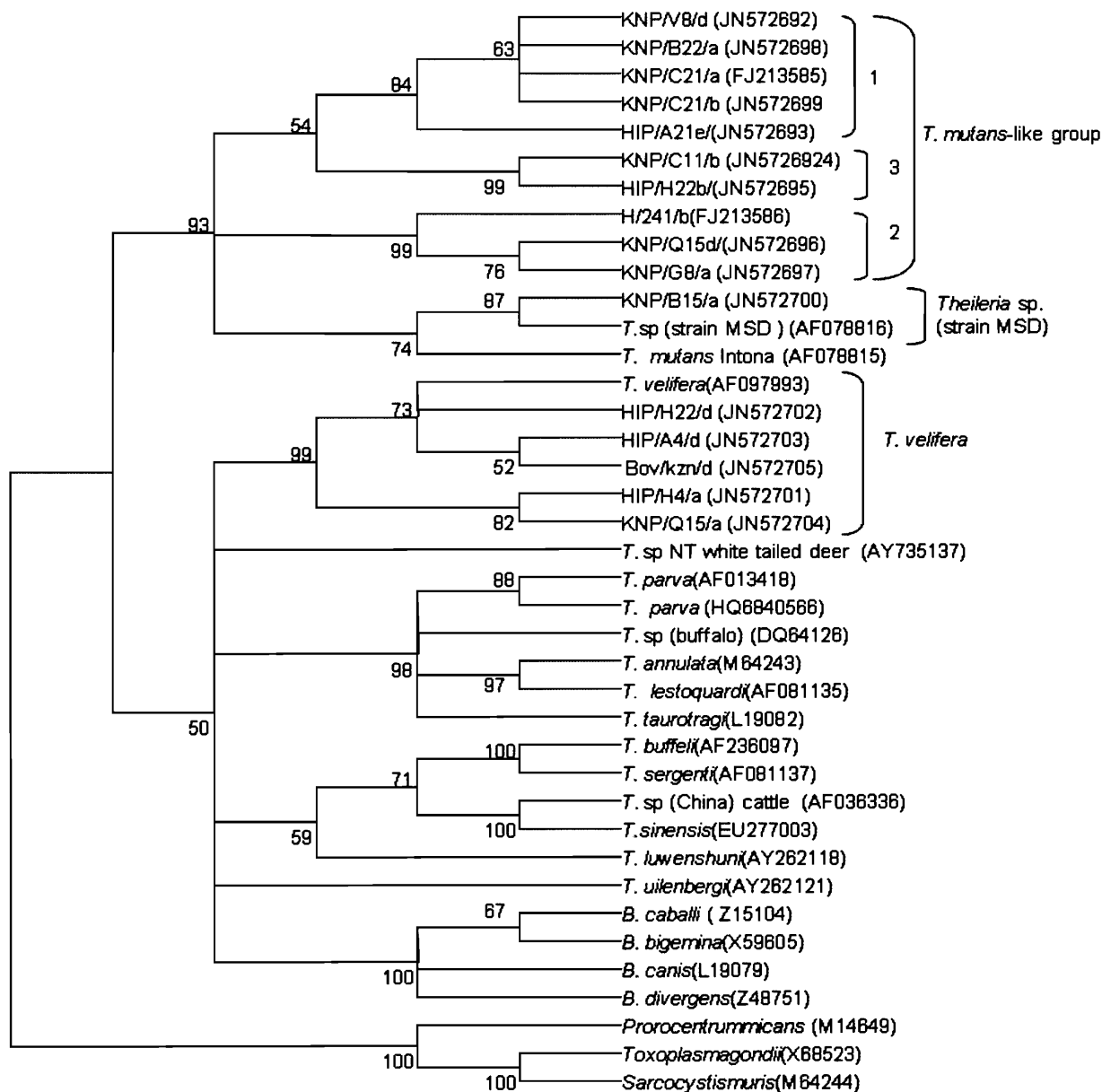
Samples	RLB Results		18S RT-PCR	FRET RT-PCR	
	<i>T. parva</i>	Others	<i>T. parva</i>	<i>T. parva</i>	Others
HIP/B68	+		+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/B70		Negative	-	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/B75		Negative	-	+	
HIP/B77		Negative	+	+	
HIP/B78	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/B79	+	<i>T. buffeli</i> , <i>T. mutans</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/C2	-	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/C4	-	T/B catchall probe only	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/C5	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/C8	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/C9	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i> , <i>T. mutans</i> , <i>T. velifera</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/C11	-	<i>T. buffeli</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/C13	-	<i>T. buffeli</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/C15	-	<i>T. buffeli</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/C19	-	<i>T. buffeli</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/C23	-	<i>T. buffeli</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/H24		Negative	+	+	
HIP/C27	-	<i>T. buffeli</i>	+	+	
HIP/H6		T/B catchall probe only	+	+	<i>T. taurotragi</i>
HIP/H16		Negative		+	
HIP/H18	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/H19	-	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/H21		Negative	-	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/H22	+	<i>T. buffeli</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/H25	-	<i>T. buffeli</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/H27		Negative	+	+	
HIP/H30		Negative	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/H32	+	<i>T. sp</i> (buffalo), <i>T. buffeli</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/H33	-	<i>T. buffeli</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/H35		Negative	-	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/H36		Negative	-	+	<i>T. sp</i> (buffalo)
HIP/H41	-	<i>T. buffeli</i>	+	+	<i>T. sp</i> (buffalo)



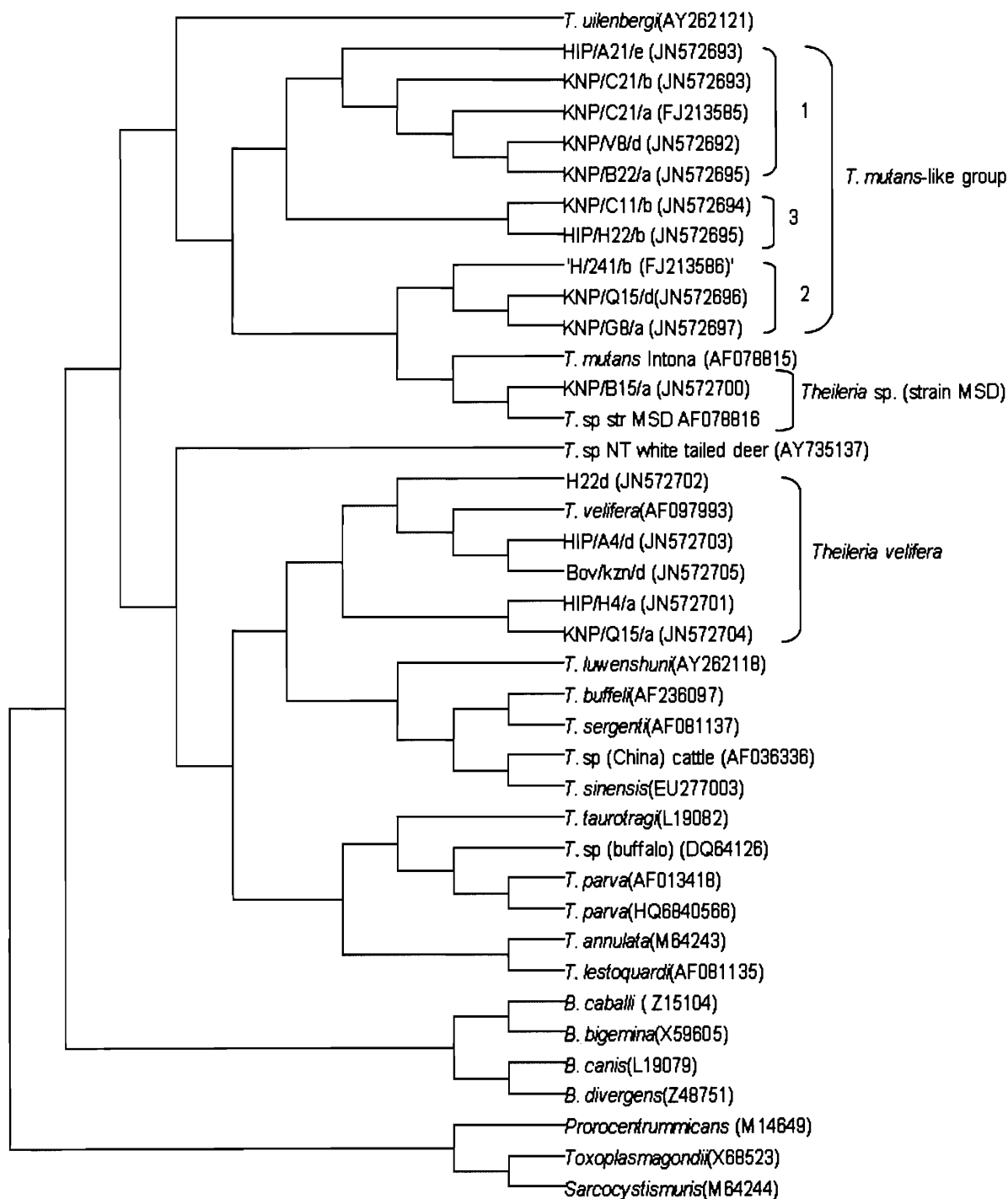
Sample	RLB Results		18S RT-PCR	FRET RT-PCR	
	<i>T. parva</i>	Others	<i>T. parva</i>	<i>T. parva</i>	Others
GLTP/ 2	+	<i>Theileria</i> sp. (buffalo), <i>T. velifera</i> , <i>T. mutans</i>	+	+	
GLTP/ 3	+	<i>T. velifera</i> , <i>T. mutans</i>	+	+	
GLTP/ 4	+	<i>T. mutans</i>	+	+	
GLTP/ 5	+	<i>T. velifera</i> , <i>T. mutans</i>	+	+	<i>Theileria</i> sp. (buffalo)
GLTP/ 6	+		+	+	
GLTP/ 7	+	<i>T. velifera</i> , <i>T. mutans</i>		+	
GLTP/ 8	-	<i>T. velifera</i> , <i>T. mutans</i>	-	-	Non-specific
GLTP/ 9	+	<i>Theileria</i> sp. (buffalo), <i>T. mutans</i>	+	+	
GLTP/ 10	+	<i>T. mutans</i>	+	+	
GLTP/ 11	-	<i>T. mutans</i>	+	-	<i>Theileria</i> sp. (buffalo)
GLTP/ 12	-	<i>T. mutans</i>	-	+	Non-specific
GLTP/ 13	+		+	+	
GLTP/ 14	+	<i>T. velifera</i>	+	+	
GLTP/ 15	+		+	+	
GLTP/ 16	+		+	+	
GLTP/ 17	+			+	Non-specific
GLTP/ 19	+		+	+	
GLTP/ 20	+	<i>Theileria</i> sp. (buffalo)	+	+	
GLTP/ 23	-	<i>Theileria</i> sp. (buffalo)	+	+	
GLTP/ 25	-	<i>Theileria</i> sp. (buffalo)	-	+	Non-specific
GLTP/ 26	-	<i>Theileria</i> sp. (buffalo)	-	+	Non-specific
GLTP/ 28		Negative	-	+	Non-specific
GLTP/ 29	+	<i>Theileria</i> sp. (buffalo)	+	+	
GLTP/ 34	+		+	+	
GLTP/ 36	+	<i>Theileria</i> sp. (buffalo)	+	+	
GLTP/ 38	+		+	-	<i>Theileria</i> sp. (buffalo)
GLTP/ 39	+		+	+	
GLTP/ 40	+		+	+	
GLTP/ 42	+	<i>T. mutans</i>	+	+	
GLTP/ 44	+		+	+	
GLTP/ 46	+		+	+	
GLTP/ 47	+		+	+	
GLTP/ 49	+	<i>T. mutans</i>	+	+	

Appendix B: Phylogenetic trees showing the relationship of the *T. mutans*, *Theileria* sp. (strain MSD) and *T. velifera* 18S rRNA gene sequence variants identified in this study with other *Theileria* and *Babesia* species as indicated by (a) neighbor-joining, (b) maximum likelihood and (c) bayesian analyses. Bootstrap values indicate the degree of support for each cluster. The trees were outgroup rooted using *Prorocentrum micans*, *Sarcocystis muris* and *Toxoplasma gondii*.

(a) Neighbor joining tree



(b) Maximum likelihood tree



(c) Bayesian tree

