بررسی تظاهرات بالینی و تشخیص مولکولی شتران آلوده به تریپانوزوما اوانسی در ایران

محمد فاطمی [۱]، غلامرضا محمدی [۱]، مهران قائمی بافقی [۲]، محمد عزیززاده [۱]، محمد صادق گل واجویی [۳]

۱- گروه علوم درمانگاهی، بهداشت و پیشگیری بیماری های دامی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۳- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

نویسنده مسئول : غلامرضا محمدی

E-mail address: gmohamad@um.ac.ir

چکیده

Trypanosoma evansi انگلی تک یاخته است که در بسیاری از نقاط جهان انتشار دارد و سبب بیماری سورا می‌شود. سورا یک بیماری مشترک بین انسان و دام است که موجب خسارات اقتصادی قابل توجهی در پرورش شتر می‌گردد. در این مطالعه، Molecular detection و Absolute quantification *تریپانوزوما اوانسی* و نیز بررسی تظاهرات بالینی شتران آلوده ایرانی انجام شد. با استفاده از روش نمونه گیری تصادفی از ۳۳۶ نفر شتر از ۷ استان مختلف ایران نمونه خون اخذ گردید. DNA استخراج شده و با آزمون کمی واکنش زنجیره ای پلیمراز (qPCR) *تریپانوزوما اوانسی* شناسائی و شمارش گردید. نتایج مورد آنالیزهای آماری مناسب قرار گرفت. از مجموع ۳۳۶ نمونه خون مورد بررسی، تعداد ۳۶ نمونه مثبت تشخیص داده شد و شیوع بیماری سورا در استان‌های منتخب به طور میانین ۱۰.۷ درصد بود. همچنین در بررسی علائم کلینیکی در نمونه‌های مورد بررسی، نتایج رگرسیون لجستیک چندگانه نشان داد که فراوانی رنگ پریدگی (Paleness)، بی اشتهایی (Anorexia)و کاهش وزن در نمونه‌های qPCR مثبت به صورت معنی داری بیشتر از نمونه‌های qPCR منفی بود ($p<0.001$). نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از روش real-time qPCR برای تعیین میزان پارازیتمی یک روش دارای حساسیت و ویژگی بالا و نیز کاربردی در تشخیص‌های بالینی سورا است و می تواند در تشخیص مرحله بیماری و خطر انتقال آن مفید واقع شود.

کلمات کلیدی : *تریپانوزوما اوانسی*، شتریک کوهانه، روش کمی واکنش زنجیره ای پلیمراز، سورا ، ایران

مقدمه

تریپانوزوما اوانسی یک انگل تک یاخته است که بیشترین شیوع را در حیوانات اهلی در بسیاری از نقاط جهان دارد .این انگل به لحاظ ریخت شناسی از *T. brucei* قابل تشخیص نمی‌باشد. دلیل این تشابه می‌تواند این امر باشد که *T. evansi* با حذف حلقه‌های کینتوپلاستیک از *T. brucei* نشات می‌گیرد. *تریپانوزوما اوانسی* مهم ترین و شایع‌ترین انگل شتر است و باعث بیماری تریپانوزوم شتر موسوم به سورا می‌گردد. این انگل همه مهره داران را در تمام قاره‌ها آلوده می کند و توسط چندین گروه بی مهرگان منتقل می شود . دام‌های اهلی از جمله: گاو، گاومیش، اسب و شتر و سایر گونه‌ها از جمله نشخوارکنندگان وحشی در قاره های آسیا، آفریقا و آمریکای جنوبی تحت تأثیر این انگل قرار می‌گیرند. در زمان بارندگی به علت افزایش جمعیت حشرات ناقل، میزان بروز بیماری به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. راه‌های انتقال این انگل می تواند شامل انتقال عمودی و یا افقی باشد. این انگل دارای اهمیت اپیدمیولوژیکی است و میزان شیوع آن به فصل، منطقه جغرافیایی و گونه‌های میزبان وابسته است . بیماری سورا، معمولاً به صورت عفونت مزمن بروز پیدا می‌کند و با کاهش وزن، کم خونی، ناباروری، سقط جنین و زایمان زودرس در میزبان همراه است .تصور بر این است که خاستگاه این انگل آفریقاست و با صادرات حیوانات به سایر نقاط انتشار یافته است .تشخیص قطعی عفونت با *T. evansi* متکی به اثبات انگل در خون یا مایعات بافتی حیوانات آلوده است. سورا دارای دو فاز حاد و مزمن است که فاز حاد با سطح بالای پارازیتمی و علائم بالینی قابل توجه مشخص می‌شود، و یک مرحله مزمن(CP) با پارازیتمی کم که می‌تواند منجر به لاغری شود. در آخرین مرحله ممکن است میزبان به یک مخزن انگل تبدیل شود. به منظور تشخیص بیماری ناشی از این انگل از روش‌های میکروسکوپی، ایمنی شناختی و مولکولی که هر یک مزایا و معایبی دارند استفاده می‌شود. روش‌های میکروسکوپی براساس مشاهده مستقیم انگل زیر میکروسکوپ نوری هستند. این تکنیک‌های ساده و کم هزینه، حساسیت کمی دارند. لذا این روش فقط در مرحله حاد بیماری که تعداد بالایی از انگل در خون حضور دارند، قدرت تشخیصی مناسبی دارد. روش‌های ایمونولوژیک براساس تشخیص آنتی ژن (Ag-ELISA) یا آنتی بادی (ELISA غیرمستقیم) مربوط به عامل ایجاد کننده بیماری هستند. آزمون Ag-ELISA نیز حساسیت کمی دارد زیرا به یک عدد یا محدوده‌ای از آنتی بادی‌های مونوکلونال متکی است و از این رو به آنتی ژن‌های گردش خون متکی است. همچنین، تعداد انگل در روزهای اول عفونت به سطح تشخیص آزمون نمی رسد. آزمایش الایزای آنتی بادی نمی تواند بین عفونت‌های فعلی و آنتی بادی های باقیمانده از واکسیناسیون یا عفونت قبلی تمایزی نشان دهد. عفونت‌های تریپانوزوم اغلب به دلیل حساسیت و ویژگی کم آزمایشات سرولوژی و انگلی ممکن است اشتباه تشخیص داده شوند بنابراین، تشخیص صحیح این انگل نیازمند روشی سریع و با حساسیت و اختصاصیت بالاست. روش دیگری که به طور گسترده ای برای تشخیص تریپانوزوماها

مورد استفاده قرار گرفته، واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) است. PCR معمولی، اگرچه سریع و حساس است، اما قادر به تعیین کمیت آلودگی انگلی در حیوانات آلوده نمی باشد. البته با استفاده از روش real-time qPCR کمیت سنجی امکان پذیر شده است. با توجه به مطالعاتی که تاکنون صورت گرفته، روش real-time qPCR برای ارزیابی انگل در بیماری‌های مالاریا، بابزیوز و تیلریوز استفاده شده است که یک روش مناسب و با کارآیی بالا گزارش شده است(۱). مزیت عمده این روش این است که این امکان را فراهم می‌نماید که میزان حضور پاتوژن به صورت کمی مشخص گردد. لذا با توجه موارد ذکر شده و توجه به این امر که مطالعات محدودی در خصوص شیوع *T. evansi* در شترهای ایران به روش real-time qPCR انجام شده است (۲، ۳، ٤، ٥، ٦)، مطالعه حاضر با هدف Molecular detection و Absolute quantification *تریپانوزوما اوانسی* و نیز بررسی تظاهرات بالینی شتران آلوده ایرانی انجام شد تا ضمن آگاهی از میزان شیوع این انگل در شتر بر لزوم مطالعات گسترده‌تر پیرامون این موضوع تاکید نماییم.

مواد و روش‌ها

تعیین حجم نمونه و نمونه‌برداری

در مطالعه حاضر که به منظور بررسی تظاهرات بالینی و تشخیص مولکولی شتران آلوده به *تریپانوزوما اوانسی* در ایران انجام گرفت، نمونه‌ها به صورت تصادفی از ۷ استان مختلف جمع‌آوری گردید. حجم نمونه مورد نیاز برای این پژوهش از طریق فرمول زیر محاسبه گردید

$$n = Z^2 \times P_{exp}\,(1 - \mathrm{P}_{exp})/d^2$$

که در این فرمول:

$Z\alpha$: ضریب اطمینان، که در سطح معنی داری ۰۵/ (سطح اطمینان ۹۵٪) نظر گرفته شده است لذا، مقدار این ضریب برابر است با ۱/۹٦، P_{exp}: شیوع قابل انتظار است که براساس مطالعات قبلی یا مطالعه پایلوت مشخص می‌شود. d: سطح خطای آزمون یا میزان خطای مجاز است. P: شیوع تخمین زده شده است.
با توجه به نتایج پژوهش‌های مشابه، شیوع قابل انتظار (p) به روش PCR، ۸.٦ درصد است. اگر d، ۰.۰۳ باشد، براساس فرمول فوق، حجم نمونه محاسبه شده ۳۳٦ نفر می‌باشد.

پس از تعیین حجم نمونه، نمونه‌های خون ۳۳٦ نفر شتر از ۷ استان مختلف شامل استان‌های خراسان رضوی، خراسان جنوبی، گلستان، تهران، قم آذربایجان غربی و آذربایجان شرقی جمع‌آوری گردید. جمع‌آوری نمونه به استفاده از روش نمونه برداری خوشه‌ای تصادفی صورت گرفت و هر خوشه حاوی حداقل ۱۸ شتر بود. پیش از

نمونه‌برداری شترها مورد معاینه بالینی قرار گرفتند و علائم بالینی غیر طبیعی آن‌ها در فرم ثبت گردید. پس از آن نمونه خون از ورید وداج آن‌ها اخذ گردید و در لوله‌های حاوی ضد انعقاد EDTA قرار گرفت و اطلاعات نمونه شامل تاریخ نمونه‌برداری، شماره نمونه و ناحیه نمونه‌برداری روی نمونه‌ها درج گردید. سپس نمونه‌ها با رعایت زنجیره سرد به آزمایشگاه منتقل گردید و تا انجام مراحل استخراج DNA و آزمون qPCR در دمای ۷۰- درجه نگهداری گردید.

آزمون کمی واکنش زنجیره ای پلیمراز (qPCR)

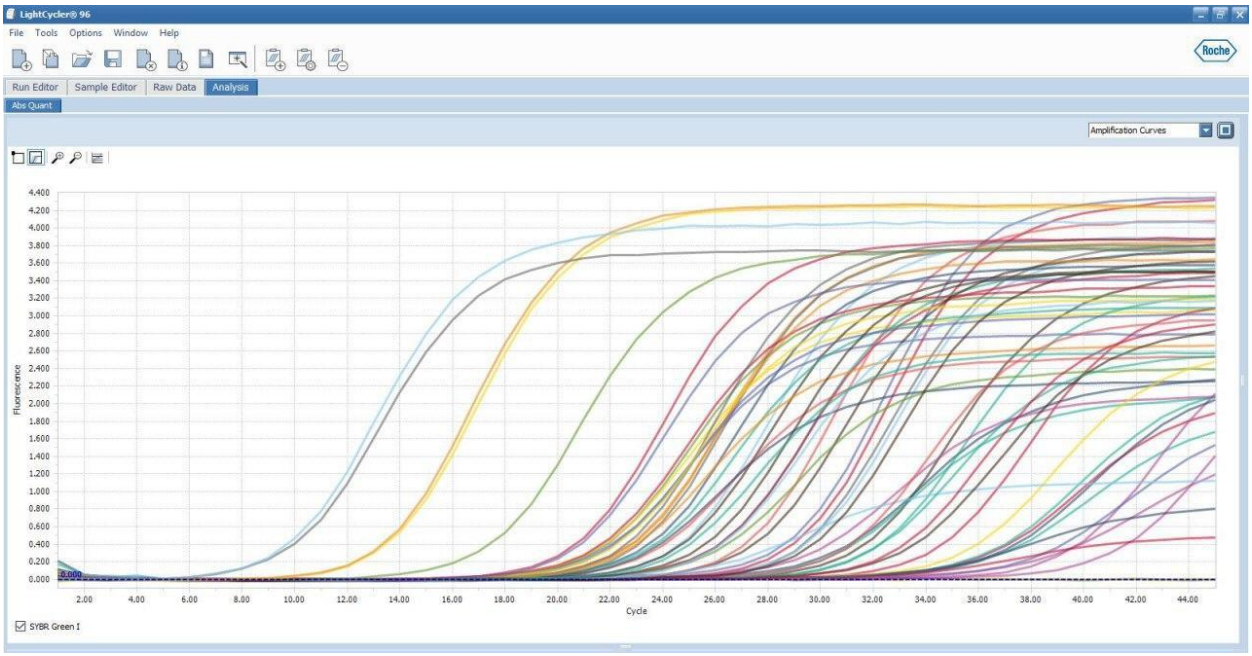
بر اساس مقاله منتشر شده qPCR انجام شد .برای هر نمونه، حجم کل ۲۰ میکرولیتر حاوی ۱۰ میکرولیتر مخلوط اصلی X۲، ۵.۲ میکرولیتر آب بدونDNase ، ٤ میکرولیتر الگوی DNA و ۰.٤ میکرولیتر از هر آغازگر (۱۰ میکرومولار) مخلوط شد آب بدون DNase و محصولات PCR خالص شده به ترتیب به عنوان کنترل بدون الگو (NTC)و استاندارد استفاده شد Real-time PCR .با استفاده از Light cycler® 96 (روش، آلمان) انجام شد . پروتکل تقویت حرارتی ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد و ٤٥ سیکل ۹۵ درجه سانتی گراد برای ۱۰ ثانیه، ٦۲ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۲۰ ثانیه بود .در نهایت، برنامه تجزیه و تحلیل منحنی ذوب برای تعیین ویژگی محصولات qPCR انجام شد.

روش تجزیه تحلیل آماری

فراوانی علائم بالینی بین نمونه‌های دارای نتایج مثبت qPCR و نمونه‌های با نتایج qPCR منفی توسط Fischer exact test مورد مقایسه و بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از بررسی توافق (agreement) بین روش تشخیصی آزمایشگاهی (qPCR) و تشخیص بالینی با استفاده از آزمون کاپا (Kappa) آنالیز آماری گردید. رابطه غلظت DNA در هر میلی لیتر خون و شاخص های بالینی کمی توسط آزمون Spearman correlation test ارزیابی شد. مقایسه شاخص‌های کمی بین نمونه‌های دارای نتایجqPCR مثبت و نمونه‌های با نتایج qPCR منفی با تستMann-Whitney U test انجام گردید.

Real-time qPCR

به منظور تشخیص *T. evansi*، DNA استخراج شده با روش real-time qPCR مورد بررسی قرار گرفتند. در شکل شماره ۱ یکی از نمودارهای real-time qPCR قابل مشاهده است که در آن نمونه های مثبت منحنی‌های سیگموئید خوبی را نشان داده‌اند در حالی که منفی ها افزایش رو به بالا ندارند.



شکل ۱. نتایج آزمون Real-time PCR برای ژن *RotatVSG تریپانوزوما اونسی*

مقایسه فراوانی علائم بالینی یا شخاص‌های کیفی بین نمونه های با نتایج qPCR مثبت و نمونه‌های با نتایج qPCR منفی

نتایج آنالیز آماری فراوانی علائم بالینی بین نمونه‌های دارای نتایج مثبت qPCR و نمونه‌های با نتایج qPCR منفی نشان داد که فراوانی اسهال یا (Diarrhea) در نمونه‌های qPCR مثبت و منفی تفاوت معنی داری ندارد ($p=0.059$). همچنین نتایج آنالیز آماری نشان داد که فراوانی رنگ پریدگی یا (Paleness) در نمونه‌های qPCR مثبت به صورت معنی داری بیشتر از نمونه‌های qPCR منفی بود ($p<0.001$). در خصوص سایر علائم، فراوانی بی اشتهایی یا (Anorexia) در نمونه‌های qPCR مثبت به صورت معنی داری بیشتر از نمونه‌های qPCR منفی بود ($p<0.001$) همچنین فراوانی کاهش وزن یا (weight loss) در نمونه های دارای نتایج qPCR مثبت به شکل معنی داری از نمونه‌های با نتایج qPCR منفی بیشتر بود ($p<0.001$). به علاوه فراوانی ادم (Edema) در نمونه‌های qPCR مثبت و نمونه‌های qPCR منفی تفاوت آماری معنی داری نشان نداد ($p=0.2$) .

نتایج آنالیز آماری بررسی توافق (agreement) بین روش تشخیصی آزمایشگاهی (qPCR) و تشخیص بالینی نشان داده شد. براساس نتایج آزمون کاپا (Kappa) توافق خوبی بین نتیجه تست qPCR و علامت بالینی رنگ پریدگی (Paleness) وجود داشت ($kappa=0.69$) اما توافق ضعیفی بین نتیجه تست qPCR و علامت

بالینی اسهال (Diarrhea) و ادم (Edema) مشاهده گردید (kappa=0.08 , 0.04). در خصوص بی اشتهایی یا (Anorexia) ,کاهش وزن (weight loss) توافق متوسط بود (kappa=0.56 , 0.504).

بحث

سورا یکی از بیماری‌های مهم در دامپزشکی است که سبب و مرگ و میر شتر در آفریقا، آسیا، جنوب آمریکا و همچنین در ایران می‌شود (۱، ۳). بیماری‌های ناشی از انگل‌های خونی یکی از چالش‌هایی است که صنعت پرورش شتر با آن روبرو است که می‌توانند آسیب‌های زیادی به این صنعت دامی وارد نمایند چراکه این بیماری‌ها می‌توانند سبب ایجاد خسارت‌های اقتصادی زیادی شوند. این خسارت‌ها می‌توانند حاصل از کاهش تولید شیر، کاهش وزن حیوان، افزایش هزینه‌های درمان، سقط و کاهش باروری و یا ناشی از مرگ و میر حیوان باشند (۱ و ۲). لذا با توجه به اهمیت این انگل در سلامت و بهداشت دام و خسارات اقتصادی ناشی از این بیماری، مطالعه حاضر با هدف بررسی تظاهرات بالینی شتران آلوده، Molecular detection و Absolute quantification *تریپانوزوما اوانسی* در خون شتران ایران به روش real-time PCR انجام شد. بر مبنای بررسی های انجام شده، مطالعات محدودی از این تکنیک جهت تشخیص مولکولی این انگل در شتر بهره جسته‌اند. از جنبه‌های نواورانه این مطالعه در مقایسه با سایر مطالعات مشابهی که در ایران انجام شده این است که در مطالعه حاضر کمیت سنجی تعداد انگل در خون با روش qPCR صورت گرفته است. درحالی‌که در مطالعات اندکی که پیش از این با استفاده از روش real-time PCR به جستجوی *تریپانوزوما اوانسی* در شتر پرداخته‌اند تا کنون کمیت سنجی صورت نگرفته بود. همچنین در این مطالعه، ما به بررسی ارتباط بین علائم بالینی و میزان شیوع انگل به روش real-time PCR در استان‌های مختلف پرداخته‌ایم تا جایی‌که می دانیم هیچ یک از مطالعات به بررسی ارتباط بین علائم بالینی و میزان شیوع نپرداخته‌اند. لذا از این جهت مطالعه حاضر نوآوری دارد. به عنوان مثال، در مطالعه انجام شده توسط خسروی و همکاران در سال ۲۰۱۵ ارتباط آماری معناداری بین سن و میزان شیوع عفونت در شترها پیدا کردند، به شکلی که با افزایش سن میزان شیوع عفونت افزایش پیدا می‌کند (۲). در مطالعه دیگری که توسط Zarif Fard و همکاران انجام شده است فصل یکی دیگر از عوامل خطر معرفی شده است که با میزان شیوع عفونت ارتباط آماری معناداری نشان داده است. همچنین قائمی و همکاران گزارش نمودند که استان یا ناحیه مورد مطالعه یکی از عوامل تاثیر گذار بر میزان شیوع سورا است (۱). در مطالعه حاضر، میزان شیوع سورا در شترهای استان‌های مورد مطالعه ۱۰/۷ ٪ بود که در مقایسه با شیوع گزارش شده در مطالعه قائمی و همکاران

(۶٪/۵) ، مهرابیان و همکاران (۱/۰۷٪) ، راد و همکاران (۰.۰٪) ، کریمی و همکاران (۳٪/۹۶) و در مطالعه احمدی و همکاران (٤٪/۸) میزان شیوع بالاتر بود است اما در مقایسه با مطالعه رنجبر و همکاران (۱۹٪/۵) ، مقدر و همکاران (۱٤٪) ، سازمند و همکاران (۱۵٪/۵) و زکیان و همکاران (۱۹٪) میزان شیوع کمتر بوده است(۳،۲). نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که در بین استان‌های مورد مطالعه استان تهران با ۱۳ نمونه مثبت از مجموع ٤۸ نمونه جمع‌آوری شده بیشترین میزان شیوع انگل (۲۷٪/۱) را نشان داد و کمترین میزان شیوع مربوط به استان‌های قم و آذربایجان شرقی با میزان شیوع ۲/۱٪ بود. در مقایسه فراوانی شاخص‌های کمی و کیفی بین نمونه‌های با نتایج qPCR مثبت و نمونه‌های با نتایج qPCR منفی در بین شاخص‌های کیفی مورد بررسی، فراوانی رنگ پریدگی، بی اشتهایی و کاهش وزن در نمونه های دارای نتایج qPCR مثبت به شکل معنی داری از نمونه‌های با نتایج qPCR منفی بیشتر بود ($p<0.001$). در خصوص سایر علائم ارتباط آماری معناداری مشاهده نشد. همچنین نتایج حاصل از مقایسه شاخص‌های کمی بین نمونه‌های دارای نتایج qPCR مثبت و نمونه‌های با نتایج qPCR منفی در تستMann-Whitney U test نشان داد که دمای بدن، تعداد ضربان قلب (H rate) و تعداد تنفس (R rate) در شترهای دارای نتایج qPCR مثبت به صورت معنی داری بیشتر از شترهایی با نتیجه qPCR منفی بود. از بین مطالعات انجام شده در مطالعه Njiru و همکاران به بررسی ارتباط بین علائم بالینی و میزان شیوع عفونت پرداخته شده است که نتایج این مطالعه ارتباط معنی‌داری نشان نداده است.

با توجه به اهمیت این انگل و سایر انگل‌های خونی در صنعت پرورش شتر، استفاده از روش‌های سریع و کارآمد به منظور بررسی سطوح پارازیتمی ضروری به نظر می‌رسد(٦،۱). نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که real time PCR برای تخمین سطوح پارازیتمی چه از نظر کمی و چه کیفی یک روش کاربردی در تشخیص‌های بالینی سورا است و می تواند در تشخیص مرحله بیماری و خطر انتقال آن مفید واقع شود. چنین روش‌هایی برای تشخیص کارآمد بیماری سورا و به دنبال آن تشخیص مرحله بیماری، خطر انتقال و اثربخشی دارو در حیوانات تحت درمان مفید هستند. با توجه به کارآیی این روش برای تشخیص کمی *T.evansi* در نمونه‌های بالینی می توان این روش را به فهرست سنجش‌های کمی و ردیابی که قبلاً برای سایر گونه های تریپانوزوم همچون *T.brucei* و *T.cruzi* ایجاد شده است اضافه نمود. پیشنهاد می‌گردد که مطالعات بیشتری با تمرکز بر ناقلین این بیماری و سایرعوامل خطر مرتبط با آن انجام گیرد تا بتوان با آگاهی از عوامل خطر و ناقلین این بیماری، سیاست‌های پیشگیرانه و کارآمدی طرح ریزی نمود.

References:

1. Ahmad, H., Khan, M. U., & Hailakandi, A. (2023). Review on Camel Trypanosomiasis: its Epidemiology and Economic Importance. *Acta Parasitologica Globalis*. 6 (2): 117-128 DOI: 10.5829/idosi.apg.2015.6.2.94253

2. Ghaemi M, Zavarib A, Pirouz HJ. Evaluation of *Trypanosama evansi* prevalence and risk factors in the one-humped camels (*Camelus dromedarius*) of the north-east of Iran by a real-time PCR test. Preventive veterinary medicine. 2019 Jul 1; 168:60-5. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2019.04.013

3. Zakian A, Nouri M, Safaei P, Mohammad-Sadegh M, Kahroba H, Mokhber Dezfouli MR, Moallemian R. (2017) An acute outbreak of natural *Trypanosoma evansi* infection in camel (*Camelus dromedarius*) herds in the southwestern Iran. Comparative Clinical Pathology, 26(1), 51–59. Doi:10.1007/s00580-016-2345-7

4. Parra-Gimenez, N., & Reyna-Bello, A. (2019). Molecular tools for the diagnosis of trypanosomiasis. *Journal of Parasitology Research*. Article ID 8528430, 9 pages DOI:10.1155/2019/8528430.

5. Salim, B., Bakheit, M. A., Kamau, J., et al. (2020). Prevalence of *T. evansi* in livestock. *Parasites & Vectors*. Volume 13, article number 21, (2020) DOI:10.1186/s13071-020-3894-9

6. Elobaid, N. I., Daffalla, O. M., Noureldin, E. M., & Abdalla, M. A. (2021). Phylogenetic Analysis of *Trypanosoma evansi*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 10(4): 532-543. DOI:10.20546/ijcmas.2021.1004.052

Clinical Manifestations and Molecular Diagnosis of Camels Infected with Trypanosoma evansi in Iran

Mohammad Fatemi[1], Gholamreza Mohammadi[1*], Mehran Ghaemi [2], Mohammad Azizzadeh[1], Mohammad Sadegh Golvajouei[3]

1. Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
2. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
3. Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Iran

Corresponding author: Dr. Gholamreza Mohammadi

Trypanosoma evansi is a single-celled parasite that is widespread in many parts of the world and causes surra disease. Surra is a zoonotic disease that causes significant economic losses in camel farming. This study aimed to conduct molecular detection and absolute quantification of *Trypanosoma evansi* and investigate the clinical manifestations of infected camels in Iran. Blood samples were collected from 336 camels using a random sampling method from seven different provinces in Iran. The extracted DNA was analyzed using quantitative polymerase chain reaction (qPCR) to identify and quantify *Trypanosoma evansi*. The results were subjected to appropriate statistical analyses. Out of the 336 blood samples examined, 36 were positive, indicating a prevalence of surra of 10.7% in the selected provinces. Furthermore, the clinical signs observed in the examined samples revealed that the frequency of paleness, anorexia, and weight loss was significantly higher in qPCR-positive samples compared to qPCR-negative samples ($p<0.001$) based on multiple logistic regression analysis. The findings of this study demonstrate that real-time qPCR is a highly sensitive and specific method for determining parasitemia levels and is a valuable tool for clinical diagnosis of surra. It can be useful in identifying the stage of the disease and the risk of transmission.

Keywords: *Trypanosoma evansi*, camel, quantitative polymerase chain reaction, surra, Iran