

Latvijas Biozinātņu un tehnoloģiju universitāte
Latvia University of Life Sciences and Technologies

Veterinārmedicīnas fakultāte
Faculty of Veterinary Medicine



Maira Mateusa

**PREVALENCE, GENETIC DIVERSITY,
ENVIRONMENTAL SHEDDING AND ASSOCIATED
FACTORS OF *GIARDIA DUODENALIS* IN CATTLE (*BOS
TAURUS*) AND CANIDS (*CANIDAE*) IN LATVIA**

***GIARDIA DUODENALIS* IZPLATĪBA, ĢENĒTISKĀ
DAUDZVEIDĪBA, VIDES PIESĀRŅOJUMS UN TO
IETEKMĒJOŠIE FAKTORI GOVĪM (*BOS TAURUS*) UN
SUŅU DZIMTAS (*CANIDAE*) DZĪVNIEKIEM LATVIJĀ**

SUMMARY

of the doctoral thesis for the Doctoral degree of Science (*Ph.D.*) in
Veterinary Sciences

Promocijas darba KOPSAVILKUMS

zinātnes doktora grāda (*Ph.D.*) iegūšanai
Veterinārmedicīnas zinātnē

Jelgava
2026

The doctoral thesis was elaborated at the Institute of Food and Environmental Hygiene of the Faculty of Veterinary Medicine, Latvia University of Life Sciences and Technologies, and at the Institute of Food Safety, Animal Health and Environment “BIOR”, the Department of Microbiology and Pathology, Parasitology and Microbial Genomic groups.

Doctoral thesis scientific supervisors:

Dr. med. vet. Margarita Terentjeva – Associate professor at the Latvia University of Life Sciences and Technologies. Senior researcher at the Institute of Food Safety, Animal Health and Environment “BIOR”.

Dr. biol. Gunita Deksnė – Associate professor at the University of Latvia.

Official reviewers:

1. *Dr. med. vet. Līga Kovaļčuka* – Professor at the Latvia University of Life Sciences and Technologies.
2. *Dr. med. vet. Alvydas Malakauskas* – Professor at the Lithuanian University of Health Sciences.
3. *Olga Valciņa, Ph.D.* – Director at the Institute of Food Safety, Animal Health and Environment “BIOR”.

The doctoral thesis was developed with the support of the Latvian Council of Sciences project No. lzp-2021/1-0055 “Transmission of foodborne parasitic pathogens from animals to humans: TRANSPAR”.



The defence of the doctoral thesis will be held at the open meeting of the LBTU Doctoral Council for Veterinary Medicine at 10:00 on February 6th, 2026 at the Faculty of Veterinary Medicine, 8 Helmana Street, Jelgava, auditorium No A300.

The doctoral thesis is available at the Fundamental Library of Latvia University of Life Sciences and Technologies, 2 Liela Street, Jelgava and on the website <http://lufb.llu.lv/en>

You are welcome to **send your comments** to the secretary of Doctoral Council – lecturer, *Mg.med.vet. Anna Krūklīte*, 8 Helmana Street, Jelgava, LV-3004, Latvia, e-mail: anna.kruklite@lbtu.lv. It is advised to send your comments in scanned form and signed.

Promocijas darbs tika izstrādāts Latvijas Biozinātņu un tehnoloģiju universitātes, Veterinārmedicīnas fakultātes, Pārtikas un vides higiēnas institūtā un Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskā institūtā “BIOR”, Mikrobioloģijas un patoloģijas laboratorijas, Parazitoloģijas un Mikroorganismu genoma izpētes grupās.

Promocijas darba zinātniskie vadītāji:

Dr. med. vet. Margarita Terentjeva – Latvijas Biozinātņu un tehnoloģiju universitātes asociētā profesore. Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskā institūta “BIOR” vadošā pētniece.

Dr. biol. Gunita Deksnē – Latvijas Universitātes asociētā profesore.

Oficiālie recenzenti:

1. *Dr. med. vet. Līga Kovaļčuka* – Latvijas Biozinātņu un tehnoloģiju universitātes profesore.
2. *Dr. med. vet. Alvydas Malakauskas* – Lietuvas Veselības zinātņu universitātes profesors.
3. *Olga Valciņa, Ph.D.* – Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskā institūta “BIOR” direktore

Promocijas darbs izstrādāts ar Latvijas Zinātņu padomes projekta Nr. lzp-2021/1-0055 „Pārtikas parazitāro patogēnu pārnese no dzīvniekiem uz cilvēku: TRANSPAR” atbalstu.



Promocijas darba aizstāvēšana notiks LBTU Veterinārmedicīnas zinātnes Promocijas padomes atklātā sēdē 2026. gada 6. februārī Veterinārmedicīnas fakultātē (Kr.Helmaņa iela 8, Jelgava) A300 auditorijā plkst.10:00.

Ar promocijas darbu var iepazīties LBTU Fundamentālajā bibliotēkā, Lielā iela 2, Jelgavā un <http://lbtufb.lbtu.lv>

Atsauksmes sūtīt Promocijas padomes sekretārei vieslektorei *Mg.med.vet. Annai Krūklītei* – Helmaņa ielā 8, Jelgavā, LV-3004, e-pasts: anna.kruklite@lbtu.lv. Atsauksmes vēlams sūtīt ieskanētā veidā ar parakstu.

TABLE OF CONTENTS/ SATURA RĀDĪTĀJS

INTRODUCTION	5
MATERIALS AND METHODS.....	11
Study design for the detection of <i>Giardia duodenalis</i> in cattle, domestic dogs, and wild canids	11
Microscopical analysis of fecal samples	15
<i>Giardia duodenalis</i> molecular identification	17
Questionnaires	20
Data analysis	20
RESULTS AND DISCUSSION	23
Prevalence, cyst load, genetic diversity, animal-level and herd-level factors potentially associated with <i>Giardia duodenalis</i> in cattle in Latvia	23
Prevalence, cyst load, genetic diversity, animal-level and housing factors potentially associated with <i>Giardia duodenalis</i> in domestic dogs in Latvia.....	32
Prevalence, cyst load, genetic diversity, and animal-level factors potentially associated with <i>Giardia duodenalis</i> in red foxes and raccoon dogs in Latvia	37
Environmental contamination potential of <i>Giardia duodenalis</i> from cattle and canids in Latvia with emphasis on the zoonotic assemblage A.....	40
CONCLUSIONS	46
PRACTICAL RECOMMENDATIONS.....	47
IEVADS	48
MATERIĀLI UN METODES	54
Pētījuma shēma <i>Giardia duodenalis</i> izplatības noteikšanai govīm, mājas suņiem un savvaļas suņu dzimtas dzīvniekiem	54
Mikroskopiskā fekāliju izmeklēšana	58
<i>Giardia duodenalis</i> molekulārā identifikācija.....	59
Anketas	62
Datu analīze	63
REZULTĀTI UN DISKUSIJA	66
<i>Giardia duodenalis</i> izplatība, cistu izdalīšanās intensitāte, ģenētiskā daudzveidība, un to izplatību ietekmējošie faktori govīm Latvijā	66
<i>Giardia duodenalis</i> izplatība, cistu izdalīšanās intensitāte, ģenētiskā daudzveidība, un to izplatību ietekmējošos faktori mājas suņiem Latvijā ..	75
<i>Giardia duodenalis</i> izplatība, cistu izdalīšanās intensitāte, ģenētiskā daudzveidība, un to izplatību ietekmējošie faktori rudajām lapsām un jenotsuņiem Latvijā.....	79
Govju un suņu dzimtas dzīvnieku loma vides piesārņojumā ar <i>Giardia duodenalis</i> ar zoonotisko A apakštipu	83
SECINĀJUMI	89
PRAKTISKI IETEIKUMI	90

INTRODUCTION

Giardia duodenalis (syn. *G. lamblia*, *G. intestinalis*) is a food and water-borne protozoan parasite that can cause giardiasis in susceptible animal species and humans (Dixon, 2021). *G. duodenalis* can infect a wide range of hosts, including cattle, canids – dogs, foxes, raccoon dogs, and humans, which may become asymptomatic carriers of *G. duodenalis* (Dixon, 2021). Assemblages A and B are zoonotic and had caused several *Giardia*-associated outbreaks in humans (Dixon, 2021). In individuals with underlying health conditions the protozoan may cause clinical infection which manifestations vary from mild to severe or acute to chronic diarrhea, resulting in fluid, electrolyte, or nutrient malabsorption (O’Handley et al., 2003; Geurden et al., 2010; Dixon, 2021). Even though no long-term studies have been done on impact of giardiasis on calves and dogs, the infection causes severe weight loss and reduction in weight in lambs (Aloisio et al., 2011; Sweeny et al., 2011; Šmit et al., 2023). Since 2004, *G. duodenalis* has been included in the Neglected Disease initiative of the World Health Organization (WHO) and is currently ranked as the 6th and 8th the most important foodborne parasite in Europe and Eastern Europe, respectively (Savioli et al., 2006; Bouwknegt et al., 2018). *G. duodenalis* cysts are small (7–10 µm) with thick walls that make them highly robust in the environment and enhance the survival of the pathogen under harsh environmental conditions. The infectious dose can be as low as 10 cysts to cause clinical signs and this parasite is well adapted to be transferred via food, feed, and especially water (Dixon, 2021).

Within the One Health concept, *G. duodenalis* is an important human and animal pathogen (Geurden et al., 2010). *G. duodenalis* prevalence in cattle in Europe reached 31.1%, with the highest prevalence observed in calves (Taghipour et al., 2022). *G. duodenalis* usually affects one-month-old calves, and out of eight *G. duodenalis* assemblages, three were found in cattle – assemblage E, which is cattle-specific, and zoonotic assemblages A and B (Dixon, 2021). One infected cattle can excrete from 10⁵ to 10⁶ cysts with one gram of feces, and due to asymptomatic or chronic nature of infection, infected animals are hard to identify and isolate to prevent further spread of the pathogen (Fayer et al., 2000; Dixon et al., 2021). Additionally, cattle could be potential reservoirs for the zoonotic *G. duodenalis* assemblages A and B (Coklin et al., 2007; Bartley et al., 2018; Zahedi et al., 2020). Chronic giardiasis in cattle can last up to several months and together with the release of large amounts of feces (up to 30 kg) ensures prolonged environmental contamination (Aland et al., 2002). If untreated cattle manure containing zoonotic *G. duodenalis* assemblages is used in field and garden fertilization, it can contaminate not only crops but also the surface and underground water sources (Martinez et al., 2009). There have been concerns on a role of domestic and wild canids in the spread of *G. duodenalis* with domestic dogs and red foxes being expected to serve as potential source of *G. duodenalis* for humans (Traub et al., 2004; Onac et al., 2015; Adell-Aledón et al., 2018;

Moghaddasi et al., 2024). However, scarce information is available about *G. duodenalis* assemblages in wild raccoon dogs, with dog-specific assemblage D being reported in farmed raccoon dogs in Poland (Solarczyk et al., 2016).

Dogs are among the most popular pets and may become an infection source for owners (Sun et al., 2023). In dogs, *G. duodenalis* is one of the most detected parasites, especially in animals from shelters and kennels, with the worldwide prevalence of 15.2% (n = 4,309,451) (Claerebout et al., 2009; Ferreira et al., 2011; Bouzid et al., 2015). Giardiasis in dogs, similar to cattle, is often asymptomatic, but in puppies, mild to severe intermittent diarrhea can be observed (Feng & Xiao, 2011). Red foxes and raccoon dogs are often seen in various environments – forests, countryside, cities, and suburban territories without direct contact with humans. However, their broad environmental habitat creates a risk of contamination of larger areas with zoonotic *G. duodenalis* assemblages (Debenham et al., 2017).

In humans, *G. duodenalis* causes acute or chronic diarrhea accompanied by bloating, nausea, and abdominal pain and can lead to lower cognitive functions, allergies, vitamin and mineral deficiencies (Akkaub & Buret, 2020). The pathogen has been associated with pancreatic cancer (Furukawa et al., 2011; Akkaub & Buret, 2020). Additional long-term effects such as failure to thrive and stunted growth have been observed in children when infected in the first years of their lives (Bergman et al., 2005; Botero-Garcés et al., 2009).

Cattle farming has been listed as one of the main sources for the environmental contamination with zoonotic pathogens, mostly due to usage of untreated manure for crop fertilization (Koyun et al., 2023). This subsequently can increase the risk of water and food contamination, therefore increasing the probability of pathogen-associated outbreaks (Koyun et al., 2023). Using untreated manure for field fertilization has resulted in increased food and water contamination with the zoonotic protozoa due to run-offs and the sale of contaminated food directly from the fields (Lewerin et al., 2020). The rise of miniature or petting zoos and open farms could increase contact of humans, pets and wildlife with potentially infected cattle and other livestock (Dunn et al., 2015; Conrad et al., 2017). Also recreational water systems and open water sources may promote further spread of the pathogen (Brunn et al., 2018).

To the best of our knowledge, no studies about *G. duodenalis* in cattle and cattle herds, domestic dogs, red foxes, and raccoon dogs have been published in Latvia. Data about factors that affect the prevalence of *Giardia* in cattle, domestic dogs, and wild canids, their genetic diversity and zoonotic potential are largely missing. Since there is a lack of studies to tackle the environmental transmission of *G. duodenalis*, especially within One Health approach, to prevent foodborne and waterborne transmission of the pathogen, research on the epidemiology of *G. duodenalis* is needed.

The **following theses** were put forward:

1. *G. duodenalis* prevalence, cyst load, and assemblage distribution differs among cattle, domestic dogs, red foxes, and raccoon dogs in Latvia;
2. animal-level factors, including age and sex, as well as management, and housing practices, influence risk of *G. duodenalis* infection in cattle, domestic dogs, red foxes, and raccoon dogs in Latvia;
3. zoonotic *G. duodenalis* assemblages are present in cattle, domestic dogs, red foxes and raccoon dogs in Latvia;
4. cattle contribute the largest *G. duodenalis* cyst load to the environmental contamination;

Problem analysis:

There is a lack of knowledge regarding *G. duodenalis* prevalence, cyst load, and genetic diversity of *G. duodenalis*, particularly the zoonotic assemblages A and B in cattle, domestic dogs, red foxes, and raccoon dogs in Latvia. Limited information is available on animal-level and management and housing factors affecting *G. duodenalis* prevalence in these animals. Understanding of factors affecting the prevalence of the pathogen is crucial for assessing the risk of environmental contamination and potential zoonotic transmission, especially within the One Health framework. Filling knowledge gaps could further determine factors such as whether a zoonotic outbreak in humans in Latvia may occur and whether the source could be of animal origin.

The aim of the doctoral thesis was to analyze the prevalence, cyst load, and genetic diversity of *G. duodenalis* in cattle (*Bos taurus*), domestic dogs (*Canis familiaris*), red foxes (*Vulpes vulpes*), and raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) in Latvia, to identify factors associated with the increased prevalence of *G. duodenalis* in studied animal species and to assess their potential contribution to environmental contamination.

Tasks of the doctoral thesis:

1. to analyze the prevalence, cyst load, genetic diversity, animal-level and herd-level factors potentially associated with *G. duodenalis* in cattle;
2. to detect the prevalence, cyst load, genetic diversity, and animal-level and housing factors potentially associated with *G. duodenalis* in domestic dogs;
3. to establish the prevalence, cyst load, genetic diversity, and animal-level factors potentially associated with *G. duodenalis* in red foxes and raccoon dogs;
4. to assess and compare the cyst-shedding intensity of cattle and canids, to determine their contributions to environmental contamination with *G. duodenalis* zoonotic assemblage A.

Scientific novelty of the doctoral thesis:

1. the first study in Latvia on the prevalence of *G. duodenalis*, cyst load, genetic diversity in cattle, domestic dogs, red foxes and raccoon dogs in Latvia, revealing *G. duodenalis* assemblages C, D and E and the zoonotic assemblage A;
2. identified factors associated with the prevalence of *G. duodenalis* in cattle, domestic dogs, red foxes and raccoon dogs in Latvia, providing veterinarians and experts in the field with insight into how to limit the spread of this parasite;
3. provides insight into the potential dissemination of zoonotic *G. duodenalis* assemblage A in the environment within the One Health approach.

Authors' personal contributions:

1. collection of feces from cattle;
2. communication with the herd owners and dog owners to collect fecal samples and conduct questionnaires;
3. feces preparation using immunofluorescence staining technique for *G. duodenalis* cyst detection and microscopy;
4. molecular analyses, including genomic *G. duodenalis* DNA isolation, Polymerase Chain Reaction (PCR), and Restriction Length Fragment Polymorphism Analysis (RFLP), were done personally in most cases;
5. descriptive statistics and risk and protective factor analysis using generalized linear mixed and generalized linear models to identify risk and protective factors associated with the prevalence of *G. duodenalis* in animal species were done personally in most cases.

Approbation of scientific work:

List of original publications in journals that are indexed in SCOPUS and Web of Science databases and are included in the thesis:

1. **Mateusa, M.**, Ozoliņa, Z., Terentjeva, M., & Deksne, G. (2023). *Giardia duodenalis* Styles, 1902 prevalence in cattle (*Bos taurus* Linnaeus, 1758) in Europe: A systematic review. *Microorganisms*, 11(2), 309. IF 4.926. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020309>
2. **Mateusa, M.**, Selezņova, M., Terentjeva, M., & Deksne, G. (2023). *Giardia duodenalis* (Styles, 1902) in cattle: isolation of calves with diarrhoea and manure treatment in the lagoon presented as protective factors in Latvian herds. *Microorganisms*, 11(9), 2338, IF 4.926, <https://doi.org/10.3390/microorganisms11092338>
3. **Mateusa, M.**, Cīrulis, A., Selezņova, M., Šveisberga, D.P., Terentjeva, M., & Deksne, G. (2024). *Cryptosporidium* spp. are associated with *Giardia duodenalis* co-infection in wild and domestic canids. *Animals*, 14(23), 3484, IF 2.7, <https://doi.org/10.3390/ani14233484>

Result reports at international conferences on the topic of the doctoral thesis:

1. Deksnē, G., **Mateusa, M.**, & Krūmiņa, A. (2021). Occurrence of important foodborne zoonotic pathogens in Latvia – *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis*. *RSU International Research Conference on Medical and Health Care Sciences “Knowledge for Use in Practice”*. Riga, Latvia. 24.03.–26.03.2021.
2. **Mateusa, M.**, Terentjeva, M., & Deksnē, G. (2021). *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. prevalence in cattle in Latvia”, 9th Conference of the Scandinavian-Baltic Society for Parasitology (SBSP), Vilnius, Lithuania, 21.04.2021.–23.04.2021.
3. **Mateusa, M.**, Terentjeva, M., & Deksnē, G. (2021). *Giardia duodenalis* prevalence in cattle in Latvia”, 13th European Multicolloquium of Parasitology, Belgrad, Serbia, 12.10.2021.–16.10.2021.
4. **Mateusa, M.**, Selezņova, M., & Deksnē, G. (2022). Zoonotic parasites in red foxes (*Vulpes vulpes*) and raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*), 80th International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga, Latvia, 03.02.2022.
5. **Mateusa, M.**, Rozenfelde, M., Upeniece, M., Terentjeva, M., & Deksnē, G. (2023). Prevalence of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in domestic dogs (*Canis familiaris*). 81st International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga, Latvia, 25.01.2023.
6. **Mateusa, M.**, Šveisberga, D. P., Terentjeva, M., & Deksnē, G. (2023). *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in untreated wastewaters in Latvia: Preliminary results. 10th Conference of the Scandinavian-Baltic Society for Parasitology, Tartu, Estonia, 05.06.2023.–07.06.2023.
7. **Mateusa, M.**, Šveisberga, D. P., Rozenfelde, M., Selezņova, M., Terentjeva, M., Krūmiņa, A., & Deksnē, G. (2024). *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. from One Health perspective in Latvia. 14th European Multicolloquium of Parasitology, Wroclaw, Poland, 26.08.2024.–30.08.2024.

Publication associated with the topic of the doctoral thesis that is indexed in the SCOPUS and Web of Science databases but not included in the doctoral thesis:

1. Deksnē, G., Krūmiņš, A., **Mateusa, M.**, Morozovs, V., Šveisberga, D.P., Korotinska, R., Bormane, A., Vīksna, L., & Krūmiņa, A. (2022). Occurrence of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. infection in humans in Latvia: Evidence of underdiagnosed and underreported cases. *Medicina* (Kaunas). 24;58(4):471. IF 2.948. <https://doi.org/10.3390/medicina58040471>

List of popular science publications associated with the topic of the doctoral thesis that are not indexed in the SCOPUS databases and/or are not included in the doctoral thesis:

1. Deksnē, G., **Mateusa, M.**, & Ozoliņa, Z. (2020). Kriptosporidioze un žiardioze liellopos Latvijā Vienas Veselības kontekstā (Cryptosporidiosis and giardiasis in cattle in Latvia, from One Health context). *Veterinārais žurnāls*, Latvijas Veterinārārstu biedrības informatīvs biļetens, Rīga, Latvia, Autumn, 2020.
2. **Mateusa, M.**, Selezņova, M., Terentjeva, M., & Deksnē, G. (2023). Kriptosporīdijas un žiardijas suņos (*Cryptosporidium* and *Giardia* in dogs), *Veterinārais žurnāls*, Latvijas Veterinārārstu biedrības informatīvs biļetens, Rīga, Latvia, Winter, 2023.
3. Deksnē, G., Šveisberga, D. P., **Mateusa, M.**, & Krūmiņa, A. (2024). Kriptosporidioze un žiardīāzes no “Vienas veselības” skatpunkta (Cryptosporidiosis and giardiasis from “One Health” perspective). *Latvijas Ārsts, nacionālais medicīnas žurnāls*, Rīga, Latvia, March–April, 2024.
4. **Mateusa, M.**, Selezņova, M., Cīrulis, A., & Deksnē, G. (2024). Kriptosporīdijas un žiardijas savvaļas suņu dzimtas dzīvniekos (*Cryptosporidium* and *Giardia* in wild canids). *Veterinārais žurnāls*, Latvijas Veterinārārstu biedrības informatīvs biļetens, Rīga, Latvia, Summer, 2024.

Ten conclusions and four practical recommendations have been formulated at the end of the doctoral thesis. There are **142 pages, 41 tables, 32 figures**, and **seven appendices** attached. The bibliography contains **319 references**.

MATERIALS AND METHODS

Study design for the detection of *Giardia duodenalis* in cattle, domestic dogs, and wild canids

Study design for the detection of *Giardia duodenalis* in cattle in Latvia.

From March 2019 to March 2020, cattle herds were visited to collect fecal samples for the detection of *G. duodenalis* and to gather information about herd management practices. A total of 973 individual cattle were sampled from four regions: Kurzeme (n = 283), Latgale (n = 91), Vidzeme (n = 244), and Zemgale (n = 355). A total of 853 female and 120 male cattle were examined. In total, samples were obtained from 32 herds, with the highest number of herds from Zemgale (n = 12), followed by Kurzeme (n = 9), Vidzeme (n = 9), and Latgale (n = 3) (Figure 1).

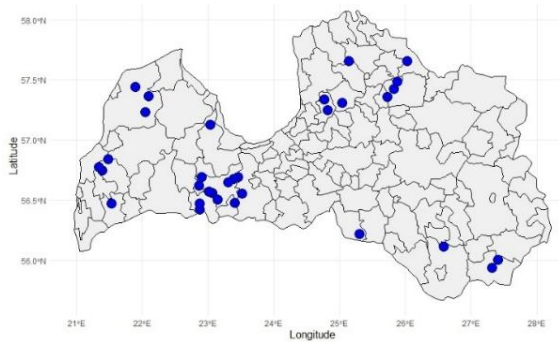


Figure 1. **Distribution of sampled cattle herds in Latvia** (blue dots)

Furthermore, fecal samples were collected from 13 cattle breeds with the majority of samples collected from Holstein Friesian (HM) (n = 699), followed by Holstein Red and White (HS) (n = 122); Latvian brown (LB) (n = 71), Limousin (LI) (n = 35), Danish Red (DS) (n = 19); mixed breed (XX) (n = 14) and 13 samples collected from six other breeds with number of collected samples varying from 1–4.

For each month when cattle were sampled, data on the mean temperature, precipitation, and air humidity were acquired from Latvian Environment, Geology and Meteorology Center (LEGMC, www.klimats.meteo.lv).

The required sample size for the study was determined based on Latvia's cattle population size of 395,320 (Agricultural Data Centre Republic of Latvia, accessed on January 1st, 2020).

To calculate the minimal number of cattle needed for sampling, a 95% confidence interval, assuming a 50% infection rate within the population was used. At the end, a minimum of 384 cattle needed to be sampled. Even though the sampling approach was designed to be proportionally stratified across

Latvian counties, only herds from which owners responded positively to the study were sampled and were not excluded from the study. Therefore, convenience sampling (haphazard or accidental sampling) was used (Etikan et al., 2015).

Potential herd owners or overseeing veterinarians were contacted for the sampling via telephone. A herd was visited once during the study period. The primary inclusion criteria were cattle herds with different management systems, such as organic, conventional, and untethered and tethered management types. Furthermore, the study aimed to represent a spectrum of herd sizes, encompassing large industrial operations to smaller family-owned cattle herds. If possible, fecal samples were gathered from both sexes and various cattle breeds. The exclusion criteria were if the owners did not agree to the study, or the agreement process for study was not finalized.

Up to 45 fecal samples were collected from each herd, distributed across the three age groups. The categorization of cattle age groups was established by considering the distinct management practices associated with different age brackets and the biology of *G. duodenalis*, without considering the physiological age of the cattle.

The categorization of age was done as follows:

- 0–3 months;
- 4–24 months;
- 24 months and above.

Calves up to 3 months of age experience a more pronounced clinical impact from *Giardia* and excrete a higher amount of *Giardia* cysts that could contaminate the environment (O’Handley et al., 2001; Trout et al., 2005; Mark-Carew et al., 2010). Additionally, calves in this age bracket often receive milk as an additional food source, reflecting their unique dietary needs and infection vulnerability (Rosenberger et al., 2017). Cattle between 4–24 months old are typically maintained on standard cattle feed and are grouped based on their similar dietary requirements and management practices (Curtis et al., 2018). Cattle older than 24 months, being involved in calving and giving birth to new calves, are more likely to transmit infections to neonatal calves during birth or soon after due to the rise of excreted *Giardia* cysts around the perinatal period (Ralston et al., 2003; Mark-Carew et al., 2010).

The sampled cattle in each age group were chosen by convenience (Etikan et al., 2015). For example, the cattle were sampled, when they were about to defecate or had just freshly defecated, and the feces had no visual changes before collection (such as contamination with litter or hoof prints). If it was possible, when sampling the cattle from the 0–3-month-old group, random sampling technique was used to collect feces from calves with and without diarrhea. In herds where the predetermined sample quota could not be obtained from a particular age group, all available animals within that specific age group were sampled to ensure comprehensive coverage within each category.

Fecal samples were collected with a clean latex glove and put in a single-use plastic container; the latex glove was changed after every sample collection. Only the top part of freshly defecated feces was collected to minimize feces cross-contamination with other pathogens. An anonymous identification number was assigned for each cattle.

For each animal, a questionnaire was completed by the sample collector together with herd owner or veterinarian, recording the cattle's identification number, sex, breed, fecal consistency, and whether the cattle had been brought to the herd (Appendix 1). All sensitive data were made anonymous by assigning an individual laboratory number for each herd. Afterward, samples were put in a cooling box with cold elements, which ensured 4 °C until transported to the Institute "BIOR", Parasitology laboratory, on the same day of collection, where they were stored for up to two weeks at 4 °C until further testing.

Study design for the detection of *Giardia duodenalis* in domestic dogs in Latvia.

The samples of feces from domestic dogs were collected from April 2020 to May 2022. In total, 373 dogs were tested for *G. duodenalis*, including 183 female and 190 male dogs. Of these, 328 were privately owned and 45 were shelter dogs. Fecal samples were collected from 64 dog breeds, which were categorized as "breed" dogs (218) and no-breed dogs (155). Regionally, samples were collected from Latgale (22), Kurzeme (57), Zemgale (88), and Vidzeme (206) (Figure 2).

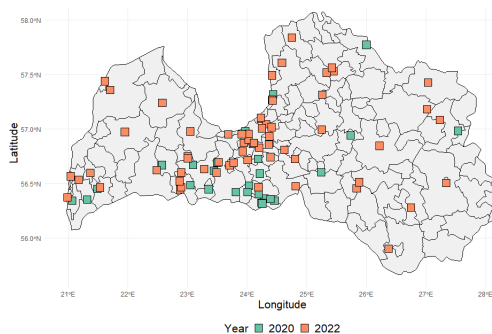


Figure 2. Distribution of sampled domestic dogs in Latvia (green and orange squares)

For each month when domestic dogs were sampled, data on mean temperature, precipitation, and air humidity were acquired from LEGMC (www.klimats.meteo.lv).

The required number of domestic dogs for this study was calculated based on a 95% confidence interval and assuming a 40% infection rate within the domestic dog population (Bouزيد et al., 2015). Data from the Agricultural Data Centre Republic of Latvia was retrieved to calculate the necessary sample size for domestic dogs, which in 2020 was 132,750. The minimal necessary sample size

was calculated to be 323 (Agricultural Data Centre Republic of Latvia, accessed on January 1st, 2020). A haphazard sampling technique was used to collect the samples – advertisements on social media, such as Facebook, and news outlets, such as BezTabu, www.lsm.lv, and the Institute “BIOR” homepage (www.bior.lv), were posted to reach a wider target audience. Individual invitations to participate in the study were also sent to veterinary clinics and dog shelters.

Descriptions of the study in Latvian with a detailed explanation of the feces collection process were provided to the owners, veterinarians, and dog shelter experts in both study periods. Participants were instructed to collect feces for three days straight, put them in a clean, waterproof container, and keep the collected samples at 4 °C until transported to the Institute “BIOR”, Parasitology group, until further testing, which was done within one week after the samples were delivered to the laboratory.

Age of the dogs was categorized in age groups by Harvey (2021):

- < 2 years old: puppies;
- 2 to 7 years old: adults;
- 8 to 11 years old: seniors;
- > 12 years old: geriatric.

At the laboratory, an individual identification number was added to provide anonymity. Fecal consistency was noted (liquid, soft, formed), and the samples were stored at 4 °C for two weeks until further testing.

Study design for the detection of *Giardia duodenalis* in red foxes and raccoon dogs in Latvia.

From February 2020 to January 2023, a total of 219 red fox and 78 raccoon dogs carcasses were collected by hunters. Red foxes and raccoon dogs were shot by hunters according to the Rabies vaccination and prevention program organized by the Food and Veterinary Service of Latvia (Zemkopības ministrija & Pārtikas un veterinārais dienests, 2021).

Among red fox samples, 182 were from Latgale, 27 from Vidzeme, 5 from Zemgale, and four from Kurzeme, and tested for *G. duodenalis* (Figure 3).

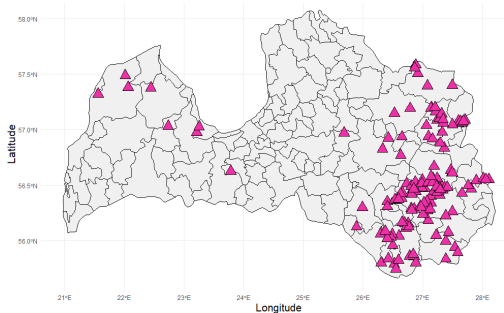


Figure 3. Distribution of the hunted red foxes (red triangles)

The red foxes were collected from 23 hunting parishes from eight forestry districts of Latvia – Austrumlatgale, Dienvidlatgale, Centrālvidzeme, Ziemeļaustrumu, Ziemeļvidzeme, Zemgale, Sēlija, Ziemeļkurzeme.

Out of a total of 78 raccoon dogs were collected and examined for *G. duodenalis*, 69 were from Latgale, 7 from Vidzeme, and 2 from Zemgale (Figure 4).

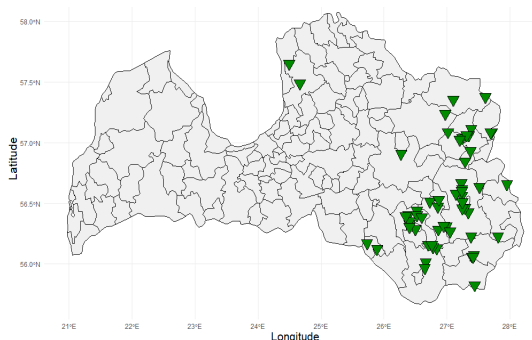


Figure 4. **Distribution of the hunted raccoon dogs** (green triangles)

The raccoon dogs were collected from 13 hunting parishes of six forestry districts of Latvia – Austrumlatgale, Dienvidlatgale, Centrālvidzeme, Ziemeļaustrumu, Ziemeļvidzeme, Sēlijas.

For each month when red foxes and raccoon dogs were sampled, data on the mean temperature, precipitation, and air humidity were acquired from LEGMC (www.klimats.meteo.lv).

After shooting the animal, the hunter determined the age of the animal (if possible) and sent the carcass to the Institute “BIOR”. In the Institute “BIOR”, Pathology group. The intestinal tract was removed and put in a waterproof container and stored in the freezer (-30 °C) for up to a month. Afterwards, the intestinal tract was defrosted and feces were collected from the rectum, put in a waterproof container, labelled with an identification number, and stored at 4 °C for up to a week until further testing.

For red foxes and raccoon dogs, age was categorized into defined age ranges. Red foxes were grouped in five age categories: 1–1.5 years, 2–2.5 years, 3–3.5 years, 4, and 5 years, but raccoon dogs in four groups – 1–1.5 years, 2–2.5 years, 3–3.5 years, and 4.5 years old.

Microscopical analysis of fecal samples

Fecal samples preparation.

To process the samples, a saturated sodium chloride (NaCl) method was used (Kuczynska & Shelton, 1999; Maddox-Hyttel et al., 2006).

To prepare the sample, one gram of the individual feces was weighed into a clean, single-use 15 ml centrifuge tube (SARSTEDT, Nümbrecht, Germany).

The sample purification and sedimentation process was as follows:

1. Four milliliters of distilled water was added to the fecal sample and mixed thoroughly for 30 seconds, or until the sample was thoroughly mixed/ using a vortex (Vortex V-1 plus, Biosan, Latvia). Then a 4 ml of saturated NaCl with a density of 1.18 was added and mixed thoroughly for 30 seconds, the 15 ml tube was centrifuged using Hermle Z446K (HERMLE Labortechnik GmbH, Germany) for one minute at 1540 x times gravity (g).
2. After, 8 ml of the supernatant was poured into a clean, single-use 50 ml centrifuge tube (SARSTEDT, Nümbrecht, Germany), to which distilled water was added until the 45 ml mark, and centrifuged for 10 minutes at 1540 x g.
3. The top layer was discarded in one go till the 15 ml mark, the sediment was vortexed until it was fully dissolved (approximately 30 seconds), and the distilled water was added till the 45 ml mark, and centrifuged again for 10 minutes at 1540 x g. This step was repeated twice. The top layer was discarded until the 5 ml mark. The final top layer was removed with a 100-1000 µl single-channel micropipette (Transferpette® S, Brand, Germany) and a clean pipette tip until the 2 ml mark. Sediment were carefully mixed with the tip.
4. The sediment was transferred to a sterile 2 ml Eppendorf-type tube, and the tube was stored at 4 °C until further testing for up to one month.

***Giardia duodenalis* cyst staining with the immunofluorescence technique and microscopy.**

Giardia cysts were detected with the immunofluorescence technique using A100FLR-20X AquaGlo™ G/C Direct Reagent kit (Waterborne, INC, New Orleans, USA) according to the manufacturer's instructions.

The positive control was examined first for every batch. All brightly green-stained cysts with typical morphology and size were counted in all wells.

G. duodenalis cysts are typically oval and 7.0–10.0 µm in size. The immunofluorescence staining kit that was used also detects *Cryptosporidium* spp. oocysts. To measure the cysts or differentiate between the larger *C. andersoni* oocysts and *Giardia* cysts, the Nis-Elements AR 4.00.00 program was used. Compared to *Giardia* cysts, *C. andersoni* oocysts are 7.4 ± 5.5 µm in size, but *Giardia* cysts are 7–10 µm in diameter (Lindsay et al., 2000; Adam, 2001).

***Giardia duodenalis* molecular identification**

***Giardia duodenalis* DNA extraction from positive samples from positive cattle, domestic dogs, red foxes, and raccoon dogs.**

All microscopically positive samples were subjected to the molecular identification of *G. duodenalis*. In total, 145 IFM-positive fecal samples (82 cattle, 40 dogs, 23 red foxes, and raccoon dogs) were analyzed.

Genomic DNA was extracted from the 2 ml purified samples using the DNeasy® PowerSoil® Pro Kit (QIAGEN, Hilden, Germany), according to the manufacturer's instructions (Qiagen, 2023).

PCR amplification for *Giardia duodenalis* detection.

The identification of *G. duodenalis* was conducted using two consecutive nested PCR amplifications according to a method described by the European Reference Laboratory of Parasites by targeting the *beta-giardin* (*bg*) gene (EURLP, MI-09-rev-2). The manufacturer's instructions for the Taq PCR Master Mix kit (QIAGEN, Hilden, Germany) were followed. *Giardia* genomic DNA and nuclease-free water were used for quality control as positive and negative controls, respectively. Oligonucleotide sequences used are summarized in Table 1 (Lalle et al., 2005; EURLP, MI-09-rev-2).

Table 1. Oligonucleotide mixture names with their representative codes and sequences used for the identification of *Giardia duodenalis* (Lalle et al., 2005)

Oligonucleotide mixture name	Code	Oligonucleotide sequence
SetA	BGFor71	5'-CCCGACGACCTCACCCGCAGTCG-3'
SetA	BGRev794	5'-GCCGCCCTGGATCTTCGAGACGA-3'
SetB	BGinfFor	5'-GAACGAACGAGATCGAGGTCCG-3'
SetB	BGintRev	5'-CTCGACGAGCTTCGTGTT-3'

A total of 10 µl of the DNA was processed for the initial PCR amplification. The necessary amplification mix was prepared for a single sample (Table 2).

Table 2. Master mix for the initial PCR amplification for *Giardia* genus detection

Reagent	Volume (µl)
ddH ₂ O (QIAGEN, Hilden, Germany)	31.5
10x PCR buffer (QIAGEN, Hilden, Germany)	5
Taq DNA polymerase (QIAGEN, Hilden, Germany)	0.5
dNTP mix (QIAGEN, Hilden, Germany)	2
SetA (BGFor71; BGRev794)	1

Amplification was done in ProFlex PCR system (Thermo Fisher Scientific, USA) with the necessary amplification cycles (Table 3).

Table 3. PCR conditions for *Giardia* genus detection

PCR conditions	Time	Temperature, °C
Pre-denaturation	3 minutes	94
Amplification (35 cycles)	30 seconds	94
	30 seconds	55
	60 seconds	72
Final extension	10 minutes	72

After the amplification, tubes were centrifuged for five seconds and kept at 4 °C until the further nested PCR step.

Nested PCR for *Giardia duodenalis* detection.

For nested PCR, a new amplification mix with SetB oligonucleotide mix was prepared for each sample (Table 4).

Table 4. PCR master mix for nested amplification of *Giardia duodenalis*

Reagent	Volume (µl)
ddH ₂ O (QIAGEN, Hilden, Germany)	36.5
10x PCR buffer (QIAGEN, Hilden, Germany)	5
Taq DNA polymerase (QIAGEN, Hilden, Germany)	0.5
dNTP mix (QIAGEN, Hilden, Germany)	2
SetB (BGinfFor; BGintRev)	1

For *G. duodenalis* detection, ProFlex PCR system was used (Thermo Fisher Scientific, USA). The PCR conditions are shown in Table 5.

Table 5. PCR conditions for *Giardia duodenalis* detection

PCR conditions	Time	Temperature, °C
Pre-denaturation	3 minutes	94
Amplification (35 cycles)	30 seconds	94
	30 seconds	53
	60 seconds	72
Final extension	7 minutes	72

At the end of the nested PCR reaction, tubes were centrifuged for five seconds and vortexed. Amplifications of 511 base pairs (bp) were visualized with capillary gel electrophoresis (QIAxel Advances, QIAGEN, Hilden, Germany). Nested PCR products with 511 bp were subjected to Restriction Length Fragment Polymorphism (RLFP) analysis.

Restriction Length Fragment Polymorphism analysis for detection of *Giardia duodenalis* assemblages.

For RLFP, restriction endonuclease HaeIII (New England Biolabs, USA) was used to recognize the 511 bp PCR products and detect *G. duodenalis* assemblages. The oligonucleotide sequences that are recognized by the HaeIII are 5'...GC▼CC...3' and 3'...CC▲GG...5'. For RFLP, a mix with restriction endonuclease was prepared (Table 6), to which 10 µl DNA obtained by nested PCR was added. A total of 81 nested-PCR-positive samples (62 cattle, 16 dog, 2 red fox and 1 raccoon dog) were subjected to the RLFP analysis.

Table 6. Enzymatic digestion mix for Restriction Length Fragment

Reagent	Volume, µl
ddH ₂ O	7
10x rCutSmart™ Buffer (New England Biolabs, USA)	2
HaeIII (New England Biolabs, USA)	1

After the enzymes were added to the DNA and processed in in PCR cycler (ProFlex PCR system, Thermo Fisher Scientific, USA) for 3 hours at 37 °C. Afterward, the obtained PCR-digested fragments were run on capillary electrophoresis (QIAxel Advances, QIAGEN, Hilden, Germany) to visualize the results of the 511 bp digestion to determine the *G. duodenalis* assemblage (Table 7).

Table 7. *Giardia duodenalis* assemblages based on the size (in base pairs) of the beta-giardin fragments after HaeIII endonuclease digestion (Lalle et al., 2005)

Assemblage	Digestion Fragments (bp)
A	201, 150, 110, 50
B	150, 117, 110, 84, 26, 24
C	194, 150, 102, 50, 15
D	200, 194, 117
E	186, 150, 110, 26, 24, 15
F	186, 150, 110, 50, 15
G	194, 165, 102, 50

Questionnaires

Questionnaire about management information at cattle herds.

An questionnaire was designed to acquire information about cattle herds, herd management practices, calf management, and the surrounding herd area. A written consent was obtained from owners, herd managers, and responsible veterinarians to collect fecal samples and the associated data.

Interviews were conducted in Latvian, in person, on the day of the sampling, by interviewing either the herd owner, herd manager, or responsible veterinarian. The questionnaire was either filled with the help of the researcher, or the physical questionnaire was given to the managing person on-site to fill out, while the sample collection was done afterward. After completing the questionnaire, an individual identification number was assigned for each interviewed herd to ensure anonymity.

The questionnaire was organized into five main sections: General herd information: details about the herd (herd size, location, management type); Calf management: information on calving location, separation from the dam, colostrum intake, calf grouping, and calf diarrhea occurrences; Walking areas and pastures: walking area, and pasture seasons; Feed and herd management: pasture manure management, equipment cleaning, deworming, rodent control, personnel hygiene, and biosecurity; Herd surroundings: the presence of wild and domestic animals and distances from nearby farms and water bodies.

Questionnaire about management information on domestic dogs and wild canids.

Questionnaire on housing condition of domestic dogs were filled by the animal owners. **The questionnaire was organized in six main sections:** General information (age, breed, sex, living habitat); Daily activities and their frequency (walks in the city, forest, meadow, park); Information about diarrhea; Information about deworming (medication used, frequency); Feed (raw, commercial, game meat, home-cooked); Contact with other animals (including livestock).

Questionnaire on animal age and area was filled by hunters and submitted with the red fox and raccoon dog carcasses. Age was determined by the hunters based on the animals' dental wear.

Data analysis

Descriptive statistics.

The data were analyzed using OpenEpi (Dean et al., 2015) and RStudio with R version 4.4.2. (<https://www.r-project.org/>). The Mid-p Exact method in OpenEpi was used to calculate 95% confidence intervals (CI) for the prevalence

and proportions of *G. duodenalis* positive animals, assuming binomial distribution. To calculate statistical significance, the two-tailed Fisher's exact test was applied and $p < 0.05$ was considered statistically significant.

For the study population, means and median were calculated for the age of the animals, as well as for the number of sampled cattle per herd.

An animal was classified as infected with *G. duodenalis* if at least one cyst was detected in the analyzed samples. For cattle, a herd was considered positive if at least one cattle shed *G. duodenalis* cysts.

Prevalence (1.) was calculated as follows:

$$\left(\frac{A}{B}\right) * 100 = X \quad (1.)$$

where A – positive samples;

B – total number of analyzed samples;

X – prevalence, %.

The total cysts per gram (2.) were calculated according to Maddox-Hyttel et al., (2016) as follows:

$$C * 200 = x \quad (2.)$$

where C – total count of cysts in 10 μ l;
 x = CPG.

The means and medians of CPG were calculated for age groups, herd sizes, and sexes for cattle. For domestic dogs, means and medians were calculated for the CPG for age groups, breeds, and sex. For red foxes and raccoon dogs the CPG were analyzed for ages.

Chi-square test (χ^2) was used to test for associations between categorical variables such as age groups, sexes, herd sizes, breeds, and *G. duodenalis* infection status. Differences in CPG between groups were analyzed using the Kruskal-Wallis H test, as CPG values were non-normally distributed. Normality of CPG in each group was assessed using the Shapiro-Wilk test with $p < 0.05$ indicating deviation from normal distribution. If Kruskal-Wallis H test indicated significant differences between compared groups, pairwise comparison was done using the Wilcoxon ran-sum test or Dunn's test with Bonferroni correction, to adjust for multiple testing. Pearson's correlation coefficient was calculated to assess the relationship between environmental factors and *G. duodenalis* prevalence.

For cattle, herds were categorized into four size groups (<150, 151–250, 251–500, and >500) after the data collection to allow a meaningful statistical comparison while maintaining a balanced distribution of herds across the groups.

Mapping of sampled animals and *Giardia duodenalis* prevalence, with the proximity from surface waters.

For the geographic distribution of sampled and positive animal visualization, R and Rstudio version 4.2.2. (<https://www.r-project.org/>) with “sf”, “ggplot2” and “rnatualearth” packages were used. For each sampled animal, geographic coordinates (latitude and longitude) were available. Separate maps were generated for each species group to display positive and negative animals and *G. duodenalis* assemblage distribution.

To map out the assemblage A-positive animal proximity to waterbodies (<500m, 500-1000m, and 1000-1500m), cartographic outputs were produced using the Latvia TM projected coordinate reference system (EPSG:3059) (Latvian Geospatial Information Agency, 2022). Surface water features (rivers, lakes, ponds) were obtained from the Humanitarian OpenStreetMap Team (HOTOSM) dataset for Latvia (HOTOSM, 2023).

Risk and protective factor analysis in cattle, domestic dogs, red foxes, and raccoon dogs.

For cattle, potential risk and protective factors associated with *G. duodenalis*, were analyzed using generalized linear mixed models (GLMMs), fitted using maximum likelihood (Laplace approximation) using R and RStudio version 4.2.2. (<https://www.r-project.org/>). The “lme4” package (Bates et al., 2014) was used to fit the models by applying the “glmer” function with a binomial family, including herd identification numbers (FarmID) as a random variable to account for the clustering within the herds. All factors were assessed at the herd level, except for cattle age, sex, breed, and presence of diarrhea (present/not present), which were assessed individually. Age was expected to be an important effect-modifying factor, therefore was included in all models. Only cattle younger than 1500 days were included in the GLMM analysis, as the number of *Giardia*-positive cases among older cattle was too low, and models including them failed to converge or yielded unstable estimates. In addition to the GLMMs, a GLM with a binomial family was used to assess regional differences in *G. duodenalis* prevalence in cattle, including age as an effect-modifying factor.

To analyze factors associated with *G. duodenalis* in domestic dogs, red foxes, and raccoon dogs, generalized linear modeling (GLM) was performed using a binomial family. Forward and backward stepwise selection was applied, based on the lowest Akaike information criterion (AIC) values.

For both animal groups, variables that showed significance ($0.05 \leq p < 0.1$) in the initial models were retained for the final GLMM and GLM analysis. The final models were optimized through stepwise variable elimination, ensuring that this process did not increase the Akaike information criterion (AIC). The multicollinearity was checked using the “vif” function from the “car” package and included factors that appeared significant in the single-factor analyses and also made biological sense. Model fit was evaluated using Tjur’s coefficient of discrimination (Tjur’s R^2), calculated with the “performance” package.

Calculation of adjusted *Giardia duodenalis* cyst shedding rates in cattle and canids.

To estimate the potential environmental contamination from each animal species with *G. duodenalis*, adjusted daily cyst-shedding values were calculated. This was done by multiplying the median CPG by the average fecal mass per defecation (in grams) and the average number of defecations per day. Median CPG values were used from *G. duodenalis*-positive animals to reduce the influence of extreme outliers and better reflect central tendency of cyst excretion. The average weight of feces and defecation frequency for each species is shown in Table 8.

Table 8. Average fecal mass per defecation and average defecations per day in cattle, domestic dogs and red foxes

Animal species	Average fecal weight (g) per defecation	Average defecations per day	Reference
Cattle	1900	14	Aland et al., 2002
Domestic dogs	150	2	Wright et al., 2009
Red foxes	120	6.4	Ferreras et al., 2019

Because no specific data was available for raccoon dogs, it was assumed to be the same as red foxes, due to ecological similarities. The fecal output and defecation frequency were assumed to be consistent across age groups and breeds within each species to emphasize the overall environmental contamination rather than individual-level variation.

RESULTS AND DISCUSSION

Prevalence, cyst load, genetic diversity, animal-level and herd-level factors potentially associated with *Giardia duodenalis* in cattle in Latvia

The overall *G. duodenalis* prevalence in cattle was 8.4% (95% CI: 6.8–10.3), which was lower than previously reported in Europe, where the prevalence was up to 31.1% (Taghipour et al., 2022). In studies with application of immunofluorescence method for detection of *G. duodenalis* cysts, the higher overall prevalence rates in cattle were observed. For example, in Denmark, *G. duodenalis* prevalence was 43.6% (n = 1150), and in Greece – 41.3% (n = 254) (Maddox-Hyttel et al., 2006; Ligda et al., 2020). Studies utilizing other *G. duodenalis* diagnostic methods, such as enzyme-linked immunosorbent assay, retrieved varying prevalences between 32.2% (n = 503) in Italy, to 54.9% (n = 556) in the United Kingdom (Geurden et al., 2012). Immunofluorescence

microscopy is considered one of the best methods for detection of *G. duodenalis* cysts in feces and other biological materials as it shares both high sensitivity and specificity (Gotfred-Rasmussen et al., 2016; Aziz et al., 2024).

G. duodenalis prevalence in herds reached 84.4% (27/32; 95% CI: 67.8–93.6) with the 100% prevalence observed in herds with 251–500 and above 501 cattle per herd (7/7; 95% CI: 59.6–100.0; 8/8; 62.8–100.0), followed by 90.0% (9/10; 95% CI: 53.1–100.0) in herds with less than 150 cattle and the lowest prevalence of 42.9% (3/7; 95% CI: 15.7–75.0) was observed in herds with 151–250 cattle. Similarly, high herd-level prevalences have been reported in Spain (96.6%; $n = 60$), Germany (100.0%; $n = 31$), and the United Kingdom (100.0%; $n = 31$) (Castro-Hermida et al., 2007; Geurden et al., 2012). In our study, no significant differences ($p > 0.05$) were observed between herd size, *G. duodenalis* prevalence and cyst load. Similar results were also observed in dairy and beef calves and adult cattle, where no differences were observed between herd sizes (Uehlinger et al., 2011).

The highest *G. duodenalis* prevalence was observed in the 0–3-month-old cattle group (16.4%; 53/324; 95% CI: 12.7–20.8), followed by the 4–24-month-old (6.8%; 19/281; 95% CI: 4.3–10.4) and above 24-month-old cattle (2.3%; 10/368; 95% CI: 1.4–5.0). The highest mean cysts per gram (CPG) and the highest proportion of diarrhea in the *Giardia*-positive cattle were also observed in the 0–3-month-old cattle group (8109 CPG), compared to 4–24 (1284 CPG) and above 24-month-old (1780 CPG). A significant association was observed between age groups and *Giardia* prevalence $\chi^2 = 43.2$, $p < 0.05$. No significant association was observed between cattle age groups and shed *G. duodenalis* CPG ($p > 0.05$). The highest *Giardia* CPG shedding frequency with the broadest CPG range was also observed in cattle under three months old (Figure 5). The amount of *G. duodenalis* cysts varied significantly across cattle age groups ($p = 0.0005$) with the largest differences observed between calves under 3 months old and the other two groups: 4–24 months and >24 months old (Figure 5).

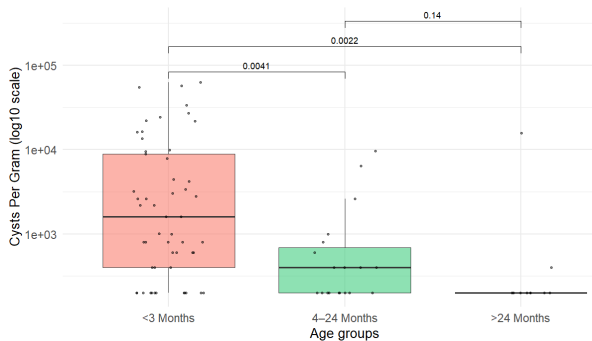


Figure 5. **Comparison of *Giardia duodenalis* cyst load across age groups.** Pairwise Wilcoxon test applied. Black, horizontal line within each box represents the median cysts per gram (CPG) per group

Between sexes, male cattle had 1.4 times higher *G. duodenalis* prevalence, compared to female cattle. In male cattle, higher proportion of diarrhea in *G. duodenalis*-positive cattle, higher median and mean CPG was observed, compared to female cattle with (Table 9).

Table 9. Prevalence of *Giardia duodenalis* and cyst load in male and female cattle

Sex	Total cattle analyzed	Prevalence (95% CI)*	Positive cattle with diarrhea (95% CI)	Mean CPG** (Min–Max)	Median CPG
Female	853	8.0 ^a (6.3–9.9)	14.5 (8.1–24.3)	5279 ^b (200–56,600)	600
Male	120	11.7 (6.7–11.8)	18.4 (9.7–31.6)	8071 (200–62,600)	2200

*CI: confidence interval; **CPG: cysts per gram; ^adifferences between *G. duodenalis* prevalence between cattle sexes were not significant ($p > 0.05$); ^bdifferences in *G. duodenalis* shedding between cattle sexes were not significant ($p > 0.05$).

No statistical association was observed between the *G. duodenalis* prevalence and sex ($\chi^2 = 1.4$, $p = 2.3$), or cyst shedding intensity ($p = 0.07$) (Table 9).

When further dividing cattle age groups according to their sexes, the highest *G. duodenalis* prevalence was observed in 0–3-month-old male cattle, compared to female cattle in the same age group (Table 10) and in the 4–24-month-old cattle group. The highest mean CPG was observed in the 0–3-month-old male cattle, compared to the female cattle in the same age group, but in the 4–24-month-old cattle group, female cattle had higher mean CPG, than male cattle (Table 10).

Table 10. Prevalence of *Giardia duodenalis* in male and female cattle, diarrhea in cyst-shedding cattle, and cyst load in different cattle age groups

Sex	Female			Male		
Age group	Total no. analyzed/ Prevalence (95% CI)*	Positive cattle with diarrhea (95% CI)	Mean CPG** (Min–Max)	Total no. analyzed/ Prevalence (95% CI)	Positive cattle with diarrhea (95% CI)	Mean CPG (Min–Max)
0–3 months	219/18.3 ^a (13.7–23.5)	12.7 (6.3–23.4)	7930 ^c (200–56,600)	105/12.4 ^a (7.5–20.2)	18.4 (9.7–31.6)	8661 ^c (200–62,600)
4–24 months	264/7.3 ^b (4.3–10.6)	23.1 (7.5–50.9)	1333 (200–9600)	12/8.3 ^b (0.0–37.5)	0.0	400 (400–400)

Sex	Female			Male		
Age group	Total no. analyzed/ Prevalence (95% CI)*	Positive cattle with diarrhea (95% CI)	Mean CPG** (Min–Max)	Total no. analyzed/ Prevalence (95% CI)	Positive cattle with diarrhea (95% CI)	Mean CPG (Min–Max)
>24 months	370/2.7 (1.4–5.0)	0.0	1780 (200–15,800)	0/0.0	0.0	NA***

*CI: confidence interval; CPG: cysts per gram; ***NA: not available; ^ano statistical differences were observed between *G. duodenalis* prevalence in the 0–3-month-old cattle and sexes ($p > 0.05$); ^bno statistical differences were observed between *G. duodenalis* prevalence in the 4–24-month-old cattle and sexes ($p > 0.05$); ^cno statistical significance was observed between CPG and sex in the 0–3-month-old cattle ($p > 0.05$).

Although the highest prevalence and the mean cysts load was observed in male cattle from the 0–3-month-old group, no statistical significances were observed ($p = 0.2$). Similar to the 0–3-month-old group, there was no significant difference in the prevalence of the pathogen in the 4–24-month-old group for both sexes ($p = 0.6$) (Table 10).

Sex predisposition in cattle regarding *G. duodenalis* has been studied before with contradictory results. Some studies show no differences in prevalence between male and female cattle (Oh et al., 2021; Onder et al., 2020). In the study done by Oh et al. (2021), comparing *G. duodenalis* prevalence between calves under 12 weeks of age, no significant differences were observed between male (5.7%; 23/402), and female (5.6%; 21/373) calves. Similar results were observed by Onder et al. (2020), where no significant differences were identified between male (30.2%; 90/298) and female (30.3%; 46/152) young calves and adult cattle. Nevertheless, significant differences were observed in three different studies. In one study, across all ages, male cattle had the significantly higher (35.3%; 36/102) prevalence compared to female cattle (25.6%; 108/422) ($p > 0.05$) (Heng et al., 2022). In other studies, differences between sexes were observed in cattle aged from 10 to 150 days, where all examined female cattle were negative (Baazizi et al., 2025), but in another, the *G. duodenalis* prevalence in male cattle was 20% ($p < 0.05$) (Heng et al., 2022). A potentially stronger immune response to pathogens in pre-pubertal female calves (Carroll et al., 2015) might influence their reaction to *G. duodenalis* infection.

The monthly prevalence of *G. duodenalis* in cattle was from 0% in August to 13.1% in March 13.1%. A strong negative association was observed between average monthly temperature and *G. duodenalis* prevalence (Pearson's $r = -0.9$, $p = 0.004$). No significant association was found between monthly precipitation ($r = -0.2$, $p = 0.7$) or humidity ($r = 0.6$, $p = 0.16$). This could be due to reduced environmental survivability in warmer months and is in alignment with previous research, which suggests that *G. duodenalis* cyst survivability is reduced in

warmer months due to cyst exposure to the sun's UV-rays and increased temperature (Alum et al., 2013; Masina et al., 2019; Wang et al., 2023). However, it is important to acknowledge that the differences in *G. duodenalis* prevalence could be due to the variable sample size collected each month. Nevertheless, the observed trend in seasonality shows insight into the potential influence of environmental conditions on *G. duodenalis* prevalence in cattle.

Altogether, three *G. duodenalis* assemblages were identified. *G. duodenalis* assemblage E was found in 20 herds (74.1%, 95% CI: 55.1–87.1), a mix of *G. duodenalis* assemblages A and E in 4 herds (14.8%, 95% CI: 5.3–33.1), but *G. duodenalis* assemblage A in 3 herds (12.0%, 95% CI: 3.3–30.8). The distribution of the *G. duodenalis* assemblages is shown in Figure 6.

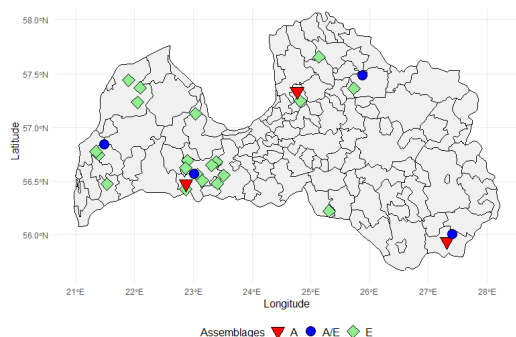


Figure 6. *Giardia duodenalis* assemblage distribution across cattle herds in Latvia

In previous reports from several countries, the mixed infection of *G. duodenalis* assemblage A and E in herds was more common in France, Germany, Italy, and the UK (Geurden et al., 2012). The prevalence of mixed *G. duodenalis* assemblages A and E varied from 21.0% (3/14) in Italy to 44.0% (4/9) in the UK (Geurden et al., 2012). Additionally, in our study, across all age groups and herd sizes, *G. duodenalis* assemblage E was the predominant, which has been widely distributed across Europe (Hamnes et al., 2006; Langkjær et al., 2007; Geurden et al., 2012). *G. duodenalis* assemblage E is cattle-specific and can be present in cattle of all ages but more frequently in adult cattle (Castro-Hermida et al., 2011; Minetti et al., 2013). *G. duodenalis* assemblage E contributes to lower immunity in cattle, therefore prolongs the chronic course of the disease (Dreesen et al., 2012). Even though *G. duodenalis* assemblage E is considered cattle-specific, it was isolated from humans, mostly in rural areas (Abdel-Moein & Saeed, 2016; Fantinatti et al., 2016; Zahedi et al., 2017; Garcia et al., 2021). In Brazil, *G. duodenalis* assemblage E was found in three preschool children from a slum (Fantinatti et al., 2016). In Australia, six people were positive for *G. duodenalis* assemblage E, and all isolates were identical to a sheep-derived *G. duodenalis* assemblage E (Zahedi et al., 2017). In Egypt, *G. duodenalis* assemblage E was identified in 25 children feces after close contact with assemblage E-positive

cattle (Abdel-Moein & Saeed, 2016). These children were with or without gastrointestinal manifestations (Abdel-Moein & Saeed, 2016).

The zoonotic *G. duodenalis* assemblage A was detected in seven cattle (11.3%, 95% CI: 5.3–21.8), but assemblage E was detected in 55 cattle (88.7%, 95% CI: 78.2–94.). Assemblage A was identified in five cattle from the 4–24-month-old age group, and in two cattle from the >24-month age group, while assemblage E was prevalent across all age groups. Cattle from the 4–24-month-old age group, which were positive for assemblage A, shed the highest median number of cysts (8000 CPG), compared to the cattle older than 24 months (600 CPG). Calves under three months old infected with *G. duodenalis* assemblage E excreted the highest number of cysts (2400 CPG) compared to the other two age groups (300 CPG and 240 CPG, respectively). The zoonotic *G. duodenalis* assemblage A was detected mainly in cattle older than four months. Other studies reported that *G. duodenalis* was frequently observed in younger cattle (Trout et al., 2005; Trout et al., 2006; Geurden et al., 2012). In Scotland, Spain, and the UK, *G. duodenalis* assemblage A has been found in cattle of all ages (Castro-Hermida et al., 2009; Minetti et al., 2014; Bartley et al., 2019). There have been no associations between diarrhea or any other clinical signs and *G. duodenalis* assemblage A in cattle (Castro-Hermida et al., 2009; Minetti et al., 2014; Bartley et al., 2019). Similarly to *G. duodenalis* assemblage E, scarce reports on *G. duodenalis* assemblage A in humans infected from cattle were published. In New Zealand, human and cattle shared the same *G. duodenalis* assemblage A (Garcia et al., 2021). Because of *G. duodenalis* assemblage A has been more frequently studied in cattle in Europe, infected animals could be a potential source of human infections (Geurden et al., 2008; Geurden et al., 2012; Minetti et al., 2014; Bartley et al., 2019; Dixon et al., 2011). In the present study, DNA amplification was successful in 75.6% (62/82) of the positive cattle fecal samples, which could be due to the low number of *G. duodenalis* cysts in the positive samples. Low DNA concentration may be attributable to the low numbers of *G. duodenalis* cysts, as well as the presence of inhibitors, such as lipids or bile salts that could influence the performance of the RFLP (Schrader et al., 2012). Nevertheless, this study shows that both *G. duodenalis* assemblages A and E are frequently observed in cattle in Latvia.

Potential individual and herd-level factors associated with *G. duodenalis* were analyzed by bivariable generalized linear mixed modeling, including age in days (“Age”) as a fixed effect and herd identification number (“HerdID”) as a random effects variable. In the initial single-factor models, seven variables were significantly associated (OR < 1; $p < 0.05$) with reduced odds of *G. duodenalis* infection: Age (OR 0.1; $p < 0.01$); Pasture season begins: May (OR 0.4; $p = 0.08$); No pasture (OR 0.3; $p = 0.03$); Manure kept in open space (OR 0.6; $p = 0.04$); Rodent control: poison (OR 0.7; $p = 0.02$); Change of shoes for visitors (OR 0.6; $p = 0.05$); Pet animals: Cat (OR 0.6; $p = 0.03$).

Age exhibited a protective effect against *G. duodenalis* in cattle with significantly reduced odds of infection in older cattle ($p < 0.05$). This result has

been observed before, where a 22 to 150 times higher risk of shedding *G. duodenalis* cysts was observed in calves between 9–18 days and above 18 days old (Gow & Waldner, 2006). Maddox-Hytell et al. (2006) reported that *G. duodenalis* cyst excretion increased with calf age within the first month of life. Calves as young as four days old can excrete *G. duodenalis*, but calves from the ages of five to ten weeks old were more likely to shed *G. duodenalis* cysts intermittently (O’Handley et al., 1997; O’Handley et al., 1999; Ralston et al., 2022). Generally, calves were more prone to clinical manifestations of giardiasis with intermittent diarrhea and weight loss as the main clinical signs (O’Handley et al., 1999; Geurden et al., 2010). As discussed before, it has been assumed that the adaptive immunity during giardiasis is incomplete in calves; therefore, reinfections occur (Dreesen et al., 2012). In experimentally infected calves, *G. duodenalis* cysts were shed for up to 100 days with a slow introduction of cellular and humoral response, which explains the chronic progress of the disease (Grit et al., 2014). Decrease in *G. duodenalis* prevalence and in the cyst load in our study alongside with the cattle age emphasizes the heightened vulnerability of young calves to *G. duodenalis* infection.

Two seemingly contradictory protective factors appeared in the GLMM models – pasture season beginning in May and no pastures at all. Both appeared to reduce the odds of giardiasis, suggesting that timing and management of the surrounding pasture may be crucial. One possible explanation could be wet soil and lower nutritional quality of the pastures during the early spring months, which can lead to a compromised immune system due to a decrease in vitamin B12, folic acid, and iron intake, as well as a higher chance of contact with other endoparasites (Wade et al., 2000; Lejune et al., 2010; McCarthy et al., 2022). Delaying pasture access to May might allow for drier environmental conditions and reduced contact with mud and stagnant water, which can lead to lower environmental cyst load (Wade et al., 2000). When cattle are only kept indoors, feeding is often constant and provides balanced nutrition, therefore increasing immunity, but with higher density, chances of direct transmission of *G. duodenalis* as well as accumulation of other pathogens in the herd facilities increases (Wade et al., 2000; Dixon, 2021). Both management systems can be protective under specific conditions, and the observed effects could reflect a balance between environmental exposure and nutritional or hygiene-related effects.

Keeping manure in an open pit or in piles minimized the effect of *G. duodenalis* in cattle in our study. Keeping manure in a pile or open pit which allows run-offs near the herd premises has no biological explanation as it should not decrease the disease prevalence at the visited herds. As *G. duodenalis* cysts are robust in environments, appropriate preventive measurements need to be considered when managing manure (Millner et al., 2014; Vermeulen et al., 2017). Open-type manure piles often self-heat in the central core, but the sides of the piles cannot produce internal heat to reduce pathogen viability; therefore, it is important to manage proper manure treatment plans (Millner et al., 2014). The

heat in the core needs to reach at least 60 °C to destroy most pathogens, including cysts (Spencer & Guan, 2004). If lagoons are used for manure storage, it reduces the risk of manure and slurry run-offs, contact with mechanical vectors as well as food and water-borne outbreaks risks for humans (Nicholson et al., 2004; Millner et al., 2014). All the visited herds used manure for field fertilization, even if manure was not held in a lagoon, which could further increase the risk of environmental pollution with *G. duodenalis*. During rainfall events, surface run-off may transfer cysts from contaminated soils, open manure pits, or manure-spread fields into nearby surface water bodies (Alhusen et al., 2011; Rochelle-Newall et al., 2019). During cool and wet periods, the *G. duodenalis* cyst concentrations in surface waters can increase threefold compared to dry conditions, and water contamination during rainfalls has been linked to higher human giardiasis cases (Alhusen et al., 2011; Rochelle-Newall et al., 2019). Therefore, careful attention should be paid to how and where manure is applied to reduce the environmental contamination in and around the cattle herds.

Rodent control using poison appeared as a protective factor against *G. duodenalis*. All seven *G. duodenalis* assemblages have been reported in rodents, with *G. duodenalis* assemblage A sub-assemblages AI and AII reported from 4.9% (3/61) to 87% (53/61) (Li et al., 2023). It seems that rodent control is an important factor that could prevent the spread of *G. duodenalis* in the herds, especially the zoonotic *G. duodenalis* assemblages (Daniels & Hutchings, 2001; Li et al., 2023). Also, cats as pets seemed to reduce the potential of *G. duodenalis* in the cattle herds, which could be used in a rodent control. This finding only emphasizes that rodent control needs to be a part of an effective herd management strategy to potentially reduce the transmission of pathogens. Nonrestricted access of pets to the herd also poses a biosecurity risk because they can transfer pathogens, including *G. duodenalis*, from the environment directly to the cattle or contaminate their feed or water (Wells et al., 2002; Sarrazin et al., 2014).

Finally, providing a change of clothes, especially shoes appeared to reduce the *G. duodenalis* infection in cattle herds in Latvia. Change of clothes is an important way to limit the introduction of new pathogens into the herd (Nöremark et al., 2016). *G. duodenalis* cysts are small, of 7–10 µm in diameter; therefore, it is important to implement proper biosecurity protocols to stop the introduction of new pathogens from other herds, especially with shoes (Adam, 2001; Rashid et al., 2016). A study done in Italy showed that shared personnel between herds, such as veterinarians and technicians, can increase the spread of diseases exponentially; but if proper cleaning protocols are in place, such as a change of shoes, the probability of disease transmission had significantly decreased (Rossi et al., 2017). A change of shoes for visiting veterinarians and other third-party visitors is necessary to reduce the introduction of *G. duodenalis* and minimize the transmission risk to other herds.

In addition to the protective factors, six variables were associated with increased odds ((OR) > 1; $p < 0.05$) with *G. duodenalis* infection in cattle: Can

animal leave herd: Yes (OR 1.8; $p = 0.04$); Calf isolation with diarrhea: Yes (OR 1.7; $p = 0.03$); Walking area: Yes (OR 1.7; $p = 0.02$); Drinking water in pasture: Yes (OR 1.9, $p = 0.03$); Cattle can access surface water in the pasture: Yes (OR 1.6; $p = 0.09$); Manure treatment: lagoon (OR 2.7; $p = 0.07$).

Walking areas (paddock) around the farm and outdoor movement (between premises) seemed to increase the risk of *G. duodenalis*. While reducing animal density at the farm facilities together with environmental factors, such as exposure to sun rays, can lower the infectivity of *G. duodenalis* cysts, walking areas are rarely, if ever, cleaned or changed. Therefore, the environmental cyst load could be higher at walking paddocks compared with in-farm facilities, which are cleaned more frequently (Boyer & Kuczynska, 2010; Wang et al., 2023).

The isolation of calves with diarrhea as a risk factor was more likely to be due to calves already being infected with a *G. duodenalis* or other pathogens or non-infectious diarrhea. In this case, the observed association likely reflected the timing of the clinical signs rather than a causal effect of isolation, therefore was removed from further analysis. However, it is worth to note that diarrhea is one of the major causes of young calves death, and effective management protocols to isolate these animals is necessary (Cho & Yoon, 2014). While *G. duodenalis* rarely causes acute diarrhea, there are many other pathogens, which cause severe gastrointestinal diseases in calves, such as *E. coli*, *Salmonella* spp., *Clostridium* spp., *Eimeria* spp., *Cryptosporidium* spp., rotavirus, bovine coronavirus, and bovine viral diarrhea virus (Cho & Yoon, 2014). Additionally, poor overall calves management and inadequate colostrum feeding can cause non-infectious diarrhea (Al Mawly et al., 2015).

Two similar risk factors increased the odds of risk of infection for cattle – available drinking water in the pasture provided by the owner and access to surface water in the pasture. Those findings are important since water is one of the primary infection routes for *G. duodenalis*. Although it is important to provide clean drinking water in the pastures, the water containers may not be cleaned often enough or thoroughly and facilitate persistence of *G. duodenalis* cysts and other pathogens (Lewerin et al., 2019). In future studies, if drinking water is provided to the grazing cattle, it should be noted whether the water containers are cleaned and whether it is possible for cattle to contaminate these containers with feces.

Regarding open water sources in the pastures, this factor is in line with the protective factor – no access to pastures, suggesting that environmental exposure could play a central role in *G. duodenalis* transmission in cattle. Surface waters, such as ponds, ditches, streams, lakes, or rivers, can be contaminated by direct defecation in the water source and fecal run-off from the pastures (Castro-Hermida et al., 2009). High levels of *G. duodenalis* cysts have been found in a river near cattle herds, with cyst concentration varying from two to 400 cysts per liter of water (Castro-Hermida et al., 2009). Another study shows that within 500 m of cattle housing, low levels of *G. duodenalis* cysts were observed in the

nearest surface water (Budu-Amoako et al., 2012). Several large outbreaks have been reported in humans due to swimming in rivers or streams, but none of them were linked to contamination due to cattle feces (Adams et al., 2016). Nevertheless, *G. duodenalis* cysts can survive in water for a long time, especially in cool conditions, and if high turbidity or organic matter is present in a flowing water source, it can physically shield *G. duodenalis* cysts from UV radiation (Wang et al., 2023). No model data is available for *Giardia*, but for *Cryptosporidium*, which also is a waterborne parasite and commonly observed in cattle in Latvia, the settling velocity is 0.1 m per day, that ensures slow settling and combined with river flow, the pathogen may not reach the bottom of the river as a sediment (Vermeulen et al., 2019).

Prevalence, cyst load, genetic diversity, animal-level and housing factors potentially associated with *Giardia duodenalis* in domestic dogs in Latvia

Overall, *G. duodenalis* prevalence in domestic dogs was 10.7% (95% CI: 7.9–14.3), with the highest prevalence of 13.0% observed in Latgale (3/23; 95% CI: 4.5–32.1), followed by 12.1% in Vidzeme (25/206; 95% CI: 8.4–17.3), 8.8% in Kurzeme (5/57; 95% CI: 3.8–18.9), and 8.0% in Zemgale (7/87; 95% CI: 4.0–15.7). No statistical significance was observed between the prevalence of *G. duodenalis* in regions ($p = 0.7$). Previous studies across Europe show that the mean *G. duodenalis* prevalence in dogs was higher, varying from 28.5% (80/281) in Belgium to 14.6% (38/260) in the UK (Epe et al., 2010). A more recent study done in dogs in Spain shows *G. duodenalis* prevalence of 48.6% ($n = 252$) (Mateo et al., 2023). While not significant ($p > 0.05$), some regional differences between *G. duodenalis* prevalences were observed in Latvia. A reflection of environmental factors, such as the density of surface waterbodies, moisture retention in soil and general precipitation levels could increase the survival and transmission of *Giardia* cysts (Hadi et al., 2016). In contrast with our study, the regional differences in the prevalence of *G. duodenalis* were reported in dogs in Norway. Dogs from Eastern Norway revealed a higher prevalence, possibly because of the density of the dogs or possible climate differences between the regions (Hamnes et al., 2007).

The highest *G. duodenalis* prevalence was observed in the puppy age group, followed by senior dogs, and adult dogs, and the lowest prevalence was observed in the geriatric dog group, where only one dog tested positive for *G. duodenalis* (Table 11).

Table 11. The overall prevalence and cyst load of *Giardia duodenalis* in domestic dogs of different ages

Age group	Positive dogs	Total no. of dogs tested	Prevalence, % (95% CI)*
Puppies	12	65	18.5 ^a (10.7–29.7)
Adults	18	193	9.3 (5.9–14.3)
Seniors	9	96	9.4 (4.8–17.1)
Geriatric	1	19	5.3 (0.1–26.5)
Total	40	373	10.7 (8.0–14.3)

*CI: confidence interval; ^ano statistical differences were observed between *G. duodenalis* prevalence and age group ($p > 0.05$).

There was no significant difference between the age groups and the *G. duodenalis* prevalence ($\chi^2 = 5.2$; $p = 0.2$; Table 11), age groups and shed CPG ($p = 0.1$). Similar findings were observed in a study done in dogs under one year old, where the prevalence of *G. duodenalis* was higher in 12-month-old dogs than in the 3-month-old dog group without significant differences (Hamnes et al., 2007). Other studies showed a similar pattern of younger dogs being infected without statistical significance (Lopez-Arias et al., 2019; Remesar et al., 2022). This could be due to more naïve immune systems of younger dogs and it may not protect properly against pathogens, waning of maternal antibodies and gut microbiota development (Chastant & Mila, 2019).

Between sexes, male dogs had higher prevalence (14.7%; 28/190; 95% CI: 10.3–20.5) and excreted higher number of *G. duodenalis* cysts (56,400 CPG) compared to female dogs (6.6%; 12/183; 95% CI: 3.7–11.2; 27,250 CPG). There was statistical significance in *G. duodenalis* prevalence between male and female dogs ($\chi^2 = 5.7$, $p = 0.01$), but not between the shed CPG and sex ($\chi^2 = 0.6$; $p = 0.5$). Differences in the prevalence of the pathogen between sexes have been reported previously. In a study by Fontanarrosa et al. (2006), male dogs were more infected than female dogs, but no statistical differences were noted. This was also in line with the study of Epe et al. (2010), which included dogs from seven European countries. In a longitudinal study with dogs under one year old, females shared a higher *G. duodenalis* prevalence (22.1%; $n = 147$) than male dogs (19.7%; $n = 142$) (Hamnes et al., 2007). This could be due to the exploitative nature or increased levels of androgynous hormones in males, which could decrease immunity (Klein, 2000).

In shelter dogs, *G. duodenalis* prevalence was 6.7% (3/45; 95%CI: 2.3–17.9), while in owner dogs – 11.3% (37/328; 95%CI: 8.1–15.2); however, differences were not significant ($p = 0.4$). This could be partially explained by the smaller sample size collected from shelter dogs. Similar findings in shelter dogs have been previously explained in dogs from breeding kennels, where continuous exposure of *Giardia* cysts occurs (Adell-Aledón et al., 2018). Nevertheless, it is more commonly reported that shelter dogs share higher *G. duodenalis* prevalence than owner dogs due to lack of proper cleaning and sanitation, a higher stress

environment, high animal density, and high turnover rates (Epe et al., 2010; Mircean et al., 2012; Turner et al., 2012; Gil et al., 2017). While shelter dog data offer valuable insights on *G. duodenalis* prevalence, their inclusion could influence the parasite prevalence estimates as they might not fully represent the broader homeless dog population in Latvia.

Out of the 40 microscopically positive domestic dog samples, DNA amplification was successful from 16 samples 40.0% (95% CI: 26.3–55.4). *G. duodenalis* assemblage D was isolated the most (50.0%, 95% CI: 28.0–72.0), followed by assemblage C, 37.5% (95% CI: 18.4–61.5), and assemblage A, 12.5 % (95% CI: 2.2–37.3). Dog-specific *G. duodenalis* assemblage C was observed in three male and three female dogs, with age varying from three months old to five years old, the mean of 3.4 years old. Assemblage D was observed in five female and three male dogs with age ranging from 3 months old to 3 years old (the mean of 3.4). *G. duodenalis* assemblages C and D were also the most observed assemblages in dogs in Europe. In Romania, *G. duodenalis* assemblages D and C were found in 70.0% (42/60) and 16.7% (10/60) of examined dogs, respectively (Adriana et al., 2016). In the same study in Romania, one dog was positive for mixed infection with *G. duodenalis* assemblages C and D, while another dog was shedding *G. duodenalis* assemblage E, which is cattle-specific (Adriana et al., 2016). In Poland, *G. duodenalis* assemblages C and D were also more prevalent in domestic dogs, but one dog was positive for the zoonotic *G. duodenalis* assemblage B (Piekarska et al., 2016). In a different study done in Poland, *G. duodenalis* assemblage A was detected in 1.7% (n = 350) of the examined dogs (Zygner et al., 2006).

The potentially zoonotic assemblages A were observed in two female dogs. One was a nine-month-old puppy, but the other was a five-year-old adult dog. *G. duodenalis* assemblage A has been reported in dogs in Poland, Germany, Belgium, the UK, Sweden, The Netherlands and Spain (Mravcová et al., 2019). Similarly to cattle, there are ongoing discussions about whether humans can get infected by dogs with the zoonotic *G. duodenalis* A and B assemblages. Some studies have reported associations between human giardiasis and *Giardia*-positive dogs which lived in the same households or had close interaction (Traub et al., 2004; Traub et al., 2009). Although observations of cross-infection between dogs and humans are rare, the presence of this assemblage can still pose a risk for human infection. The locations of the *G. duodenalis* assemblages in Latvia are visualized in Figure 7.

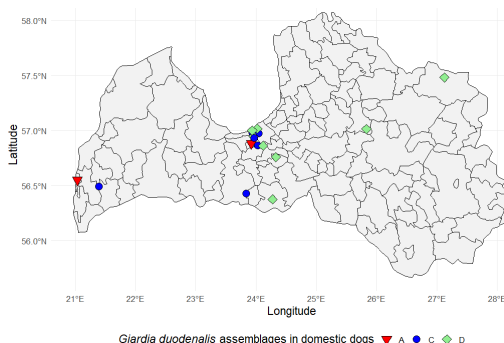


Figure 7. *Giardia duodenalis* assemblage distribution in domestic dogs in Latvia

Single-factor logistic regression analysis was performed first to assess the potential association between individual factors and *Giardia duodenalis* infection in domestic dogs. Age as a continuous variable did not show as statistically significant variable ($p = 0.15$), therefore age as a group was assessed in the initial logistic regression model. In total, four initial single-factor logistic regression models showed significance at $p < 0.1$, which were further considered for the multivariable analysis: Sex: Male (OR 2.5; $p = 0.01$); Age group: Puppy (OR 2.2; $p = 0.05$); Activity outside city: with leash: Yes (OR 0.4; $p = 0.008$); *Cryptosporidium* spp.: Positive (OR 9.9; $p < 0.001$).

One protective factor was identified – activity outside the city with a leash ($p < 0.05$), while other types of activity, including activity in the city with a leash and activity in nature with or without a leash, were not significant ($p > 0.05$). Using a leash outside urban areas can minimize the roaming of the dog, which further minimizes the contact with *G. duodenalis*-infected feces. Dogs on a leash are less frequently sniffing the ground that could minimize the contact with contaminated material or water as well it reduces the contact time with other dogs (Westgarth et al., 2010). Another study found that off-leash activities were positively associated with increased parasitism in dogs (Smith et al., 2014b). Additionally, in our study, the high prevalence of *G. duodenalis* was observed in red foxes (27.3%; 60/219) and raccoon dogs (30.8%; 24/78), and these species often are observed near urban and non-urban areas. It is important to educate the dog owners about the importance of using a leash while taking the dog for a walk, as *G. duodenalis* can be shed in large quantities by other infected animals (Dixon et al., 2021).

G. duodenalis prevalence was significantly higher in male had than in female dogs ($p < 0.05$). Male dogs shed higher number of *G. duodenalis* cysts, compared to females. In study by Tysnes et al., 2014 higher odds of infection with *G. duodenalis* were intact and neutered male dogs (OR 5.1; $p < 0.05$), especially in intact dogs, which could be explained by either differences in hormone distribution or differences in the dog's behavior. French et al. (2023) confirmed higher odds of giardiasis in intact dogs above 12 months old rather than in

younger, neutered dogs ($p < 0.05$). Contrary results were observed in study by Mircean et al. (2012), where no differences in increased risk of infection were observed between sexes ($p > 0.05$), while Smith et al. (2014b) described higher risk in female dogs ($p < 0.05$). Considering these contradictory findings on the differences in the prevalence of *G. duodenalis* between sexes, it could be possible that additional questioning about the neuter status should be considered to truly understand whether the sex of the animal alone has an increased risk.

Age appeared as a risk factor associated with increased *G. duodenalis* prevalence in present study. Younger dogs were more likely to be infected with *G. duodenalis*, compared to older dogs ($p < 0.05$). This has also been observed in a study done in the UK, where younger dogs also had an increased infection risk ($p < 0.05$) (Upjohn et al., 2010). In Italy, dogs under five years old were more likely to be infected with *G. duodenalis* (Papini et al., 2005). In a large-scale study, including over two million dogs, age groups of under five months old and from five months to two years old, had an increased risk of infection (Mohamed et al., 2013). Although it is still not clear whether there is a zoonotic route between dogs and humans, *G. duodenalis* is still one of the most common parasites in dogs, which cause chronic, intermittent diarrhea, and needs specific and long-term treatment (Traub et al., 2004; Traub et al., 2009; Epe et al., 2010; Tysnes et al., 2014). Due to the course of giardiasis in dogs, long-term shedding of *G. duodenalis* cysts is also possible, and animals contaminate the environment and disseminate the disease among other canid species (Tysnes et al., 2014).

Co-infection with *Cryptosporidium* spp. was another other risk factor that significantly increased odds of infection with *G. duodenalis* in domestic dogs in this study. The high prevalence of both parasites in dogs has been reported (Hamnes et al., 2007; Smith et al., 2014b). *Cryptosporidium* spp. is a protozoan parasite that also tends to affect younger animals and can cause diarrhea (Thompson et al., 2005). A frequent identification of both parasites simultaneously shows the need to test dogs for both parasites – *G. duodenalis* and *Cryptosporidium* spp., especially if chronic, intermittent diarrhea is present (Overgaauw et al., 2009; Matos et al., 2015). From One Health perspective, dogs can be infected with not only the zoonotic *Cryptosporidium parvum*, which has caused multiple outbreaks in humans, but also with dog-specific *C. canis* and cattle-specific *C. andersoni* (Rosanowski et al., 2018). Sharing of zoonotic *G. duodenalis* assemblage A and B by dogs indicates that they could pose a risk of zoonotic transmission not only to humans but also to the environment and other animals (Simonato et al., 2017; Cacciò et al., 2018; Rosanowski et al., 2018).

Prevalence, cyst load, genetic diversity, and animal-level factors potentially associated with *Giardia duodenalis* in red foxes and raccoon dogs in Latvia

Overall, *G. duodenalis* prevalence in red foxes was 27.4% (60/219; 95% CI: 21.9–33.7) with the mean CPG of 3133 (min 300; max 47,600; median 700 CPG). The highest prevalence was observed in Latgale (52/183; 28.4%, 95% CI: 22.4–35.3), followed by Vidzeme (7/27; 25.9%, 95% CI: 13.4–44.7), Zemgale (1/5; 20.2%, 95% CI: 3.6–62.4), and no *G. duodenalis*-positive red foxes were observed in Kurzeme (0/4). In our study, most of the red foxes were examined from the eastern part of Latvia, which is relatively sparsely populated therefore may serve as an indicator for the presence of pathogens in wildlife. Red foxes were hunted as part of the Rabies vaccination program at the eastern EU border. Only a few studies have been done on the *G. duodenalis* prevalence in red foxes in Europe, where prevalences varied from 44.0% (n = 104) in Sweden to 4.8% (n = 269) in Norway, 4.5% (n = 66) in Croatia, and 2.8% (n = 273) in Romania (Hamnes et al., 2007; Beck et al., 2011; Onac et al., 2015; Debenham et al., 2017).

Regarding age, the lowest *G. duodenalis* prevalence was observed in the 1–1.5-year-old red foxes (Table 12).

Table 12. *Giardia duodenalis* prevalence according to the red foxes ages groups

Age group, years	Positive red foxes	Total examined red foxes	Prevalence, % (95% CI)*	Mean CPG** (Min–Max)
1–1.5	8	47	17.2 ^a (8.6–30.4)	875 ^b (200–2600)
2–2.5	26	85	30.6 (21.8–41.1)	5408 (200–47,600)
3–3.5	10	30	33.3 (19.18–51.3)	920 (200–2800)
4	2	5	40.0 (11.68–77.1)	6400 (800–12,000)
5	1	2	50.0 (9.48–90.5)	2800
NR***	13	50	26.0 (15.88–39.7)	1200 (200–5400)

*CI: confidence interval; **CPG: cysts per gram; ***NR: not recorded; ^ano statistical difference was observed between *G. duodenalis* prevalence and age groups ($p > 0.05$); ^bno statistical difference was observed between shed CPG and age groups ($p > 0.05$).

Even though there were differences in the prevalence between age groups in red foxes, they were not significant ($\chi^2 = 4.5$, $p = 0.5$). No significant differences were observed between age groups and CPG ($p = 0.07$) (Table 12). The prevalence of *G. duodenalis* increased with the rise in foxes' age with the lowest prevalence observed in the 1–1.5-year-old age group compared to older animals. This is unusual as *G. duodenalis* has been previously reported in Norway and Italy in juvenile red foxes (Hamnes et al., 2007; Papini & Verin, 2019). The age of the red foxes in this study was determined by the hunters. Therefore, age might

be underestimated or overestimated. Although *G. duodenalis* does affect younger animals more, if the animal is under chronic stress or affected by an accompanying disease, such as mange mites, this may result in compromised immune system with chronic course of infection and long-term shedding of cysts (Soulsbury et al., 2007; Thompson et al., 2008).

In raccoon dogs, the overall *G. duodenalis* prevalence was 30.8% (24/78, 95% CI: 21.6–41.7) with the average CPG of 14,008 (min 200; max 224,000; median 1200 CPG). *G. duodenalis*-positive raccoon dogs were found in two out of the three regions with highest prevalence in Latgale (23/69; 33.3%, 95% CI: 23.4–45.1), followed by Vidzeme (1/7; 14.3%, 95% CI: 2.6–51.3). Fewer studies have been done on the estimations of the prevalence of this parasite in raccoon dogs, compared to red foxes. The prevalence of *G. duodenalis* in farmed raccoon dogs from Poland was 11% (n = 18) (Solarczyk et al., 2016). Meanwhile, in another study done in Poland, *G. duodenalis* was not found in wild raccoon dogs (Osten-Sacken et al., 2017). In studies outside Europe, the prevalence of *G. duodenalis* in raccoon dogs was from 1.7% (4/233) to 7.2% (22/305) (Zhang et al., 2016; Liu et al., 2025).

Age in years was recorded for 55 raccoon dogs out of 78, and the average age was 2 years (min 1; max 4.5), but no age was recorded for 23 animals. From the raccoon dogs with recorded age, the highest prevalence was observed in the 1–1.5-year-old raccoon dogs, which also shed the highest number of CPG, but the overall highest prevalence and excreted CPG was from the raccoon dogs with unknown age (Table 13).

Table 13. *Giardia duodenalis* prevalence, age in years in examined raccoon dogs in Latvia

Age group, years	Positive raccoon dogs	Total examined raccoon dogs	Prevalence, % (95% CI)*	Mean CPG** (Min–Max)
1–1.5	7	15	46.7 ^a (24.88–69.9)	6171 ^b (600–25,200)
2–2.5	6	33	18.2 (8.28–34.8)	2733 (400–10,000)
3–3.5	1	6	16.7 (1.18–58.2)	600
4.5	0	1	0.0	NA****
NR***	10	23	43.5 (25.68–63.2)	27,600 (200–224,000)

*CI: confidence interval; **CPG: cysts per gram; ***NR: not recorded; ****NA: not available; ^ano statistical significance was observed between age groups and *G. duodenalis* prevalence ($p > 0.05$); ^bno statistical significance was observed between age groups and CPG ($p > 0.05$).

Despite differences in the *G. duodenalis* prevalence between raccoon dogs age groups, no significant differences were observed ($p = 0.1$), no significant differences were also observed between age groups and shed CPG ($p > 0.05$) (Table 13). This finding was in agreement that younger animals are prone to giardiasis infection (Boucard et al., 2021). Although there is a lack of studies on

the prevalence of *G. duodenalis* in raccoon dogs in Europe, this study provides an insight into the potential situation of the wild canids in Latvia.

Out of the 23 microscopically positive red fox and raccoon dog samples, DNA from three animals were successfully amplified (11.5%, 95% CI: 3.2–29.8). *G. duodenalis* assemblage D was detected in one, two-year-old red fox, which shed 37,000 cysts per gram of feces, and in one raccoon dog with 224,000 CPG. Age of the positive raccoon dog was not known. *G. duodenalis* assemblage C was shed by one, two-year-old fox, which shed 47,600 CPG (Figure 8).

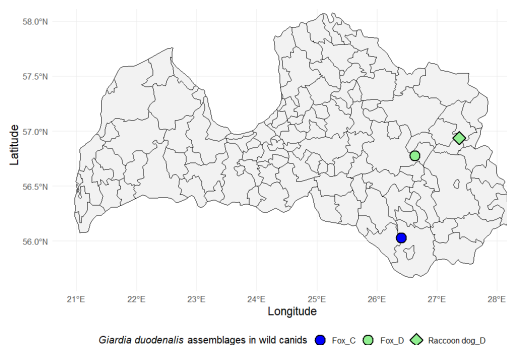


Figure 8. *Giardia duodenalis* assemblage distribution in red foxes and raccoon dogs

In several studies in Europe, zoonotic *G. duodenalis* assemblages A and B have been reported in Europe in red foxes. In Romania, two red foxes were positive for *G. duodenalis* assemblage A and B (Ocan et al., 2015). In Norway, five foxes were positive for *G. duodenalis* assemblage A with the *G. duodenalis* AI genotype detected in two foxes. Out of those foxes, one was positive for *G. duodenalis* assemblage A genotype which was previously recovered from a roe deer (Hamnes et al., 2007). Additionally, *G. duodenalis* assemblage B was further genotyped as BIII, which has been reported in a human sample in Norway (Hamnes et al., 2007). In Sweden, *G. duodenalis* assemblage B was detected in four foxes (Debenham et al., 2017). These studies from other European countries show that red foxes can carry zoonotic assemblages. Although the zoonotic *G. duodenalis* assemblage A or B were not observed in this study, their zoonotic transmission cannot be excluded in Latvia.

There is a lack of studies on *G. duodenalis* assemblages in raccoon dogs in Europe and east Asia. One study from Romania reports *G. duodenalis* assemblage D from one raccoon dog (Adriana et al., 2016). In farmed raccoon dogs in Poland, two animals were positive for *G. duodenalis* assemblage D (Solarczyk et al., 2016). Outside of Europe, *G. duodenalis* assemblages C and D were reported from China (Zhang et al., 2016; Liu et al., 2025). Because there is a lack of studies done on raccoon dogs and reports about zoonotic assemblages found in these animals, we cannot determine whether these animals pose a

zoonotic risk. Nevertheless, they carry canine-specific assemblages, so they could be a reservoir for infection in domestic dogs.

In the final logistic regression model for factors affecting *G. duodenalis* in red foxes in Latvia, foxes infected with *Cryptosporidium* spp. had significantly higher odds of shedding *G. duodenalis* cysts (OR 111.1; $p < 0.001$). Co-infection with *Cryptosporidium* was associated with age (OR 2.3; $p = 0.007$). *G. duodenalis* infection was frequent in older red foxes; but no significant association was observed between age groups ($p > 0.05$). While *G. duodenalis* has been previously reported in association with age in red foxes across Europe, there is a lack of studies using linear models to identify and qualify risk factors for *G. duodenalis* infection (Hamnes et al., 2007; Beck et al., 2011; Onac et al., 2015; Debenham et al., 2017; Papini & Verin, 2019). Nonetheless, this finding is supported by the increased *G. duodenalis* prevalence and the increased number of *G. duodenalis* cysts shed by older red foxes.

G. duodenalis co-infection with *Cryptosporidium* spp. was also observed in red foxes in this study. *Cryptosporidium* spp. prevalence in red foxes has been reported to be from 2.2% (6/269) to 3.2% (4/123) in Norway and Bosnia Herzegovina, but no co-infections with *G. duodenalis* were detected (Hamnes et al., 2007; Hodžić et al., 2014). In contrast, we found a strong association between the two parasites, with co-infection significantly more likely to occur in younger foxes ($p < 0.05$).

In raccoon dogs, similarly to red foxes, same variables were added to the initial univariable analyses. Hunting county, parish or forestry district did not show any statistical significance ($p > 0.05$). Age showed a trend ($p = 0.05$) with younger raccoon dogs more likely to test positive. Also, the presence of *Cryptosporidium* spp. was strongly associated with *G. duodenalis* (OR 16.0; $p < 0.001$). These similarities were also observed in domestic dogs. In domestic dogs, giardiasis is more chronic, and cysts can be intermittently shed for several months (Hamnes et al., 2007), but there is a lack of studies on *G. duodenalis* in raccoon dogs, including association with age or clinical manifestation.

Environmental contamination potential of *Giardia duodenalis* from cattle and canids in Latvia with emphasis on the zoonotic assemblage A

To evaluate the environmental contamination potential of *G. duodenalis* in Latvia, the prevalence and the cyst load were assessed across all four animal species: cattle, domestic dogs, red foxes and raccoon dogs.

Raccoon dogs showed 3.7 times higher *G. duodenalis* prevalence compared to cattle and 2.9-times higher prevalence compared to domestic dogs. Red foxes, had a 3.3- and 2.9-times higher *G. duodenalis* prevalence, compared to cattle and domestic dogs, respectively. Animal species was a significant factor that affected the prevalence ($\chi^2 = 83.8$; $p < 0.0001$). This result may reflect ecological,

behavioral, and management-related differences between wild, domestic and productive animals. Unlike dogs and productive animals, endoparasitic diseases are not controlled in wild canids, allowing them to persist in wild animals (Laurenson et al., 2005). Both wild canids are also scavengers, which could increase exposure to contaminated sources (such as feces) and help sustain the *G. duodenalis* transmission cycle without being clinically affected (O'Bryan et al., 2018). Additionally, both red foxes and raccoon dogs tend to roam, and all herd owners reported seeing wild carnivores near their herds. Zoonotic *G. duodenalis* assemblage A and B have been reported in cattle and wild canids so they could introduce these pathogens into cattle herds (Hammes et al., 2007; Ocan et al., 2015; Debenham et al., 2017). The lack of monitoring of *G. duodenalis* in wildlife and their contact with both natural water sources and forest products, like mushrooms and berries, which are commonly foraged in Latvia, make these animals high-risk *G. duodenalis* shedders (Geldreich, 1996; Grivins, 2021).

The *G. duodenalis* cyst load also significantly differed among the animal species ($p < 0.001$). Initially, domestic dogs excreted significantly higher cyst load ($p < 0.05$) than cattle and wild canids, but after adjusting the cyst load to the produced average weight of feces per animal species, cattle shed significantly higher ($p < 0.05$) *G. duodenalis* cysts compared to the three canid species. After adjusting the CPG values for the average fecal/scat mass (grams per defecation) and the number of defecations per day, the potential adjusted daily cyst shedding per infected animal was calculated using the median CPG values to refine the environmental contamination potential (Table 14).

Table 14. Median *Giardia duodenalis* cyst excretion rates per defecation event and per day, adjusted for fecal output and defecation frequency in positive cattle, domestic dogs, red foxes, and raccoon dogs in Latvia

Species	Median CPG* in positive animals	Average weight of feces per defecation (g)	Average defecations per day	Cysts per defecation	Adjusted daily cyst-shedding per day
Cattle	600	1900 ^a	14 ^a	1,140,000	15,960,000 ¹
Domestic dogs	3100	150 ^b	2 ^b	465,000	930,000 ²
Red foxes	700	120 ^c	6.4 ^c	84,000	537,600
Raccoon dogs	1200	120 ^d	6.4 ^d	144,000	921,600

*CPG: cysts per gram; ^aAland et al., 2002; ^bWright et al., 2009; Ferreras et al., 2019.

^dAssumed to be the same as foxes, as no data is available, ¹statistical significance was observed between adjusted *G. duodenalis* cyst shedding in cattle and other species ($p < 0.05$); ²statistical significance was observed between adjusted *G. duodenalis* cyst shedding between dogs and red foxes ($p < 0.05$).

A total of nine animals spread *G. duodenalis* assemblage A cysts in the environment. The majority of *G. duodenalis* assemblage A-positive cases were found in cattle (77.8%, 95% CI: 45.3–94.1), while 22.2% (95% CI: 6.3–54.7) of the dogs shed *G. duodenalis* assemblage A. In domestic dogs, the highest cyst count was excreted by the youngest animal, but in cattle, the highest cyst count was shed by older cattle. Infected animals were distributed across all regions and various housing systems, including biological and industrial farms, including three (42.7%, 95% CI: 15.7–75.0) herds with access to the pastures (Table 15).

Table 15. Characteristics of Restricted Fragment Length Polimorfism confirmed *Giardia duodenalis* assemblage A positive animals

Region	Residence	Animal species	Age, months	Ownership/ herd size	Housing and environment	CPG*
Kurzeme	City	Dog	2.4	Private owner	Apartment, activity in the city without a leash	33,400
Vidzeme	City	Dog	36	Private owner	Private house, activity in public parks, forests, meadows, with a leash	68,200
Vidzeme	Countryside	Cattle	4	>501	Industrial farming, access to pastures, no access to free water in pastures	600
Vidzeme	Countryside	Cattle	51	>501	Industrial farming, no access to pastures	200
Zemgale	Countryside	Cattle	4	251–500	Industrial farming, no access to pastures	9600
Zemgale	Countryside	Cattle	87	>501	Industrial farming, no access to pastures	15,800
Latgale	Countryside	Cattle	5	>501	Industrial farming, access to pastures, lake in the pastures	400
Latgale	Countryside	Cattle	4	>501	Industrial farming, access to pastures, no access to free water in pastures	200
Kurzeme	Countryside	Cattle	6	251–500	Biological farming, access to pastures, no access to free water in pastures	2600

*CPG: cysts per gram

To assess proximity to surface water sources, distances from *G. duodenalis* assemblage A-positive animals to the nearest river, pond or lake were calculated. Eight out of the nine *G. duodenalis* assemblage A- positive animals (six cattle, two dogs) were located within 1500 m of a surface waterbody, including three within 500 m (Figure 9).

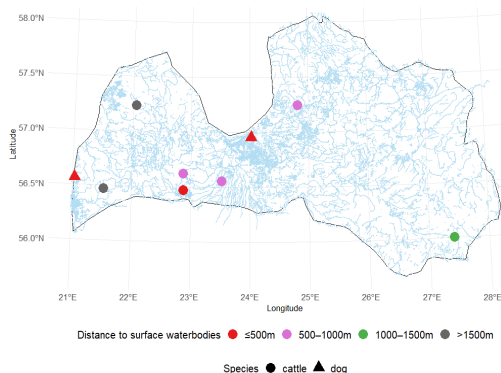


Figure 9. Locations of *Giardia duodenalis* assemblage A-positive cattle and domestic dogs in relation to surface waterbodies

Although the coordinates for domestic dogs were approximate, one dogs location was close to a named pond (Valhovas dīķis), while three cattle herds were within 2 km of major rivers – Bērze, Tērvete, and Engure.

From the cattle questionnaires, nine out of 32 (28.1%, 95% CI: 15.4–45.5) of herd owners reported open waterbodies in the pasture (such as river, ponds, lakes, ditches). Out of those, two farms reported lakes (33.3%, 95% CI: 9.2–70.4), and two other farms – rivers (33.3%, 95% CI: 9.2–70.4) available at the pastures. Out of these nine herds, six herd owners reported that the cattle could directly access the surface waterbodies in the pastures (66.7%, 95% CI: 35.1–88.3). In one farm, where one cow was positive for *G. duodenalis* assemblage A, the owner reported that the cattle in pastures could access the lake (16.7%, 95% CI: 1.1–58.2). Additionally, seven out of the nine farm owners (77.8%, 95% CI: 42.3–94.7), who reported the presence of surface waterbodies in the pastures, admitted that these waterbodies connected with another surface water via a river or a ditch.

All cattle herd owners used manure for field fertilization (100%), and eight of the herds stored manure in a pile next to the facilities (25.0%, 95% CI: 13.0–42.3), 16 stored manures in open pits (50.0%, 95% CI: 33.6–66.4), and eight stored in lagoons (25.0%, 95% CI: 13.0–42.3). Out of the 32 herds, 10 herd owners reported that they do not process manure or slurry before the use for field fertilization (31.2%, 95% CI: 17.8–48.7), with two herds using fermentation (20%, 95% CI: 4.6–52.1), and eight using lagoons (80%, 95% CI: 47.9–95.4). Regarding *G. duodenalis* assemblage A-positive cattle herds, in three out of the seven herds manure was used for field fertilization (42.9%, 95% CI: 15.7–75.0),

and in five out of the seven herds, manure was stored in open pits next to the farm facilities (71.4%, 95% CI: 35.2–92.4).

G. duodenalis assemblage A was detected in cattle and domestic dogs, which had access to surface water sources, highlighting a potential zoonotic risk and water contamination in Latvia. Of the seven cattle herds in Latvia, where *G. duodenalis* assemblage A was detected, one herd was located 570 meters from the river Bērze and another 785 meters from the river Tērvete. Neither of the cattle from these herds had pastures, but the owners of the farms used manure to fertilize the fields. This may lead to the transmission of feces containing zoonotic *G. duodenalis* to both surface and underground water sources, hence the whole ecosystem may be affected (Oliver et al., 2005). Rainfall has been associated with increased transfer of *Giardia* due to increased run-off from the fields and the farm facilities if manure or slurry are not properly taken care of (Oliver et al., 2005). *Giardia* cysts do not attach to natural soil particles, and, in cases of overflow, they can travel independently (Dai & Boll, 2003). To minimize water contamination, it is important to decrease the slurry run-offs from the facilities, properly decontaminate the manure to minimize the viability of *G. duodenalis* cysts before field fertilization, and, if possible, remove direct access to surface water sources in the pastures (Oliver et al., 2005). These findings highlight that agriculture and productive animals, particularly cattle farming, can serve as a significant source of environmental contamination of *G. duodenalis*, emphasizing the need for integrated control measures within the One Health approach.

There is evidence that human giardiasis cases are underreported and underdiagnosed in Latvia (Deksne et al., 2022). During a 20-year period, a total of 1020 cases have been officially reported (average 34 per year) to the Centre of Disease Prevention and Control of Latvia, with most cases being reported in children of one to six-year-old (Deksne et al., 2022). Furthermore, data from the clinical diagnostic laboratory showed that *G. duodenalis* prevalence was 2.2% (n = 18,367) for *Giardia* antigen, however, in a prospective study, where 584 patients were analyzed, *G. duodenalis* prevalence was 7.2% (n = 42/584) applying the immunofluorescence method (Deksne et al., 2022). These *G. duodenalis* findings in humans, especially in the prospective study, highlight that this parasite is present in the human population in Latvia, which reinforces the importance of monitoring animal and environmental sources of *Giardia* and supports the need for integrated prevention strategies under the One Health framework. To fully understand the environmental contamination risks posed by the zoonotic *G. duodenalis* assemblage A in Latvia, further research is needed on its prevalence in surface water bodies, wastewaters and the effectiveness of wastewater treatment plants in removing *Giardia* cysts from drinking water meant for human use.

CONCLUSIONS

1. The prevalence of *G. duodenalis* in individual cattle (8.4%) was low in Latvia. Significantly higher *G. duodenalis* prevalence was observed in 0–3-month-old calves (16.4%, $p < 0.05$) and in male cattle (11.7%), which also excreted the highest cyst load (8017 CPG).
2. Only cattle-specific *G. duodenalis* assemblage E was detected in 74.1% of the herds, with 55 cattle were positive (88.7%), while only the zoonotic *G. duodenalis* assemblage A was detected in three herds (12.0%) with seven (11.3%) cattle being positive, highlighting the need for molecular surveillance to mitigate the zoonotic risks.
3. Key protective factors against *G. duodenalis* in cattle were age (OR 0.4, $p < 0.01$), pasture and manure management, implementation of biosecurity protocols (OR 0.7; $p < 0.05$) and change of shoes for visitors (OR 0.6; $p = 0.05$), while the risk factor was cattle able to leave the farm (OR 2.2; $p < 0.05$), underlining the role of management factors in the spread of *G. duodenalis* at cattle farms.
4. *G. duodenalis* prevalence in domestic dogs was 10.7% with the highest prevalence observed in puppies (18.5%), and male dogs were exposed to a higher risk of infection compared to female dogs ($p = 0.01$).
5. Three *G. duodenalis* assemblages were detected in dogs: canine-specific assemblages C and D, and the zoonotic assemblage A indicating potential zoonotic risk to humans.
6. In dogs, co-infection with *Cryptosporidium* spp. was associated with an increased risk of infection with *G. duodenalis* (OR 10.0, $p < 0.01$); in contrast, on-leash activities outside the city areas were protective (OR 0.4, $p = 0.008$).
7. Prevalence of *G. duodenalis* in red foxes (27.4%) and raccoon dogs (30.8%) was higher than in cattle (8.4%) and domestic dogs (10.7%), however, these animals shed lower cyst loads in the environment (3133 CPG and 14,008 CPG, respectively), suggesting that wild canids may act as frequent *G. duodenalis* carriers.
8. Canine-specific *G. duodenalis* assemblages C and D were detected in wild canids, demonstrating their role as reservoirs of dog-adapted assemblages.
9. In wild canids, co-infection with *Cryptosporidium* spp. increased the likelihood of *G. duodenalis* infection for red foxes (OR 111.1, $p < 0.001$) and raccoon dogs (OR 16.0, $p < 0.001$), suggesting that red foxes and raccoon dogs are important, multiple zoonotic parasite reservoirs with their relevance within One Health concept.
10. Although wild canids shared the highest *G. duodenalis* prevalence, cattle shed significantly more cysts (15,960,000 CPG-adjusted), increasing the environmental contamination load. The proximity of *G. duodenalis* assemblage A-shedding animals to surface water bodies underscores the potential for environmental contamination and waterborne transmission.

PRACTICAL RECOMMENDATIONS

1. Strengthen farm-level biosecurity: Because *G. duodenalis* cysts have direct life cycle, are small in size (7–10 µm), robust in the environment and are highly prevalent in Latvian cattle herds, it is important for herd owners to implement strict biosecurity protocols. All personnel and veterinarians entering the herd should use personal protective equipment (such as single-use gloves) and boots provided by the herd owner, to minimize introducing cysts in *Giardia*-free herds. Individual calf pens need to be thoroughly cleaned, disinfected and dry before introducing new, naïve calves, to prevent age-related transmission.
2. Promote personnel, food, and water hygiene: Due to the high numbers of *G. duodenalis* cysts shed by all included animals, especially cattle, hygiene practices around fresh produce should be prioritized. Berries, fruits, vegetables and leafy greens grown near cattle herds, are fertilized with manure, or grow in fields that are easily accessible to canids, should be washed thoroughly using clean water, under pressure to help remove the cysts. As *G. duodenalis* is a waterborne parasite, swimming in recreational waters near cattle herds or grazing pastures, especially after heavy rainfalls, when run-off contamination risk is high, should be avoided due to potential waterborne transmission. Additionally, thorough public hygiene education campaigns focusing on proper produce washing and informational signs about possible *G. duodenalis* contamination near recreational swimming waters should be considered.
3. Increase zoonotic surveillance and awareness: Because zoonotic *G. duodenalis* assemblage A was found in cattle and domestic dogs, it should be important to diagnose and monitor the presence of *G. duodenalis* in both species, especially in cases of human diarrhea outbreaks. The detection of co-infection with *Cryptosporidium* spp. in canids underlines the need for broader diagnostic screening in veterinary and public health settings. Currently, *G. duodenalis* is not under any official environmental or veterinary surveillance in Latvia.
4. Implement and promote the “One Health” framework: Because *G. duodenalis* is highly resistant to environmental conditions, minimizing the risk of contaminating the environment, especially water and food sources, is important. Educational campaigns to companies and agricultural workers, on proper manure management should be prioritized to minimize cyst viability before manure is used for field fertilization. Minimizing manure and slurry run-offs from the cattle facilities is also important, especially near open water sources. Providing clean drinking water in the pastures rather than using surface water sources is strongly recommended, to minimize transmission risk in both cattle and humans.

IEVADS

Giardia duodenalis (sinonīmi *G. lamblia*, *G. intestinalis*) ir ar pārtiku un ūdeni pārnēsājams viensūnas parazīts, kas var izraisīt žiardīazi uzņēmīgām dzīvnieku sugām un cilvēkiem (Dixon, 2021). *G. duodenalis* var invadēt plašu saimnieku spektru, tostarp govus, suņu dzimtas dzīvniekus – suņus, lapsas, jēnotsuņus un cilvēkus, kuri var kļūt par *G. duodenalis* asimptomātiskiem nēsātājiem. *G. duodenalis* A un B apakštīpi ir zoonotiski un ir izraisījuši vairākus ar *Giardia* saistītus uzliesmojumus cilvēkiem (Dixon, 2021). Cilvēkiem ar pamatslimībām viensūnis var izraisīt klīnisku invāziju, kuras simptomi var būt no viegliem līdz smagiem, bet kopumā slimība raksturojas ar akūtu līdz hronisku caureju, kas izraisa šķidruma, elektrolītu vai uzturvielu malabsorbciju (O’Handley et al., 2003; Geurden et al., 2010; Dixon, 2021). Lai gan nav veikti ilgtermiņa pētījumi par žiardīazes ietekmi uz teļiem un suņiem, invāzija izraisa svara zudumu jēriem (Aloisio et al., 2011; Sweeny et al., 2011; Šmit et al., 2023). Kopš 2004. gada *G. duodenalis* ir iekļauts Pasaules Veselības organizācijas (PVO) iniciatīvā par novārtā atstātām slimībām un pašlaik ir ierindots sestajā un astotajā vietā starp svarīgākajiem ar pārtiku pārnēsātiem parazītiem, attiecīgi Eiropā un Austrumeiropā (Savioli et al., 2006; Bouwknegt et al., 2018). *G. duodenalis* cistas ir mazas (7–10 µm) ar biezām sienām, kas padara tās ļoti izturīgas arvidē un uzlabo patogēna izdzīvošanu nelabvēlīgos vides apstākļos. Invāzijas deva var būt mazāk nekā 10 cistas, lai izraisītu klīniskus simptomus, un šis parazīts ir labi pielāgots pārnēsāšanai ar pārtiku, barību un, īpaši ūdeni (Dixon, 2021).

Saskaņā ar Vienas Veselības koncepciju *G. duodenalis* ir nozīmīgs cilvēku un dzīvnieku patogēns (Geurden et al., 2010). *G. duodenalis* izplatība govīm Eiropā sasniedza 31,1 %, un vislielākā izplatība novērota teļiem (Taghipour et al., 2022). *G. duodenalis* parasti skar teļus līdz viena mēneša vecumam, un no astoņiem *G. duodenalis* apakštīpiem trīs ir konstatētas govīm – apakštīps E, kas ir specifisks govīm, un zoonotiskie A un B apakštīpi (Dixon, 2021). Viena invadēta govs ar vienu gramu izkārnījumiem var izdalīt no 10^5 līdz 10^6 cistu, un, invāzijas asimptomiskā vai hroniskā rakstura dēļ, invadētos dzīvniekus ir grūti identificēt un izolēt, lai novērstu patogēna tālāku izplatīšanos (Fayer et al., 2000; Dixon et al., 2021). Turklāt govus var būt potenciāli rezervuāri zoonotiskā *G. duodenalis* A un B apakštīpiem (Coklin et al., 2007; Bartley et al., 2018; Zahedi et al., 2020). Hroniska žiardīaze govīm var ilgt līdz pat vairākiem mēnešiem, un kopā ar lielu izkārnījumu daudzumu (līdz 30 kg dienā) nodrošina ilgstošu kūts vai apkārtējās vides piesārņojumu (Aland et al., 2002). Ja neapstrādāts govju mēslojums, kas satur zoonotiskos *G. duodenalis* apakštīpus, tiek izmantots lauku un dārzu mēslošanai, tas var piesārņot ne tikai kultūraugus, bet arī virszemes un pazemes ūdens avotus (Martinez et al., 2009). Joprojām norit diskusijas par mājdzīvnieku un savvaļas suņu dzimtas dzīvnieku lomu *G. duodenalis* izplatībā, jo mājdzīvnieku suņi un rudās lapsas var būt potenciāli *G. duodenalis* rezervuāri cilvēkiem (Traub et al., 2004; Onac et al., 2015; Adell-Aledón et al., 2018;

Moghaddasi et al., 2024). Tomēr par *G. duodenalis* apakštipu sastopamību jenotsuņiem ir pieejama ļoti maz informācijas, visbiežāk tiek minēts suņiem raksturīgais D apakštips, kas ir konstatēts nebrīvē turētiem jenotsuņiem (Solarczyk et al., 2016).

Suņi ir vieni no populārākajiem mājdzīvniekiem un var kļūt par invāzijas avotu saviem īpašniekiem (Sun et al., 2023). Suņiem *G. duodenalis* ir viens no visbiežāk sastopamajiem parazītiem, īpaši dzīvniekiem no patversmēm un suņu audzētavām, ar izplatību 15,2 % (n = 4 309 451) visā pasaulē (Claerebout et al., 2009; Ferreira et al., 2011; Bouzid et al., 2015). Žiardiāze suņiem, līdzīgi kā govīm, bieži ir asimptomātiska, bet kucēniem var novērot vieglu līdz smagu, intermitējošu caureju (Feng & Xiao, 2011). Rudās lapsas un jenotsuņi bieži novēroti dažādās vidēs – mežos, laukos, pilsētās un piepilsētu teritorijās, kur nav tieša kontakta ar cilvēkiem. Tomēr to plašais dzīvesvietas reģions rada risku, ka lielākas teritorijas var tikt piesārņotas ar zoonotiskiem *G. duodenalis* apakštipiem (Debenham et al., 2017).

Cilvēkiem *G. duodenalis* izraisa akūtu vai hronisku caureju, kā arī meteorismu, sliktu dūšu un sāpes vēderā, un var izraisīt kognitīvo funkciju pasliktināšanos, alerģijas, vitamīnu un minerālvielu deficītu. Konstatēta arī parazitā saistība ar aizkuņģa dziedzera vēzi (Furukawa et al., 2011; Akkaub & Buret, 2020). Papildu ilgtermiņa sekas, piemēram, attīstības traucējumi un augšanas traucējumi, ir novērotas bērniem, kuri invadējušies pirmajos dzīves gados (Bergman et al., 2005; Botero-Garcés et al., 2009).

Govju audzēšana ir minēta kā viens no galvenajiem zoonotisko patogēnu izplatības avotiem, galvenokārt tāpēc, ka kultūraugu mēslošanai izmanto neapstrādātus kūtsmēslus. Tas savukārt var radīt ūdens un pārtikas piesārņojuma risku, tādējādi palielinot ar parazītu saistītu slimību uzliesmojumu varbūtību (Koyun et al., 2023). Neapstrādātu kūtsmēslu izmantošana paaugstina patogēna pārnēšanas risku, īpaši ja piesārņotā pārtika tiek pārdota tieši no lauka (Lewerin et al., 2020). Miniatiūro vai mājdzīvnieku zooloģisko dārzu un atvērto saimniecību skaita pieaugums var palielināt cilvēku, mājdzīvnieku un savvaļas dzīvnieku saskarsmi ar potenciāli invadētām govīm un citiem mājdzīvniekiem (Dunn et al., 2015; Conrad et al., 2017). Arī atklātie ūdens avoti var veicināt patogēna tālāku izplatību (Brunn et al., 2018).

Līdz šim, Latvijā nav publicēti pētījumi par *G. duodenalis* izplatību govīm, mājas suņiem, rudajām lapsām un jenotsuņiem. Trūkst datu par faktoriem, kas ietekmē *Giardia* izplatību govīm, mājas suņiem un savvaļas suņu dzimtas dzīvniekiem, to ģenētisko daudzveidību un zoonotisko potenciālu. Pētījumi par *G. duodenalis* izplatību ārkārtējā vidē, jo īpaši Vienas veselības pieejas kontekstā, nepieciešami lai novērstu patogēna pārneši ar pārtiku un ūdeni, kā arī lai radītu jaunas zināšanas par *G. duodenalis* epidemioloģiju.

Tika izvirzītas šādas tēzes:

1. *G. duodenalis* izplatība, izdalītā cistu intensitāte, un *G. duodenalis* apakštipu sastopamība atšķiras starp govīm, suņiem, rudajām lapsām un jenotsuņiem Latvijā.
2. Individuālie dzīvnieku faktori, tajā skaitā vecums un dzimums, kā arī individuālie faktori un turēšanas prakses ietekmē *G. duodenalis* sastopamību govīm, suņiem, rudajām lapsām un jenotsuņiem Latvijā.
3. Zoonotiskie *G. duodenalis* apakštipi ir sastopami govīm, suņiem, rudajām lapsām un jenotsuņiem Latvijā.
4. Govis rada vislielāko vides piesārņojumu ar *G. duodenalis* cistām.

Problēmas analīze:

Trūkst informācijas par *G. duodenalis* izplatību, izdalīto cistu intensitāti un *G. duodenalis* ģenētisko daudzveidību, jo īpaši par zoonotisko A un B apakštipu govīm, mājas suņiem, rudajām lapsām un jenotsuņiem Latvijā. Ir pieejama ierobežota informācija par dzīvnieku līmeņa un ganāmpulka pārvaldības un turēšanas faktoriem, kas ietekmē *G. duodenalis* izplatību govīm. Izpratne par faktoriem, kas ietekmē parazīta izplatību, ir svarīga, lai novērtētu vides piesārņojuma risku un potenciālo zoonotisko pārnēsī, īpaši Vienas veselības pieejas ietvaros. Jaunas zināšanas par *G. duodenalis* epidemioloģiju varētu palīdzēt noteikt noteikt zoonotisko transmisiju un prognozēt uzliesmojumus cilvēkiem, identificējot vai tā avots varētu būt dzīvnieku izcelsmes.

Promocijas darba mērķis: Noteikt žiardijas (*Giardia duodenalis*) izplatību, cistu izdalīšanās intensitāti, ģenētisko daudzveidību un to izplatību ietekmējošos faktorus govīm (*Bos taurus*), mājas suņiem (*Canis familiaris*), rudajām lapsām (*Vulpes vulpes*) un jenotsuņiem (*Nyctereutes procyonoides*) Latvijā, kā arī izvērtēt izmeklēto dzīvnieku ietekmi uz vides radīto piesārņojumu ar *Giardia duodenalis*.

Promocijas darba uzdevumi:

1. noteikt *G. duodenalis* izplatību, cistu izdalīšanas intensitāti, ģenētisko daudzveidību, individuālos un turēšanas faktorus, kas saistīti ar ierosinātāja izplatību govīm;
2. analizēt *G. duodenalis* izplatību, cistu izdalīšanas intensitāti, ģenētisko daudzveidību, individuālos un turēšanas faktorus, kas saistīti ar ierosinātāja izplatību mājas suņiem;
3. noskaidrot *G. duodenalis* izplatību, cistu izdalīšanas intensitāti, ģenētisko daudzveidību, un individuālos faktorus, kas saistīti ar ierosinātāja izplatību rudajām lapsām un jenotsuņiem;
4. izvērtēt govju un suņu dzimtas dzīvnieku radīto *G. duodenalis* vides piesārņojumu, lai noteiktu, kura dzīvnieku suga veicina ierosinātāja izplatību ārdīdē.

Promocijas darba zinātniskā novitāte:

1. pirmais pētījums Latvijā par *G. duodenalis* izplatību, izdalīto cistu intensitāti, ģenētisko daudzveidību govīm, mājas suņiem rudajām lapsām un jenotsuņiem Latvijā, atklājot *G. duodenalis* C, D, E un zoonotisko A apaštipu;
2. identificēti faktori, kas saistīti ar *G. duodenalis* govīm, mājas suņiem, rudajām lapsām un jenotsuņiem Latvijā, dodot ieskatu veterinārārstiem un jomas ekspertiem, kā ierobežot šī parazīta izplatību;
3. izvērtēta potenciālā zoonotiskā *G. duodenalis* A apakštipa izplatība apkārtējā vidē, Vienas veselības pieejas ietvaros.

Personīgais ieguldījums:

1. paraugu ievākšana no govīm;
2. saziņa ar govju ganāmpulku un suņu īpašniekiem, aptauju veikšana un dokumentēšana;
3. paraugu sagatavošana izmeklēšanai, izmantojot imunofluorescences krāsošanas metodi *G. duodenalis* cistu noteikšanai un mikroskopēšana;
4. ģenētisko analīžu veikšana, tostarp *G. duodenalis* DNS izdalīšana, polimerāzes ķēdes reakcijas (PKR) un restrikcijas fragmentu garuma polimorfisma analīzes (RFLP) veikšana. Lielākā daļa no paraugu analīzes veikta personīgi;
5. aprakstošā statistika, riska un aizsargājošo faktoru analīze, izmantojot vispārināto lineāro jaukto efektu un vispārināto lineāro modeļu aprēķinu metodiku, lai identificētu ar *G. duodenalis* izplatību saistītos faktorus. Lielākā daļa aprēķinu veikta personīgi.

Zinātnisko darbu aprobācija:

Saraksts ar oriģinālajām publikācijām žurnālos, kas ir indeksēti SCOPUS un Web of Science datu bāzēs un iekļauti disertācijā:

1. **Mateusa, M.**, Ozoliņa, Z., Terentjeva, M., & Deksnē, G. (2023). *Giardia duodenalis* Styles, 1902 prevalence in cattle (*Bos taurus* Linnaeus, 1758) in Europe: A systematic review. *Microorganisms*, 11(2), 309. IF 4,926. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020309>
2. **Mateusa, M.**, Selezņova, M., Terentjeva, M., Deksnē, G. (2023). *Giardia duodenalis* (Styles, 1902) in cattle: isolation of calves with diarrhoea and manure treatment in the lagoon presented as protective factors in Latvian herds. *Microorganisms*, 11(9), 2338, IF 4.926, <https://doi.org/10.3390/microorganisms11092338>
3. **Mateusa, M.**, Cīrulis, A., Selezņova, M., Šveisberga, D.P., Terentjeva, M., & Deksnē, G. (2024). *Cryptosporidium* spp. are associated with *Giardia duodenalis* co-infection in wild and domestic canids. *Animals*, 14(23), 3484, IF 2.7, <https://doi.org/10.3390/ani14233484>

Ziņojumi starptautiskās konferencēs saistībā ar promocijas darba tēmu:

1. Deksne, G., **Mateusa, M.**, & Krūmiņa, A. (2021). Occurrence of important foodborne zoonotic pathogens in Latvia – *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis*. *RSU International Research Conference on Medical and Health Care Sciences “Knowledge for Use in Practice”*. Rīga, Latvija. 24.03.–26.03.2021.
2. **Mateusa, M.**, Terentjeva, M., & Deksne, G. (2021). *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. prevalence in cattle in Latvia”, 9th Conference of the Scandinavian-Baltic Society for Parasitology (SBSP), Viļņa, Lietuva, 21.04.2021.–23.04.2021.
3. **Mateusa, M.**, Terentjeva, M., & Deksne, G. (2021). *Giardia duodenalis* prevalence in cattle in Latvia”, 13th European Multicolloquium of Parasitology, Belgrade, Serbija, 12.10.2021.–16.10.2021.
4. **Mateusa, M.**, Selezņova, M., & Deksne, G. (2022). Zoonotic parasites in red foxes (*Vulpes vulpes*) and raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*), 80th International Scientific Conference of the University of Latvia, Rīga, Latvija, 03.02.2022.
5. **Mateusa, M.**, Rozenfelde, M., Upeniece, M., Terentjeva, M., & Deksne, G. (2023). Prevalence of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in domestic dogs (*Canis familiaris*). 81st International Scientific Conference of the University of Latvia, Rīga, Latvija, 25.01.2023.
6. **Mateusa, M.**, Šveisberga, D. P., Terentjeva, M., & Deksne, G. (2023). *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in untreated wastewaters in Latvia: Preliminary results. 10th Conference of the Scandinavian-Baltic Society for Parasitology, Tartu, Igaunija, 05.06.2023.–07.06.2023.
7. **Mateusa, M.**, Šveisberga, D. P., Rozenfelde, M., Selezņova, M., Terentjeva, M., Krūmiņa, A., & Deksne, G. (2024). *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. from One Health perspective in Latvia. 14th European Multicolloquium of Parasitology, Vroclava, Polija, 26.08.2024.–30.08.2024.

Publikācija, kas saistīta ar promocijas darba tēmu, kas ir indeksēta SCOPUS un Web of Science datu bāzēs, bet nav iekļauta promocijas darbā:

1. Deksne, G., Krūmiņš, A., **Mateusa, M.**, Morozovs, V., Šveisberga, D.P., Korotinska, R., Bormane, A., Viksna, L., & Krūmiņa, A. (2022). Occurrence of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. infection in humans in Latvia: Evidence of underdiagnosed and underreported cases. *Medicina* (Kaunas). 24;58(4):471. IF 2.948. <https://doi.org/10.3390/medicina58040471>

Populārzinātniskās publikācijas, kas saistītas ar promocijas darba tēmu, bet nav indeksētas SCOPUS datu bāzēs un/vai nav iekļautas promocijas darbā:

1. Deksne, G., **Mateusa, M.**, & Ozoliņa, Z. (2020). Kriptosporidioze un žiardioze liellopos Latvijā Vienas Veselības kontekstā (*Cryptosporidiosis and giardiasis in cattle in Latvia, from One Health context*). *Veterinārais*

žurnāls, Latvijas Veterinārārstu biedrības informatīvs biļetens, Rīga, Latvija, Rudens, 2020.

2. **Mateusa, M.**, Selezņova, M., Terentjeva, M., & Deksnē, G. (2023). Kriptosporīdijas un žiardijas suņos (*Cryptosporidium* and *Giardia* in dogs), *Veterinārais žurnāls*, Latvijas Veterinārārstu biedrības informatīvs biļetens, Rīga, Latvija, Ziema, 2023.
3. Deksnē, G., Šveisberga, D. P., **Mateusa, M.**, & Krūmiņa, A. (2024). Kriptosporīdioze un žiardīāzes no “Vienas veselības” skatpunkta (Cryptosporidiosis and giardiasis from “One Health” perspective). *Latvijas Ārsts, nacionālais medicīnas žurnāls*, Rīga, Latvija, Marts–Aprīlis, 2024.
4. **Mateusa, M.**, Selezņova, M., Cīrulis, A., & Deksnē, G. (2024). Kriptosporīdijas un žiardijas savvaļas suņu dzimtas dzīvniekos (*Cryptosporidium* and *Giardia* in wild canids). *Veterinārais žurnāls*, Latvijas Veterinārārstu biedrības informatīvs biļetens, Rīga, Latvija, Vasara, 2024.

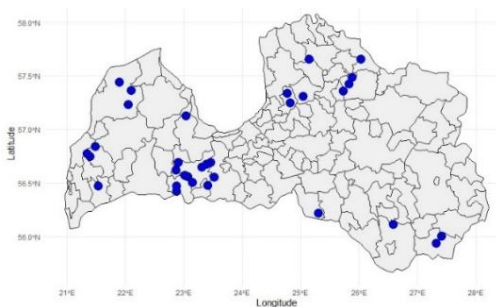
Promocijas darba noslēgumā ir formulēti **desmit secinājumi** un **četras praktiskās rekomendācijas**. Promocijas darbs noformēts **142 lapaspusēs**, darbā ir **41 tabula**, **32 attēli**, kā arī pievienoti **septiņi pielikumi**. Literatūras sarakstā ietverti **319 informācijas avoti**

MATERIĀLI UN METODES

Pētījuma shēma *Giardia duodenalis* izplatības noteikšanai govīm, mājas suņiem un savvaļas suņu dzimtas dzīvniekiem

Giardia duodenalis izplatības noteikšana govīm Latvijā.

No 2019. gada marta līdz 2020. gada martam tika apmeklēti govju ganāmpulki, lai ievākti fekāliju paraugus *G. duodenalis* noteikšanai un iegūtu informāciju par ganāmpulku pārvaldības praksi. Kopumā tika ņemti paraugi no 973 govīm četros reģionos: Kurzeme (n = 283), Latgale (n = 91), Vidzeme (n = 244) un Zemgale (n = 355). Kopumā tika pārbaudītas 853 sievišķās kārtas un 120 vīrišķās kārtas govīs, no 32 ganāmpulkiem. Visvairāk ganāmpulku bija no Zemgales (n = 12), kam sekoja Kurzeme (n = 9), Vidzeme (n = 9) un Latgale (n = 3) (1. attēls).



10. att. Pētījumā iekļauto govju novietņu atrašanās vietas (zilie punkti)

Paraugi tika ievākti no 13 govju šķirnēm, no kurām lielākā daļa bija Holšteinas melnraibās (HM) (n = 699), kam sekoja Holšteinas sarkanraibās (HS) (n = 122); Latvijas brūnās (LB) (n = 71), Limuzīnas (LI) (n = 35), Dānijas sarkanās (DS) (n = 19); krustojumi (XX) (n = 14) un 13 paraugi tika savākti no sešām citām šķirnēm, kuru paraugu skaits svārstījās no 1 līdz 4.

Par katru mēnesi, kad tika ievākti govju fekāliju paraugi, dati par vidējo temperatūru, nokrišņiem un gaisa mitrumu tika iegūti no Latvijas Vides, ģeoloģijas un meteoroloģijas centra (LVĢMC) (www.klimats.meteo.lv).

Pētījumam nepieciešamais paraugu skaits tika noteikts, pamatojoties uz Latvijas govju populācijas lielumu – 395 320 (Latvijas Republikas Lauksaimniecības datu centrs, piekļuve 2020. gada 1. janvārī).

Lai aprēķinātu minimālo govju skaitu, kas nepieciešams paraugu ņemšanai, tika izmantots 95 % ticamības intervāls, pieņemot, ka invāzijas līmenis populācijā ir 50 %. Rezultātā paraugu ņemšanai bija nepieciešamas vismaz 384 govīs. Paraugu ņemšanas pieeja tika izstrādāta tā, lai tā būtu proporcionāli sadalīta pa Latvijas reģioniem, taču rezultātā paraugi tika ņemti tikai no ganāmpulkiem, kuru īpašnieki piekrita piedalīties pētījumā.

Paraugu ievākšanai telefoniskisazinājāties ar potenciālajiem ganāmpulku īpašniekiem vai atbildīgajiem veterinārārstiem. Pētījuma periodā katrs ganāmpulks tika apmeklēts vienu reizi. Galvenie iekļaušanas kritēriji pētījumā bija govju ganāmpulki ar dažādām apsaimniekošanas sistēmām, piemēram, bioloģiskā, industriālā, brīvā un piesietā apsaimniekošana. Turklāt pētījuma uzdevums bija ievākt paraugus no dažāda lieluma ganāmpulkiem, ietverot gan lielus, gan mazākas ģimenes izmēra saimniecības. Ja iespējams, fekāliju paraugi tika ievākti no abiem dzimumiem un dažādām govju šķirnēm. Izslēgšanas kritēriji bija, ja īpašnieks nepiekrīta pētījumam vai pētījuma piekrišanas process netika pabeigts.

No katra ganāmpulka tika ievākti līdz 45 fekāliju paraugi, kas tika sadalīti trīs vecuma grupās. Govju vecuma grupu kategorizācija tika noteikta, ņemot vērā atšķirīgās turēšanas prakses, kas saistītas ar dažādām vecuma grupām, un *G. duodenalis* bioloģiju, neņemot vērā govju fizioloģisko vecumu.

Vecuma kategorizācija tika veikta šādi:

- 0–3 mēneši;
- 4–24 mēneši;
- 24 mēneši un vairāk.

Teļiem līdz 3 mēnešu vecumam *Giardia* izraisa izteiktāku klīnisku ainu, un tie izdala lielāku *Giardia* cistu daudzumu, kas var piesārņot vidi (O’Handley et al., 2001; Trout et al., 2005; Mark-Carew et al., 2010). Turklāt šajā vecuma grupā teļi bieži saņem pienu kā papildu barības avotu, kas atspoguļo teļu unikālās uztura vajadzības un uzņēmību pret parazitāru invāziju (Rosenberger et al., 2017). Govis vecumā no 4 līdz 24 mēnešiem parasti tiek barotas ar standarta barību un tiek grupēti atbilstoši to līdzīgajām uztura vajadzībām un apsaimniekošanas praksei (Curtis et al., 2018). Govis, kas vecākas par 24 mēnešiem, kuras paredzētas ganāmpulka atjaunošanai, ir vairāk pakļautas parazitāru pārņēšanai uz jaundzimušajiem teļiem dzemdību laikā vai drīz pēc tām, jo perinatālajā periodā palielinās izdalītais *Giardia* cistu daudzums (Ralston et al., 2003; Mark-Carew et al., 2010).

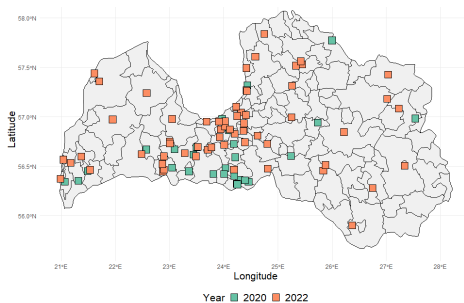
Saimniecībās paraugi tika ņemti no govīm uzreiz pēc defekācijas, un fekālijām pirms paraugu ņemšanas nebija redzamu izmaiņu (piemēram, piesārņojums ar pakaišiem vai nagu nospiedumi). Ja bija iespējams, paraugu ņemšanai no 0–3 mēnešus veciem teļiem tika izmantota nejaušas paraugu ņemšanas metode, lai savāktu izkārnījumus no teļiem ar un bez caurejas. Ganāmpulkos, kur no konkrētas vecuma grupas nevarēja iegūt iepriekš noteiktu paraugu skaitu, paraugi tika ņemti no visiem pieejamajiem dzīvniekiem šajā vecuma grupā, lai nodrošinātu visaptverošu pārklājumu katrā vecuma kategorijā.

Fekāliju paraugi tika ievākti ar tīru lateksa cimdu un ievietoti vienreizlietojamā plastmasas traukā; lateksa cimdus tika mainīti pēc katra parauga savākšanas. Tika izmantota svaigu fekāliju augšējā daļa, lai izslēgtu fekāliju kontamināciju ar citiem patogēniem. Katrai govij tika piešķirts anonīms identifikācijas numurs.

Par katru dzīvnieku paraugu ņēmējs kopā ar ganāmpulka īpašnieku vai veterinārārstu aizpildīja anketu, kurā reģistrēja govs identifikācijas numuru, dzimumu, šķirni, fekāliju konsistenci un to, vai dzīvnieks ir piedzimis ganāmpulkā, vai iepirkts. Visi dati tika anonimizēti, piešķirot individuālu laboratorijas numuru katram ganāmpulkam. Pēc tam paraugi tika ievietoti 4 °C temperatūrā un transportēti uz laboratoriju paraugu ievākšanas dienā. Laboratorijā paraugi tika uzglabāti līdz divām nedēļām 4 °C temperatūrā līdz turpmākai testēšanai.

***Giardia duodenalis* izplatības noteikšana mājās suņiem Latvijā.**

Mājas suņu fekāliju paraugi tika ievākti no 2020. gada aprīļa līdz 2022. gada maijam. Kopumā 373 suņi tika izmeklēti uz *G. duodenalis*, tostarp 183 sievišķās un 190 vīrišķās kārtas suņi. No tiem 328 bija īpašnieku un 45 bija patversmes suņi. Fekāliju paraugi tika savākti no 64 suņu šķirnēm, tāpēc tie tika iedalīti “šķirnes” suņos (n = 218) un bezšķirnes suņos (n = 155). Reģionāli paraugi tika savākti no Latgales (n = 22), Kurzeme (n = 57), Zemgales (n = 87) un Vidzemes (n = 206) (2. attēls).



2. att. **Pētījumā iekļauto mājās suņu atrašanās vietas** (zaļie un oranžie kvadrāti)

Par katru mēnesi, kad tika ņemti paraugi no mājās suņiem, dati par vidējo temperatūru, nokrišņiem un gaisa mitrumu tika iegūti no LVGMC (www.klimats.meteo.lv).

Pētījumam nepieciešamais suņu skaits tika aprēķināts, pamatojoties uz 95 % ticamības intervālu un pieņemot, ka mājdzīvnieku populācijā invāzijas rādītājs ir 40 % (Bouzid et al., 2015). Nepieciešamo paraugu skaita aprēķiniem suņiem izmantoti Latvijas Lauksaimniecības datu centra dati, un suņu skaits 2020. gadā bija 132 750. Minimālais nepieciešamais paraugu skaits tika aprēķināts 323. Paraugu ievākšanai tika izmantota nejauša paraugu ņemšanas metode. Lai sasniegtu plašāku mērķauditoriju, tika publicēti sludinājumi sociālajos tīklos, piemēram, Facebook, un ziņu portālos, piemēram, BezTabu, www.lsm.lv, un institūta “BIOR” mājaslapā (www.bior.lv). Individuāli uzaicinājumi piedalīties pētījumā tika nosūtīti arī veterinārajām klīnikām un suņu patversmēm.

Pētījuma periodā īpašniekiem, veterinārārstiem un suņu patversmju darbiniekiem tika sniegts pētījuma apraksts latviešu valodā ar detalizētu fekāliju savākšanas procesa izskaidrojumu. Daļībniekiem tika norādīts, ka fekālijas jāievāc trīs dienas pēc kārtas, ievietojot tos tīrā, ūdensnecaurlaidīgā traukā. Paraugi tikai uzglabāti 4 °C temperatūrā, līdz tie tika nogādāti laboratorijā. Paraugu testēšana tika veikta nedēļas laikā pēc paraugu nogādāšanas laboratorijā.

Suņi tika iedalīti vecuma grupās pēc Harvey (2021):

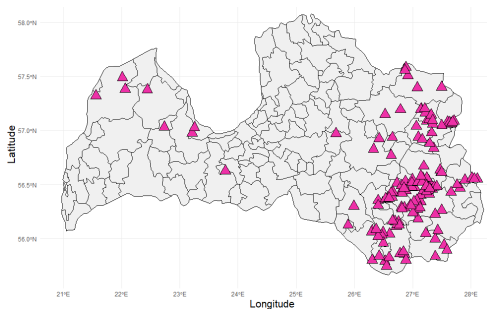
- < 2 gadi: kucēni;
- 2 līdz 7 gadi: pieaugušie;
- 8 līdz 11 gadi: seniori;
- > 12 gadi: geriatriskie suņi.

Laboratorijā paraugiem tika piešķirts individuāls identifikācijas numurs, lai nodrošinātu anonimitāti. Tika atzīmēta fekāliju konsistence (šķidrās, mīkstas, formētas), un paraugi tika uzglabāti 4 °C temperatūrā divas nedēļas līdz turpmākai testēšanai.

***Giardia duodenalis* izplatība rudajām lapsām un jenotsuņiem Latvijā.**

Rudās lapsas un jenotsuņi tika nošauti Pārtikas un veterinārā dienesta (PVD) organizētajā trakumsērgas vakcinācijas un profilakses apkarošanas programmā (Zemkopības ministrija, Pārtikas un veterinārais dienests, 2021). Pēc dzīvnieku nošaušanas mednieks noteica dzīvnieka vecumu (ja iespējams) un nosūtīja līķi uz zinātnisko institūtu “BIOR”.

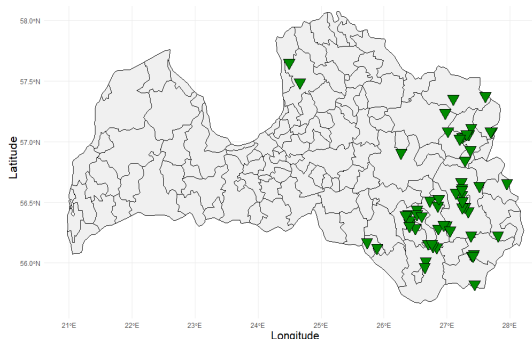
No 2020. gada februāra līdz 2023. gada janvārim kopumā tika savākti 219 rudo lapsu līķi, no kuriem 182 bija no Latgales, 27 no Vidzemes, 5 no Zemgales un 4 no Kurzemes, un tie tika pārbaudīti uz *G. duodenalis* (3. attēls).



3. att. Pētījumā iekļauto, nomedīto rudo lapsu atrašanās vietas (sarkanie trijstūri)

Rudās lapsas tika ievāktas no 23 mežniecībām, kuras atradās astoņu Latvijas virsmežniecību pakļautībā: (Austrumlatgales, Dienvidlatgales, Centrālvidzemes, Ziemeļaustrumu, Ziemeļvidzemes, Zemgales, Sēlijas un Ziemeļkurzemes).

Kopā ar rudajām lapsām tika savākti un pārbaudīti uz *G. duodenalis* klātbūtni kopumā 78 jenotsuņu līķi, no kuriem 69 bija no Latgales, 7 no Vidzemes un 2 no Zemgales (4. attēls).



4. att. Pētījumā iekļauto, nomedīto jenotsuņu atrašanās vietas (zaļie trijstūri)

Jenotsuņi tika savākti no 13 mežniecībām, kuras atradās sešu Latvijas virsmežniecību pakļautībā: Austrumlatgales, Dienvidlatgales, Centrālvidzemes, Ziemeļaustrumu, Ziemeļvidzemes un Sēlijas.

Par katru mēnesi, kad tika veikta rudo lapsu un jenotsuņu paraugu ievākšana, dati par vidējo temperatūru, nokrišņiem un gaisa mitrumu tika iegūti no LVGMC (www.klimats.meteo.lv).

Pēc nogādāšanas laboratorijā no dzīvniekiem tika atdalīts zarnu trakts, ievietots ūdensnecaurļaidīgā konteinerā un ievietots saldētavā (-30 °C) uz laiku līdz vienam mēnesim. Pēc tam zarnu trakts tika atkausēts un no taisnās zarnas tika ievāktas fekālijas, kuras ievietotas ūdensnecaurļaidīgā iepakojumā, marķēti ar identifikācijas numuru un uzglabāti 4 °C temperatūrā līdz pat nedēļai, līdz tika veikti turpmākā izmeklēšana.

Mikroskopiskā fekāliju izmeklēšana

Fekāliju paraugu sagatavošana.

Paraugu apstrādei tika izmantota piesātināta nātrija hlorīda (NaCl) metode (Kuczynska & Shelton, 1999; Maddox-Hyttel et al., 2006).

Lai sagatavotu paraugu, viens grams individuālu fekāliju tika iesvērts tīrā, vienreizlietojamā 15 ml centrifūgas mēģenē (SARSTEDT, Nümbrecht, Vācija).

Parauga attīrīšanas un sedimentācijas process bija sekojošs:

1. Fekāliju paraugam pievienoja četrus ml destilēta ūdens un 4 ml piesātināta NaCl (blīvums 1,18) rūpīgi sakratīja 30 sekundes. 15 ml mēģeni centrifugēja, izmantojot Hermle Z446K centrifūgu (HERMLE Labortechnik GmbH, Vācija) vienu minūti pie 1540 x gravitācijas (g).
2. Pēc tam 8 ml supernatanta ielēja tīrā, vienreizlietojamā 50 ml centrifūgas mēģenē (SARSTEDT, Nümbrecht, Vācija), kurai pievienoja destilētu ūdeni līdz 45 ml atzīmei, un centrifugēja 10 minūtes pie 1540 x g.

3. Augšējo slāni izlēja vienā reizē līdz 15 ml atzīmei, nogulsnes sakratīja, līdz tās pilnībā izšķīda, un pievienoja destilētu ūdeni līdz 45 ml atzīmei, un atkal centrifugēja 10 minūtes pie 1540 x g. Šo procedūru atkārtoja divas reizes.
4. Augšējais slānis tika izliets līdz 5 ml atzīmei, un atlikušais augšējais slānis tika atdalīts līdz 2 ml atzīmei, un nogulsnes tika rūpīgi sakratītas.
5. Sediments tika pārnestš sterilā 2 ml Eppendorf tipa mēģenē, un mēģene tika uzglabāta 4 °C temperatūrā līdz turpmākai testēšanai līdz vienam mēnesim.

***Giardia duodenalis* cistu krāsošana ar imunofluorescences metodi un paraugu mikroskopija.**

Giardia cistas tika noteiktas ar imunofluorescences metodi, izmantojot A100FLR-20X AquaGlo™ G/C Direct reakciju kitu (Waterborne, INC, New Orleans, ASV) saskaņā ar ražotāja norādījumiem. Reakcija tika veikta gaismas un ūdens necaurīdīga mitruma kamerā. Monoklonālo antivielu (mAb) šķīdums tika sajaukts saskaņā ar ražotāja instrukciju.

Visi ar imunofluorescences krāsu iekrāsotie priekšmetstikli tika analizēti, izmantojot fluorescences mikroskopu (Nikon ECLIPSE Ti-E, ASV) ar fluoresceīna izotiocianāta (FITC) filtru, 200x palielinājumā.

Pozitīvā kontrole tika pārbaudīta pirmā. Bedrītēs tika saskaitītas visas spilgti zaļi krāsotas cistas ar tipisku morfoloģiju un izmēru.

G. duodenalis cistas parasti ir ovālas formas un to izmērs ir 7,0–10,0 μm. Ar imunofluorescences krāsošanai paredzēto metodi konstatē arī *Cryptosporidium* spp. oocistas. Lai izmēritu cistas vai atšķirtu lielākās *C. andersoni* oocistas no *Giardia* cistām, tika izmantota programma Nis-Elements AR 4.00.00. Salīdzinot ar *Giardia* cistām, *C. andersoni* oocistas ir $7,4 \pm 5,5$ μm lielas, bet *Giardia* cistas ir 7–10 μm diametrā (Lindsay et al., 2000; Adam, 2001).

***Giardia duodenalis* molekulārā identifikācija**

***Giardia duodenalis* DNS ekstrakcija no *G. duodenalis*-pozitīviem paraugiem**

Visi mikroskopiski pozitīvie paraugi tika tālāk sagatavoti *G. duodenalis* molekulārai identifikācijai. Kopumā tika analizēti 145 IFM pozitīvi fekāliju paraugi (82 govju, 40 suņu, 23 rudo lapsu un jēnotsuņu).

Genomiskā DNS tika izdalīta no 2 ml attīrītiem paraugiem, izmantojot DNeasy® PowerSoil® Pro Kit (QIAGEN, Hilden, Vācija), saskaņā ar ražotāja norādījumiem (Qiagen, 2023).

PĶR apstākļi *Giardia duodenalis* noteikšanai.

G. duodenalis identifikācija tika veikta, izmantojot Eiropas Parazītu references laboratorijas aprakstīto metodi, nosakot *beta-giardina* (*bg*) gēnu (EURLP, MI-09-rev-2). Tika ievērotas ražotāja instrukcijas, izmantojot Taq PĶR Master Mix komplektu (QIAGEN, Hilden, Vācija). *Giardia* genomiskā DNS un nukleāzes nesaturošs ūdens tika izmantoti kvalitātes kontrolei kā

pozitīvās un negatīvās kontroles. Izmantotās oligonukleotīdu sekvences ir apkopotas 1. tabulā (Lalle et al., 2005; EURLP, MI-09-rev-2).

1. tabula. Oligonukleotīdu maisījumu nosaukumi ar to reprezentatīvajiem kodiem un sekvencēm, kas izmantotas *Giardia duodenalis* identifikācijai (Lalle et al., 2005)

Oligonukleotīdu maisījuma nosaukums	Kods	Oligonukleotīdu sekvence
SetA	BGFor71	5'-CCCGACGACCTCACCCGAGTCG-3'
SetA	BGRev794	5'-GCCGCCCTGGATCTTCGAGACGA-3'
SetB	BGinfFor	5'-GAACGAACGAGATCGAGGTCCG-3'
SetB	BGintRev	5'-CTCGACGAGCTTCGTGTT-3'

Sākotnējai PĶR amplifikācijai tika apstrādāti kopumā 10 µl DNS. Nepieciešamais reaģentu maisījums tika sagatavots vienam paraugam (2. tabula).

2. tabula. Sākotnējās PĶR reaģentu maisījums *Giardia* ģints noteikšanai

Reaģenti	Tilpums (µl)
ddH ₂ O (QIAGEN, Hilden, Vācija)	31,5
10x PĶR buferis (QIAGEN, Hilden, Vācija)	5
Taq DNS polimerāze (QIAGEN, Hilden, Vācija)	0,5
dNTP maisījums (QIAGEN, Hilden, Vācija)	2
SetA (BGFor71; BGRev794)	1

Amplifikācija tika veikta ProFlex PĶR sistēmā (Thermo Fisher Scientific, ASV) ar nepieciešamajiem PĶR apstākļiem (3. tabula).

3. tabula. PĶR apstākļi *Giardia* ģints noteikšanai

PĶR apstākļi	Laiks	Temperatūra, °C
Denaturācija	3 minūtes	94
Amplifikācija (35 cikli)	30 sekundes	94
	30 sekundes	55
	60 sekundes	72
Elongācija	10 minūtes	72

Pēc 1. PĶR paraugi tika centrifugēti piecas sekundes un turētas 4 °C temperatūrā līdz nākamajam PĶR posmam.

PĶR metode *Giardia duodenalis* noteikšanai.

Lai noteiktu *G. duodenalis* sugu, katram paraugam tika sagatavots jauns amplifikācijas maisījums ar SetB oligonukleotīdiem (4. tabula).

4. tabula. Reaģentu maisījums *Giardia duodenalis* sugas amplifikācijai

Reaģenti	Tilpums (μl)
ddH ₂ O (QIAGEN, Hilden, Vācija)	36,5
10x PĶR buferis (QIAGEN, Hilden, Vācija)	5
Taq DNS polimerāze (QIAGEN, Hilden, Vācija)	0,5
dNTP maisījums (QIAGEN, Hilden, Vācija)	2
SetB (BGinFor; BGintRev)	1

PĶR tika veikta ProFlex PCR sistēmā (Thermo Fisher Scientific, ASV) ar trim cikliem (5. tabula).

5. tabula. PĶR apstākļi *Giardia duodenalis* noteikšanai

Amplifikācijas cikli	Laiks	Temperatūra, °C
Denaturācija	3 minūtes	94
Amplifikācija (35 cikli)	30 sekundes	94
	30 sekundes	53
	60 sekundes	72
Elongācija	7 minūtes	72

Pēc PĶR reakcijas beigām mēģenes tika centrifugētas piecas sekundes. 511 bāzes pāru (bp) amplifikācijas tika vizualizētas ar kapilāro gēla elektroforēzi (QIAxcel Advances, QIAGEN, Hilden, Vācija). Iekļautie PĶR produkti ar 511 bp tika pakļauti restrikcijas garuma fragmentu polimorfisma (RLFP) analīzei.

Restrikcijas garuma fragmentu polimorfisma analīze *Giardia duodenalis* apakštipu noteikšanai

RLFP gadījumā restrikcijas endonukleāze HaeIII (New England Biolabs, ASV) tika izmantota, lai atpazītu 511 bp PĶR produktus un noteiktu *G. duodenalis* apakštipus. Oligonukleotīdu sekvenses, kuras atpazīst HaeIII, ir 5'...GC▼ CC...3' un 3'...CC▲ GG...5'. RFLP gadījumā tika sagatavots maisījums ar restrikcijas endonukleāzi (6. tabula), kam tika pievienots 10 μl DNS, kas iegūts ar iegultās PĶR metodi. Kopumā 81 iegūtais PĶR pozitīvs paraugs (62 govīs, 16 suņi, 2 rudās lapsas un 1 jēnots) tika pakļauts RLFP analīzei.

6. tabula. Reaģentu maisījums *Giardia duodenalis* apakštipu noteikšanai ar Restrikcijas garuma fragmentu polimorfisma analīzi

Reaģenti	Tilpums, μl
ddH ₂ O	7
10x rCutSmart™ buferis (New England Biolabs, ASV)	2
HaeIII (New England Biolabs, ASV)	1

Pēc reaģentu maisījuma sajaukšanas ar DNS, to ievietoja PĶR amplifikatorā (ProFlex PĶR sistēma, Thermo Fisher Scientific, ASV) uz 3 stundām 37 °C temperatūrā. Pēc tam iegūtie PĶR sadalītie fragmenti tika pakļauti kapilārajai elektroforēzei (QIAxel Advances, QIAGEN, Hilden, Vācija), lai vizualizētu 511 bp sadalīšanas rezultātus un noteiktu *G. duodenalis* kopumu (7. tabula).

7. tabula. *Giardia duodenalis* apakštipu noteikšana, pamatojoties uz beta-giardīnu fragmentu izmēru (bāzes pāros) pēc HaeIII endonukleāzes sadalīšanas (Lalle et al., 2005)

Apakštips	Sadalīšanās fragmenti (bp)
A	201, 150, 110, 50
B	150, 117, 110, 84, 26, 24
C	194, 150, 102, 50, 15
D	200, 194, 117
E	186, 150, 110, 26, 24, 15
F	186, 150, 110, 50, 15
G	194, 165, 102, 50

Anketas

Anketa par govju ganāmpulkiem.

Tika izstrādāta vispārēja anketa, lai iegūtu informāciju par govju ganāmpulkiem, ganāmpulku pārvaldības praksi, teļu turēšanu un ganāmpulku apkārtējo teritoriju. Pirms paraugu savākšanas tika saņemta rakstiska piekrišana no īpašniekiem, ganāmpulku pārvaldniekiem vai atbildīgajiem veterinārārstiem par fekāliju paraugu un saistīto datu ievākšanu.

Intervijas tika veiktas latviešu valodā, klātienē, paraugu ņemšanas dienā, intervējot ganāmpulka īpašnieku, ganāmpulka pārvaldnieku vai atbildīgo veterinārārstu. Anketu aizpildīja vai nu ar pētnieka palīdzību, vai arī fizisko anketu nodeva respondentam uz vietas, lai to aizpildītu pēc paraugu ņemšanas. Pēc anketas aizpildīšanas katram ganāmpulkam tika piešķirts individuāls identifikācijas numurs, lai nodrošinātu anonimitāti. Anketa bija iedalīta piecās galvenajās sadaļās: Vispārīga informācija par ganāmpulku: informācija par ganāmpulku (ganāmpulka lielums, atrašanās vieta, pārvaldības veids); Teļu turēšana: informācija par atnešanās vietu, atdalīšanu no govīm, pirmiena uzņemšanu, teļu grupēšanu un teļu caurejas gadījumiem; Pastaigu zonas un ganības: pastaigu zona un ganību sezonas; Barības un ganāmpulka pārvaldība: ganību mēsļu pārvaldība, iekārtu tīrīšana, attārpošana, grauzēju kontrole,

personāla higiēna un bioloģiskā drošība; Ganāmpulka apkārtnē: savvaļas un mājdzīvnieku klātbūtne un attālums no tuvējām saimniecībām un ūdenstilpēm.

Anketa par mājas suņu un savvaļas suņu dzimtas dzīvniekiem.

Anketa, kas paredzēta suņu īpašniekiem, bija sadalīta sešās sadaļās un to iesniedza suņu īpašnieki, iesūtot paraugus laboratorijā. Iekļautās sadaļas bija: vispārīga informācija (vecums, šķirne, dzimums, dzīvesvieta); ikdienas aktivitātes un to biežums (pastaigas pilsētā, mežā, pļavā, parkā); informācija par caureju; informācija par attārpošanu (lietotie medikamenti, biežums); barība (neapstrādāta, rūpnieciski ražota, medījuma gaļa, mājās gatavota); kontakts ar citiem dzīvniekiem (ieskaitot lauksaimniecības dzīvniekus).

Mednieki kopā ar rudo lapsu un jenotsuņu līkiem iesniedza aizpildītu parauga iesniegšanas veidlapu, kurā bija norādīta informācija par dzīvnieku vecumu (ja tas bija reģistrēts) un medību pagastu. Vecumu noteica mednieki, pamatojoties uz dzīvnieku zobu nodilumu.

Datu analīze

Aprakstošā statistika.

Dati tika analizēti, izmantojot OpenEpi (Dean et al., 2015) un RStudio ar R versiju 4.4.2. (<https://www.r-project.org/>). OpenEpi Mid-p Exact metode tika izmantota, lai aprēķinātu 95 % ticamības intervālus (TI) *G. duodenalis* pozitīvo dzīvnieku izplatībai un proporcijām, pieņemot binominālo sadalījumu. Lai aprēķinātu statistisko nozīmīgumu, tika piemērots divpusējais Fišera eksaktā tests, un $p < 0,05$ tika uzskatīts par statistiski nozīmīgu.

Dzīvnieks tika klasificēts kā invadēts ar *G. duodenalis*, ja analizētajos paraugos tika atklāta vismaz viena cista. Attiecībā uz govīm, ganāmpulks tika uzskatīts par pozitīvu, ja vismaz viens dzīvnieks izdalīja *G. duodenalis* cistas.

Sastopamība (1.) tika aprēķināta šādi:

$$\left(\frac{A}{B}\right) * 100 = X \quad (1.)$$

kur A – pozitīvie paraugi;
 B – kopējais analizēto paraugu skaits;
 X – izplatība, %.

Kopējais cistu skaits vienā gramā (CPG) (2.) fekāliju tika aprēķināts saskaņā ar Maddox-Hyttel et al., (2016) šādi:

$$C * 200 = x \quad (2.)$$

kur C – kopējais cistu skaits 10 μ l;
 x = CPG.

Vidējais aritmētiskais un mediānas CPG tika aprēķināti vecuma grupām, ganāmpulku lielumiem un dzimumiem govīm. Suņiem vidējie un mediānas tika aprēķināti CPG vecuma grupām, šķirnēm un dzimumiem. Rudajām lapsām un jenotsuņiem CPG tika analizēti vecuma grupas.

Lai pārbaudītu saistību starp kategoriskām mainīgajām, piemēram, vecuma grupām, dzimumiem, ganāmpulku lielumiem, šķirnēm un *G. duodenalis* invāzijas statusu, tika izmantots Hī-kvadrāta tests (χ^2). CPG atšķirības starp grupām tika analizētas, izmantojot Kruskala-Vallisa H testu, jo CPG vērtības nebija normāli sadalītas. CPG normālums katrā grupā tika novērtēts, izmantojot Šapiro-Vilka testu, kur $p < 0,05$ norāda novirzi no normāla sadalījuma. Ja Kruskala-Vallisa H tests norādīja nozīmīgas atšķirības starp salīdzinātajām grupām, tika veikts pāru salīdzinājums, izmantojot Vilksona tests vai Danna testu ar Bonferoni korekciju, lai koriģētu vairākkārtējos testus. Tika aprēķināts Pīrsona korelācijas koeficients, lai novērtētu saistību starp vides faktoriem un *G. duodenalis* izplatību.

Govju gadījumā ganāmpulki pēc datu vākšanas tika iedalīti četrās lieluma grupās (<150, 151–250, 251–500 un >500), lai nodrošinātu nozīmīgu statistisku salīdzinājumu, vienlaikus saglabājot ganāmpulku līdzsvarotu sadalījumu starp grupām.

Suņiem pēc datu vākšanas vecums tika iedalīts četrās vecuma grupās: kucēni (līdz 2 gadiem), pieaugušie (2–7 gadi), seniori (8–11 gadi) un geriatriski suņi (virs 12 gadiem), ievērojot Harvey (2021) klasifikāciju.

Rudajām lapsām un jenotsuņiem vecums tika iedalīts noteiktās vecuma grupās. Rudās lapsas tika iedalītas piecās vecuma grupās: 1–1,5 gadi, 2–2,5 gadi, 3–3,5 gadi, 4 un 5 gadi, bet jenotsuņi – četrās grupās: 1–1,5 gadi, 2–2,5 gadi, 3–3,5 gadi un 4,5 gadi.

Paraugu ņemšanas vietu un *Giardia duodenalis* izplatības kartēšana, norādot attālumu no virszemes ūdeņiem.

Paraugu ņemšanas un pozitīvo dzīvnieku ģeogrāfiskās izplatības vizualizācijai tika izmantotas programmas R un Rstudio versija 4.2.2. (<https://www.r-project.org/>) ar pakotnēm “sf”, “ggplot2” un “rnatualearth”. Par katru paraugu ņemšanas dzīvnieku bija pieejamas ģeogrāfiskās koordinātes (platumus un garums). Katrai sugu grupai tika izveidotas atsevišķas kartes, lai attēlotu pozitīvos un negatīvos dzīvniekus un *G. duodenalis* kopuma izplatību.

Lai kartografētu A-pozitīvo dzīvnieku tuvumu ūdenstilpēm (<500 m, 500–1000 m un 1000–1500 m), kartogrāfiskie izvades dati tika iegūti, izmantojot Latvijas TM projicēto koordinātu atsauces sistēmu (EPSG:3059) (Latvijas Ģeotelpiskās informācijas aģentūra, 2022). Virszemes ūdens objekti (upes, ezeri, dīķi) tika iegūti no Humanitarian OpenStreetMap Team (HOTOSM) datu kopas par Latviju (HOTOSM, 2023).

Faktoru analīze govīm, mājas suņiem, rudajām lapsām un jenotsuņiem.

Govīm potenciālie riska un aizsargājošie faktori, kas saistīti ar *G. duodenalis*, tika analizēti, izmantojot vispārinātas lineārās jauktās modeļus (GLMM), kas pielāgoti, izmantojot maksimālo varbūtību (Laplace aproksimācija), izmantojot R un RStudio versiju 4.2.2. (<https://www.r-project.org/>). Modeļu pielāgošanai tika izmantots “lme4” pakete (Bates et al., 2014), piemērojot “glmer” funkciju ar binominālo ģimeni, ieskaitot ganāmpulka identifikācijas numurus (FarmID) kā nejaušu mainīgo, lai ņemtu vērā klasterizāciju ganāmpulkos. Visi faktori tika novērtēti ganāmpulka līmenī, izņemot govju vecumu, dzimumu, šķirni un caurejas klātbūtni (ir/nav), kas tika novērtēti individuāli. Tika paredzēts, ka vecums būs nozīmīgs ietekmi modificējošs faktors, tādēļ tas tika iekļauts visos modeļos. GLMM analīzē tika iekļauti tikai govīs, kas bija jaunākas par 1500 dienām, jo *Giardia* pozitīvo dzīvnieku skaits vecāko govju vidū bija pārāk mazs, un modeļi, kuros tie tika iekļauti, nekonverģēja vai deva nestabilus aprēķinus.

Lai analizētu faktoros, kas saistīti ar *G. duodenalis* mājdzīvniekiem, rudajām lapsām un jenotsuņiem, tika veikta vispārināta lineārā modelēšana (GLM), izmantojot binominālo ģimeni.

Visiem dzīvniekiem mainīgie, kas sākotnējos modeļos bija nozīmīgi ($0,05 \leq p < 0,1$), tika tālāk analizēti attiecīgi ar GLMM un GLM. Galīgie modeļi tika optimizēti, pakāpeniski izslēdzot mainīgos, nodrošinot, ka šis process nepalielina Akaike informācijas kritēriju (AIC). Multikolinearitāte tika pārbaudīta, izmantojot “vif” funkciju no “car” paketes, un tajā tika iekļauti faktori, kas šķita nozīmīgi vienfaktoru analīzēs un bija bioloģiski izkaidrojami. Modeļa atbilstība tika novērtēta, izmantojot Tjur diskriminācijas koeficientu (Tjur R^2 , kas aprēķināts ar “performance” paketi).

Koriģēto *Giardia duodenalis* cistu izdalīšanās rādītāju aprēķināšana govīm un suņu dzimtas dzīvniekiem.

Lai novērtētu potenciālo vides piesārņojumu ar *G. duodenalis* no katras dzīvnieku sugas, tika aprēķinātas koriģētās cistu izdalīšanās vērtības. To veica, reizinot izdalīto cistu intensitātes mediānu ar vidējo fekāliju masu vienā defekācijas reizē (gramos) un vidējo defekācijas reižu skaitu dienā. Mediānās invāzijas intensitātes vērtības tika izmantotas no *G. duodenalis* pozitīviem dzīvniekiem, lai samazinātu ekstremālu noviržu ietekmi un labāk atspoguļotu cistu izdalīšanās centrālo tendenci. Vidējais fekāliju svars un izkārnīšanās biežums katrai sugai ir parādīts 8. tabulā.

8. tabula. Vidējā fekāliju svars vienā defekācijas reizē un vidējais defekācijas reižu skaits dienā govīm, mājas suņiem un rudajām lapsām

Dzīvnieku sugas	Vidējais fekāliju svars (g) vienā defekācijas reizē	Vidējais defekācijas reižu skaits dienā	Atsauce
Govis	1900	14	Aland et al., 2002
Suņi	150	2	Wright et al., 2009
Rudās lapsas	120	6,4	Ferreras et al., 2019

Tā kā par jenotsuņiem nebija pieejama informācija, tika pieņemts, ka defekācijas reižu skaits un fekāliju masa ir līdzvērtīgi rudajām lapsām, ņemot vērā ekoloģiskās līdzības. Tika pieņemts, ka fekāliju daudzums un defekācijas biežums ir vienāds visām vecuma grupām un šķirnēm, katrai sugai, lai uzsvērtu vispārējo vides piesārņojumu, nevis individuālas atšķirības.

REZULTĀTI UN DISKUSIJA

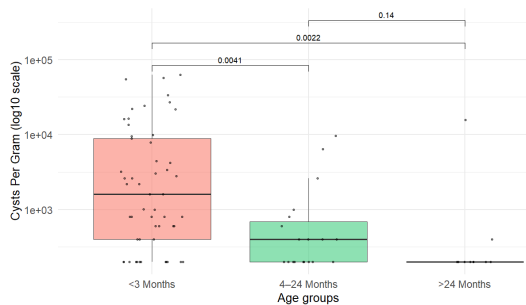
Giardia duodenalis izplatība, cistu izdalīšanās intensitāte, ģenētiskā daudzveidība, un to izplatību ietekmējošie faktori govīm Latvijā

Kopumā *G. duodenalis* izplatība govīm bija 8,4 % (95 % TI: 6,8–10,3), kas bija zemāka nekā iepriekš ziņots Eiropā, kur izplatība govīm sasniedza 31,1 % (Taghipour et al., 2022). Pētījumos, kuros *G. duodenalis* cistu noteikšanai tika izmantota imunofluorescences metode, tika novērota augstāka sastopamība govīm. Piemēram, Dānijā *G. duodenalis* izplatība bija 43,6 % (n = 1150), bet Grieķijā – 41,3 % (n = 254) (Maddox-Hyttel et al., 2006; Ligda et al., 2020). Pētījumos, kuros izmantotas citas *G. duodenalis* diagnostikas metodes, piemēram, ELISAs, iegūtā izplatība bija no 32,2 % (n = 503) Itālijā līdz 54,9 % (n = 556) Apvienotajā Karalistē (Geurden et al., 2012). Imunofluorescences mikroskopija tiek uzskatīta par vienu no precīzākajām metodēm *G. duodenalis* cistu noteikšanai fekālijās un citos bioloģiskos materiālos, jo tai ir gan augsta jutība, gan specifiskums (Gottfred-Rasmussen et al., 2016; Aziz et al., 2024).

G. duodenalis izplatība govju ganāmpulkos sasniedza 84,4 % (27/32; 95 % TI: 67,8–93,6), 100,0 % izplatība tika novērota ganāmpulkos ar 251–500 un vairāk nekā 501 govīm (7/7; 95 % TI: 59,6–100,0; 8/8; attiecīgi 62,8–100,0), kam sekoja 90,0 % (9/10; 95 % TI: 53,1–100,0) ganāmpulkos ar mazāk nekā 150 govīm un zemākā izplatība 42,9 % (3/7; 95 % TI: 15,7–75,0) novērota ganāmpulkos ar 151–250 govīm. Līdzīga izplatība ganāmpulkos tika novērota Spānijā (96,6 %; n = 60), Vācijā (100,0 %; n = 31) un Apvienotajā Karalistē (100,0 %; n = 31) (Castro-Hermida et al., 2007; Geurden et al., 2012). Mūsu

pētījumā netika novērotas būtiskas atšķirības ($p > 0,05$) starp ganāmpulka lielumu, *G. duodenalis* izplatību un izdalīto cistu intensitāti.

Augstākā *G. duodenalis* izplatība tika novērota govīm no 0–3 mēnešus veco govju grupas (16,4 %; 53/324; 95 % TI: 12,7–20,8), kam sekoja govīs no 4–24 mēnešus govju grupa (6,8 %; 19/281; 95 % TI: 4,3–10,4) un govīm, vecākas par 24 mēnešiem (2,3 %; 10/368; 95 % TI: 1,4–5,0). Augstākais vidējais izdalīto cistu intensitāte un augstākais diarejas īpatsvars *Giardia* pozitīvām govīm tika novērots arī teļiem no 0–3 mēnešus vecās govju grupas (8109 CPG), salīdzinot ar govīm no 4–24 mēnešus vecuma grupas (1284 CPG) un govīm vecākām par 24 mēnešiem (1780 CPG). Tika novērota būtiskas atšķirības starp vecuma grupām un *Giardia* izplatību ($\chi^2 = 43,2$, $p < 0,05$), bet ne starp govju vecuma grupām un izdalīto *G. duodenalis* cistu intensitāti ($p > 0,05$). Augstākā *Giardia* cistu izdalīšanās intensitāte ar visplašāko izdalīto cistu intensitātes diapazonu tika novērota arī govīm, kas ir jaunākas par trim mēnešiem (5. attēls). Izdalītais *G. duodenalis* cistu daudzums būtiski atšķīrās starp govju vecuma grupām ($p = 0,0005$) un vislielākās atšķirības novērotas starp teļiem, kas jaunāki par 3 mēnešiem, un dzīvniekiem no pārējām divām grupām: 4–24 mēnešus un vecākiem par 24 mēnešiem (5. attēls).



5. att. *Giardia duodenalis* izdalīto cistu intensitātes (CPG) salīdzinājums starp dažādām vecuma grupām

Melna horizontāla līnija katrā lodziņā attēlo vidējo intensitāti katrā grupā

Starp dzimumiem, vīrišķās kārtas govīm *G. duodenalis* sastopamība bija 1,4 reizes augstāka nekā sievišķās kārtas govīm. Vīrišķās kārtas govīm, salīdzinot ar sievišķās kārtas govīm, tika novērota arī augstāka diarejas proporcija starp *G. duodenalis* pozitīvajām govīm. Vīrišķās kārtas govīm tika novērota arī augstāka izdalīto cistu mediāna un vidējā vērtība nekā sievišķās kārtas govīm (9. tabula).

9. tabula. *Giardia duodenalis* izplatība un izdalīto cistu intensitāte dažāda dzimuma govīm

Dzimums	Kopējais izmeklētais govju skaits	Izplatība (95 % TI)*	Pozitīvās govīs ar diareju (95 % TI)	Vidējā intensitāte (CPG)** (min.–maks.)	Mediānā Intensitāte (CPG)
Sievišķais	853	8,0 ^a (6,3–9,9)	14,5 (8,1–24,3)	5279 ^b (200–56 600)	600
Vīrišķais	120	11,7 (6,7–11,8)	18,4 (9,7–31,6)	8071 (200–62 600)	2200

*TI: ticamības intervāls; **CPG: cistas vienā gramā ^aatšķirības *G. duodenalis* izplatībā starp govju dzimumiem nebija būtiskas ($p > 0,05$); ^batšķirības *G. duodenalis* izdalīšanā starp govju dzimumiem nebija būtiskas ($p > 0,05$).

Netika novērota būtiskas atšķirības starp *G. duodenalis* izplatību un dzimumu ($\chi^2 = 1,4$, $p = 2,3$) vai cistu izdalīšanās intensitāti ($p = 0,07$) (9. tabula).

Sadalot govju vecuma grupas atbilstoši dzimumam, augstākā *G. duodenalis* izplatība tika novērota 0–3 mēnešus veciem vīrišķās kārtas govīm salīdzinot ar sievišķās kārtas govīm, tajā pašā vecuma grupā (10. tabula) un 4–24 mēnešus vecām govīm. Augstākā, vidējā cistu intensitāte tika novērota 0–3 mēnešus vīrišķās kārtas grupā, salīdzinot ar sievišķās kārtas dzīvniekiem tajā pašā vecuma grupā, bet 4–24 mēnešus vecām sievišķās kārtas govīm, bija augstāka vidējā izdalīto cistu intensitāte nekā vīrišķās kārtas govīm (10. tabula).

10. tabula. *Giardia duodenalis* izplatība dažādās vecuma un dzimuma grupās govīm

Dzimums	Sievišķais			Vīrišķais		
Vecuma grupa	Kopējais izmeklēto dzīvnieku skaits/ izplatība (95 % TI)*	Pozitīvās govīs ar diareju (95 % TI)	Vidējā intensitāte (CPG)** (Min–Maks)	Kopējais izmeklēto dzīvnieku skaits/ izplatība (95 % TI)	Pozitīvās govīs ar diareju (95 % TI)	Vidējā intensitāte (CPG) (Min–Maks)
0–3 mēneši	219/18,3 ^a (13,7–23,5)	12,7 (6,3–23,4)	7930 ^c (200–56 600)	105/12,4 ^a (7,5–20,2)	18,4 (9,7–31,6)	8661 ^c (200–62600)
4–24 mēneši	264/7,3 ^b (4,3–10,6)	23,1 (7,5–50,9)	1333 (200–9600)	12/8,3 ^b (0,0–37,5)	0,0	400 (400–400)
> 24 mēneši	370/2,7 (1,4–5,0)	0,0	1780 (200–15)	0	0	NA ***

Dzimums	Sievīškais			Vīriškais		
Vecuma grupa	Kopējais izmeklēto dzīvnieku skaits/izplatība (95 % TI)*	Pozitīvās govīs ar diareju (95 % TI)	Vidējā intensitāte (CPG)** (Min–Maks)	Kopējais izmeklēto dzīvnieku skaits/izplatība (95 % TI)	Pozitīvās govīs ar diareju (95 % TI)	Vidējā intensitāte (CPG) (Min–Maks)
			800)			

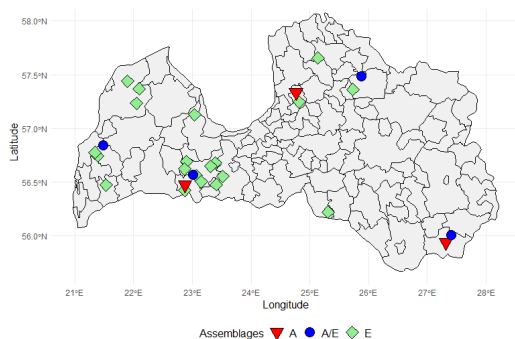
*TI: ticamības intervāls; **CPG: cistas vienā gramā; ***NA: nav pieejams; ^anetika novērotas būtiskas atšķirības starp *G. duodenalis* izplatību 0–3 mēnešus vecām un dzimumu ($p > 0,05$); ^bnetika novērotas būtiskas atšķirības starp *G. duodenalis* izplatību 4–24 mēnešus vecām govīm un dzimumu ($p > 0,05$); ^cnetika novērota būtiskas atšķirība starp intensitāti un dzimumu 0–3 mēnešus vecām govīm ($p > 0,05$).

Lai gan augstākā sastopamība un augstāka vidējā intensitāte tika novērota 0–3 mēnešus veciem vīrišķās kārtas govīm, būtiskas atšķirības netika novērotas ($p = 0,2$). Līdzīgi kā 0–3 mēnešus veco govju grupā, arī govīm 4–24 mēnešus vecuma grupā netika novērotas būtiskas atšķirības parazīta sastopamībā starp abu dzimumu dzīvniekiem ($p = 0,6$) (10. tabula). Govju dzimuma predispozīcija attiecībā uz *G. duodenalis* ir pētīta jau iepriekš, taču rezultāti bija pretrunīgi. Daži pētījumi neuzrāda būtiskas atšķirības sastopamībā starp vīrišķās un sievišķās kārtas govīm ($p > 0,05$) (Oh et al., 2021; Onder et al., 2020). Oh et al. (2021) pētījumā, kurā tika salīdzināta *G. duodenalis* izplatība starp teļiem, kas jaunāki par 12 nedēļām, netika novērotas būtiskas atšķirības starp vīrišķās (5,7 %; 23/402) un sievišķās (5,6 %; 21/373) kārtas teļiem. Līdzīgus rezultātus novēroja Onder et al. (2020), kurš nekonstatēja būtiskas atšķirības starp vīrišķās (30,2 %; 90/298) un sievišķās (30,3 %; 46/152) kārtas jauniem teļiem un pieaugušām govīm. Tomēr trīs dažādos pētījumos tika novērotas būtiskas atšķirības starp govju dzimumiem. Vienā pētījumā visās vecuma grupās vīrišķās kārtas govīm bija ievērojami augstāka (35,3 %; 36/102) žiardijas izplatība salīdzinājumā ar sievišķās kārtas govīm (25,6 %; 108/422) ($p > 0,05$) (Heng et al., 2022). Atšķirības starp dzimumiem tika novērotas govīm vecumā no 10 līdz 150 dienām, kur visām pārbaudītajām sievišķās kārtas govīm rezultāti bija negatīvi (Baazizi et al., 2025), bet citā pētījumā *G. duodenalis* izplatība vīrišķās kārtas govīm bija 20,0 %, un rezultāts bija būtiski atšķirīgs ($p < 0,05$) (Heng et al., 2022). Potenciāli spēcīgāka imūnā reakcija uz patogēniem piemīt pirmspubertātes vecuma telēm (Carroll et al., 2015), kas varētu ietekmēt arī imūnabildi uz *G. duodenalis* invāziju.

G. duodenalis izplatība govīm pa gada mēnešiem bija no 0 % augustā līdz 13,1 % martā. Tika novērota būtiska negatīva saistība starp vidējo mēneša temperatūru un *G. duodenalis* izplatību ($r = -0,9$, $p = 0,004$). Netika konstatēta būtiska saistība starp mēneša nokrišņu daudzumu ($r = -0,2$, $p = 0,7$) vai mitrumu ($r = 0,6$, $p = 0,16$). Tas varētu būt saistīts ar samazinātu cistu dzīvotspēju vidē siltākajos mēnešos un atbilst iepriekšējiem pētījumiem, kas liecina, ka *G.*

duodenalis cistu dzīvotspēja samazinās siltākajos mēnešos, jo cistas tiek pakļautas saules ultravioleto staru iedarbībai un paaugstinātai temperatūrai (Alum et al., 2013; Masina et al., 2019; Wang et al., 2023). Tomēr ir būtiski uzsvērt, ka atšķirības *G. duodenalis* izplatībā varētu būt saistītas ar mainīgo paraugu skaitu, kas tika savākts katru mēnesi. Neraugoties uz to, novērotā sezonālā tendence liecina par vides apstākļu potenciālo ietekmi uz *G. duodenalis* izplatību govīm.

Kopumā tika identificētas trīs *G. duodenalis* apakštipi. *G. duodenalis* E apakštīps konstatēts 20 govju ganāmpulkos (74,1 %, 95 % TI: 55,1–87,1), *G. duodenalis* A un E apakštipi reizē konstatēti četros ganāmpulkos (14,8 %, 95 % TI: 5,3–33,1), bet *G. duodenalis* A apakštīps tika atrasts trīs ganāmpulkos (12,0 %, 95 % TI: 3,3–30,8). *G. duodenalis* apakštipu izplatība ir attēlota 6. attēlā.



6. att. *Giardia duodenalis* apakštipu izplatība govju ganāmpulkos Latvijā

Iepriekšējos pētījumos no vairākām valstīm *G. duodenalis* jauktie A un E apakštipi ganāmpulkos bija izplatīti Francijā, Vācijā, Itālijā un Apvienotajā Karalistē (Geurden et al., 2012). *G. duodenalis* A un E apakštipu jaukto invāziju izplatība ganāmpulkos svārstījās no 21,0 % (3/14) Itālijā līdz 44,0 % (4/9) Apvienotajā Karalistē (Geurden et al., 2012). Mūsu pētījumā visās vecuma grupās un dažāda lieluma ganāmpulkos dominēja *G. duodenalis* E apakštīps, kas ir plaši izplatīts visā Eiropā (Hamnes et al., 2006; Langkjær et al., 2007; Geurden et al., 2012). *G. duodenalis* E apakštīps ir govīm specifisks un var būt sastopams visos vecumos, bet biežāk pieaugušām govīm (Castro-Hermida et al., 2011; Minetti et al., 2013). *G. duodenalis* E apakštīps veicina pazeminātu imunitāti govīm, tādējādi pagarinot slimības hronisko gaitu (Dreesen et al., 2012). Lai gan *G. duodenalis* E apakštīps tiek uzskatīts par govīm specifisku, tas ir bijis izolēts no cilvēkiem, galvenokārt lauku apgabalos (Abdel-Moein & Saeed, 2016; Fantinatti et al., 2016; Zahedi et al., 2017; Garcia et al., 2021). Brazīlijā *G. duodenalis* E apakštīps tika konstatēts trim pirmsskolas vecuma bērniem no nabadzīgā rajona (Fantinatti et al., 2016). Austrālijā seši cilvēki bija pozitīvi uz *G. duodenalis* E apakštipu, un visi izolāti bija identiski ar *G. duodenalis* E apakštipam (Zahedi et al., 2017). Ēģiptē *G. duodenalis* E apakštīps tika

identificēts 25 bērniem pēc cieša kontakta ar E apakštīpa pozitīvām govīm (Abdel-Moein & Saeed, 2016). Dažiem no šiem bērniem novēroja gastrointestinālos traucējumus (Abdel-Moein & Saeed, 2016).

Zoonotiskais *G. duodenalis* A apakštīps tika konstatēts septiņām govīm (11,3 %, 95 % TI: 5,3–21,8), bet E apakštīps tika konstatēts 55 govīm (88,7 %, 95 % TI: 78,2–94). A apakštīps tika identificēts piecām govīm no 4–24 mēnešu vecuma grupas un divām govīm no >24 mēnešu vecuma grupas, savukārt E apakštīps tika konstatēts visās vecuma grupās. Govīm, no 4–24 mēnešu vecuma grupas, kurām konstatēja A apakštīpu, bija augsta invāzijas intensitāte (8000 CPG), salīdzinot ar govīm, kas bija vecākas par 24 mēnešiem (600 CPG). Ar *G. duodenalis* E apakštīpu invadētie teļi, kas bija jaunāki par trim mēnešiem, izdalīja vislielāko cistu skaitu (2400 CPG), salīdzinot ar abām pārējām vecuma grupām (attiecīgi 300 CPG un 240 CPG). Zoonotiskais *G. duodenalis* A apakštīps tika konstatēts galvenokārt govīm, kas vecākas par četriem mēnešiem. Citi pētījumi liecina, ka *G. duodenalis* vairāk tika novērots jaunākām govīm (Trout et al., 2005; Trout et al., 2006; Geurden et al., 2012). Skotijā, Spānijā un Apvienotajā Karalistē *G. duodenalis* A apakštīps tika konstatēts visu vecumu govīm (Castro-Hermida et al., 2009; Minetti et al., 2014; Bartley et al., 2019). Līdz šim, govīm nav konstatēta saistība starp diareju vai jebkuriem citiem klīniskiem simptomiem un *G. duodenalis* A apakštīpu (Castro-Hermida et al., 2009; Minetti et al., 2014; Bartley et al., 2019). Līdzīgi kā ar *G. duodenalis* E apakštīpu, ir publicēti daži ziņojumi par *G. duodenalis* A apakštīpu cilvēkiem, kuri invadējušies no govīm. Jaunzēlandē cilvēkiem un govīm tika konstatēts viens *G. duodenalis* A apakštīps (Garcia et al., 2021). Tā kā *G. duodenalis* A apakštīps ir vairāk novērots govīm Eiropā, invadētie dzīvnieki varētu būt potenciāls cilvēku apdraudējuma avots (Geurden et al., 2008; Geurden et al., 2012; Minetti et al., 2014; Bartley et al., 2019; Dixon et al., 2011). Šajā pētījumā DNS amplifikācija bija veiksmīga 75,6 % (62/82) no pozitīvo govju fekāliju paraugiem, kas varētu būt saistīts ar zemu *G. duodenalis* cistu skaitu un līdz ar to zemu iegūto DNS koncentrāciju, kā arī ar inhibitoru, piemēram, lipīdu vai žults sāļu, klātbūtni, kas varētu ietekmēt RFLP darbību (Schrader et al., 2012).

Potenciālie individuālie un ganāmpulka faktori, kas saistīti ar *G. duodenalis*, tika analizēti, izmantojot divu mainīgo vispārinātu lineāro jaukto modelēšanu, iekļaujot vecumu dienās ("Age") kā fiksētu efektu un ganāmpulka identifikācijas numuru ("HerdID") kā nejaušu efektu mainīgo. Sākotnējos vienfaktoru modeļos septiņi faktori bija statistiski būtiski ($OR < 1$; $p < 0,05$), kas samazināja *G. duodenalis* invāzijas varbūtību: vecums (OR 0,1; $p < 0,01$); ganību sezonas sākums: maijs (OR 0,4; $p = 0,08$); nav ganību (OR 0,3; $p = 0,03$); mēslu uzglabāšana atklātā vietā (OR 0,6; $p = 0,04$); grauzēju apkarošana: indes (OR 0,7; $p = 0,02$); apavu maiņa apmeklētājiem (OR 0,6; $p = 0,05$); mājdzīvnieki: kaķis (OR 0,6; $p = 0,03$).

Vecums bija kā aizsargājošs faktors pret *G. duodenalis* govīm, ievērojami samazinot invāzijas iespējamību vecākām govīm ($p < 0,05$). Šis rezultāts bija aprakstīts iepriekš, kad 22 līdz 150 reizes lielāks risks izdalīt *G. duodenalis* cistas

tika novērots teļiem vecumā no 9 līdz 18 dienām un vecākiem par 18 dienām (Gow & Waldner, 2006). Maddox-Hytell et al. (2006) ziņoja, ka *G. duodenalis* cistu izdalīšanas intensitāte paaugstinājās teļiem pirmajā dzīves mēnesī. Jau četrus dienu vecumā teļi var izdalīt *G. duodenalis*, bet teļiem vecumā no piecām līdz desmit nedēļām bija lielāka varbūtība periodiski izdalīt *G. duodenalis* cistas (O'Handley et al., 1997; O'Handley et al., 1999; Ralston et al., 2022). Parasti teļi ir vairāk pakļauti žiardiazes klīniskajām izpausmēm, kuru galvenie simptomi bija periodiska diareja un svara zudums (O'Handley et al., 1999; Geurden et al., 2010). Kā minēts iepriekš, tiek pieņemts, ka teļiem adaptīvā imunitāte žiardiazes laikā ir nepilnīga, tādēļ notiek atkārtota invadēšanās (Dreesen et al., 2012). Eksperimentāli invadēti teļi *G. duodenalis* cistas izdalīja līdz pat 100 dienām, lēnām veicinot šūnu un humorālās imunitātes attīstību, kas izskaidro slimības hronisko izpausmi (Grit et al., 2014). *G. duodenalis* izplatības un cistu intensitātes samazināšanās mūsu pētījumā kopā ar govju vecumu uzsver jauno teļu paaugstināto uzņēmību pret *G. duodenalis*.

GLMM modeļos parādījās divi šķietami pretrunīgi aizsargājoši faktori – ganību sezona, kas sākas maijā, un pilnīga ganību neesamība. Abi šie faktori, šķiet, samazināja žiardiazes iespējamību govīm, liecinot, ka izšķiroša nozīme var būt ganību uzsākšanas laikam un pārvaldībai. Viens no iespējamajiem izskaidrojumiem varētu būt mitra augsne un zemāka ganību barības kvalitāte agrā pavasarī, kas var izraisīt imūnsistēmas samazināšanos vitamīna B12, folijskābes un dzelzs uzņemšanas samazināšanās dēļ, kā arī iespēja uzņemt citus endoparazītus (Wade et al., 2000; Lejune et al., 2010; McCarthy et al., 2022). Ganību sezonas uzsākšanas atlikšana līdz maijam varētu nodrošināt sausākus vides apstākļus un samazināt saskari ar dubļiem un stāvošu ūdeni, kas var samazināt žiardiju cistu daudzumu vidē (Wade et al., 2000). Kad govīs tiek turētas tikai novietnē, barošana bieži vien ir nemainīga un var nodrošināt sabalansētu uzturu, tādējādi palielinot imunitāti, taču, ja ir liels dzīvnieku blīvums, palielinās *G. duodenalis* tiešas pārnesšanas iespēja (Wade et al., 2000; Dixon, 2021).

Kūtsmēslu turēšana atklātā bedrē vai kaudzēs pie novietnēm, mūsu pētījumā samazināja *G. duodenalis* izplatību govīm. Kūtsmēslu turēšana kaudzē vai atklātā bedrē, kas ļauj notecēt ūdenim pie ganāmpulka telpām, nav bioloģiski izskaidrojama, jo tas nevarētu samazināt slimības izplatību apmeklētajos ganāmpulkos. Tā kā *G. duodenalis* cistas ir vidē izturīgas, ir jāveic atbilstoši pasākumi kūtsmēslu apsaimniekošanā (Millner et al., 2014; Vermeulen et al., 2017). Lai atklātā tipa kūtsmēslu kaudzēs varētu efektīvi iznīcināt parazītu un citus patogēnus, iekšējai temperatūrai ir jāsasniedz vismaz 60 °C (Spencer & Guan, 2004). Taču, to malās šādu temperatūru nevar nodrošināt tiešas saskares ar ārējo vidi dēļ (Millner et al., 2014). Ja kūtsmēslus uzglabā lagūnās, tad tas ne tikai samazina kūtsmēslu un virču noplūdes risku dabā, bet arī saskari ar mehāniskajiem vektoriem, kā arī potenciālo ūdens vai pārtikas piesārņojumu, un līdz ar to, risku cilvēkiem (Nicholson et al., 2004; Millner et al., 2014). Visos apmeklētajos ganāmpulkos govju kūtsmēslus izmantoja lauku apstrādei, pat ja

kūtsmēsli netika uzglabāti lagūnā, kas varētu vēl vairāk palielināt *G. duodenalis* izraisīto vides piesārņojuma risku. Lietus laikā, noteces no atvērtām tipa kūtsmēsļu bedrēm vai kaudzēm, var pārnest žiardijas cistas uz augsni vai virszemes ūdenstilpēm (Alhusen et al., 2011; Rochelle-Newall et al., 2019). Aukstā un mitrā periodā *G. duodenalis* cistu koncentrācija virszemes ūdeņos var palielināties trīskārtīgi salīdzinājumā ar sausiem apstākļiem, un ūdens piesārņojums lietus laikā ir saistīts ar lielāku cilvēku žiardiazes saslimstību (Alhusen et al., 2011; Rochelle-Newall et al., 2019). Tāpēc, lai samazinātu vides piesārņojumu no govju ganāmpulkiem, ir jāpievērš uzmanība tam, kā un kur tiek izmantots mēslojums un to uzglabāšanas apstākļi.

Graudzēju kontrole, izmantojot indi, bija kā aizsargājošs faktors pret *G. duodenalis* govīm. Visi septiņi *G. duodenalis* apakštipi ir iepriekš konstatēti graudzējiem, no kuriem *G. duodenalis* A apakštīpi, īpaši AI un AII tika konstatēti no 4,9 % (3/61) līdz 87 % (53/61) no izmeklētajiem dzīvniekiem (Li et al., 2023). Turklāt kaķu klātbūtne govju ganāmpulkos, arī samazināja *G. duodenalis* izplatību govīm šajā pētījumā, kas iespējams ir saistīts ar graudzēju kontroli. Šis rezultāts tikai uzsver, ka graudzēju kontrole var būt kā daļa no efektīvas ganāmpulka pārvaldības stratēģijas, lai potenciāli samazinātu patogēnu pārnesi. Taču, mājdzīvnieku neierobežota piekļuve ganāmpulkam var arī radīt invāzijas risku, jo tie var pārnest patogēnus, tostarp *G. duodenalis*, no vides tieši uz govīm, vai piesārņot to barību vai ūdeni (Wells et al., 2002; Sarrazin et al., 2014).

Visbeidzot, apģērba, īpaši apavu, maiņa, samazināja *G. duodenalis* invāzijas risku govju ganāmpulkos Latvijā. Apģērba maiņa ir svarīgs veids, kā ierobežot jaunu patogēnu ienešanu ganāmpulkā (Nøremark et al., 2016). *G. duodenalis* cistas ir izmērā mazas, to diametrs ir 7–10 μm; tādēļ ir svarīgi ieviest atbilstošus biodrošības protokolus, lai nepieļautu jaunu patogēnu iekļūšanu ganāmpulkā no citiem ganāmpulkiem, īpaši ar apaviem (Adam, 2001; Rashid et al., 2016). Itālijā veiktajā pētījumā tika novērots, ka, ja ir viens personāls dažādiem ganāmpulkiem, piemēram, veterinārārsti vai tehniķi, tas var palielināt slimību izplatību; bet, ja tiek ievēroti atbilstoši biodrošības protokoli, piemēram, apavu maiņa, slimību pārnesšanas varbūtība ievērojami samazinājās (Rossi et al., 2017). Maiņas apavu nodrošināšana veterinārārstiem un citām trešām personām ir nepieciešama, lai samazinātu *G. duodenalis* iekļūšanu ganāmpulkā un minimizētu pārnesšanas risku uz citiem ganāmpulkiem.

Papildus aizsargājošajiem faktoriem, seši faktori bija saistīti ar paaugstinātu varbūtību (OR > 1; $p < 0,05$) govīm invadēties ar *G. duodenalis*: Vai dzīvnieks var atstāt ganāmpulku: Jā (OR 1,8; $p = 0,04$); Teļš ar caureju tiek izolēts: Jā (OR 1,7; $p = 0,03$); Pastaigu zona: Jā (OR 1,7; $p = 0,02$); Dzeramais ūdens ganībās: Jā (OR 1,9, $p = 0,03$); Govīm ir pieejams virszemes ūdens ganībās: Jā (OR 1,6; $p = 0,09$); Mēsļu apstrāde: lagūna (OR 2,7; $p = 0,07$).

Pastaigu zonas (ganības) ap saimniecību un kustība ārpus telpām palielināja *G. duodenalis* risku. Lai gan dzīvnieku blīvuma samazināšana saimniecības telpās kopā ar vides faktoriem, piemēram, saules stariem, var samazināt *G. duodenalis* cistu blīvumu, pastaigu zonas reti, ja vispār, tiek tīrītas vai mainītas.

Tāpēc vidē, žiardiju cistu slodze pastaigu aplokos varētu būt lielāka nekā novietņu telpās, kuras tiek tīrītas biežāk (Boyer & Kuczynska, 2010; Wang et al., 2023).

Teļu izolēšana ar diareju kā riska faktors, visticamāk, bija saistīts ar to, ka dzīvnieki jau bija invadēti ar *G. duodenalis* vai tiem bija cita infekcioza vai neinfekcioza diareja. Šajā gadījumā novērotā saistība, visticamāk, atspoguļoja klīnisko pazīmju parādīšanās laiku, nevis izolācijas cēloņsakarīgo ietekmi, tādēļ tā tika izslēgta no turpmākas analīzes. Tomēr ir jāatzīmē, ka diareja ir viens no galvenajiem jauno teļu mirstības cēloņiem, un ir nepieciešami efektīvi pārvaldības protokoli, lai izolētu šos dzīvniekus (Cho & Yoon, 2014). Lai gan *G. duodenalis* reti izraisa akūtu diareju teļiem, ir daudzi citi patogēni, kas izraisa smagas kuņģa-zarnu trakta slimības, piemēram, *E. coli*, *Salmonella* spp., *Clostridium* spp., *Eimeria* spp., *Cryptosporidium* spp., rotavīruss, liellopu koronavīruss un liellopu vīrusu caurejas vīruss (Cho & Yoon, 2014). Turklāt slikta teļu kopšana un nepietiekama pirm piena izbarošana var izraisīt neinfekciozu caureju (Al Mawly et al., 2015).

Divi līdzīgi riska faktori paaugstināja invāzijas risku govīm – īpašnieka nodrošinātais dzeramais ūdens ganībās un piekļuve virszemes ūdenstilpēm ganībās. Šie rezultāti ir nozīmīgi, jo ūdens ir viens no galvenajiem *G. duodenalis* invāzijas ceļiem. Lai gan ir svarīgi nodrošināt tīru dzeramo ūdeni ganībās, ūdens tvertnes var netikt tīrītas pietiekami bieži vai rūpīgi, kas veicina *G. duodenalis* cistu un citu patogēnu saglabāšanos (Lewerin et al., 2019). Turpmākajos pētījumos, ja ganībās esošajiem govīm tiek nodrošināts dzeramais ūdens, jāpievērš uzmanība tam, vai ūdens tvertnes tiek tīrītas un vai govīs var piesārņot šīs tvertnes ar fekālijām.

Attiecībā uz atvērtām ūdenstilpēm ganībās, šis faktors atsaucas uz aizsargājošo faktoru – govīm nav ganību, kas varētu liecināt, ka vide varētu būt galvenais riska faktors, lai govīs invadētos ar *G. duodenalis*. Virszemes ūdenstilpes, piemēram, dīķi, grāvji, strauti, ezeri vai upes, var tikt piesārņoti ar tiešu izkārnīšanos ūdenī vai arī ar fekāliju noplūdi no ganībām (Castro-Hermida et al., 2009). Iepriekš veiktajos pētījumos, augsts *G. duodenalis* cistu daudzums tika konstatēts upē, kura atradās netālu no govju ganāmpulkiem, kur žiardijas cistu koncentrācija svārstījās no divām līdz 400 cistām uz litru ūdens (Castro-Hermida et al., 2009). Cits pētījums aprakstījis, ka 500 m attālumā no govju novietnes, tuvākajā virszemes ūdenstilpē tika novērots neliels *G. duodenalis* cistu daudzums (Budu-Amoako et al., 2012). Ir ziņots par vairākiem lieliem uzliesmojumiem cilvēkiem, kas peldējušies upēs vai strautos, bet neviens no tiem netika saistīts ar govīm, kā piesārņojuma avotu (Adams et al., 2016). *G. duodenalis* cistas var ilgu laiku izdzīvot ūdenī, īpaši vēsā vidē, un, ja ūdenstilpē ir augsta duļķainība vai organisko vielu saturs, tās var fiziski aizsargāt *G. duodenalis* cistas no UV starojuma (Wang et al., 2023). Nav pieejami izplatību modeļu dati par *Giardia* spp., bet *Cryptosporidium*, kas arī ir ūdens parazīts un bieži novērots govīm Latvijā, nogulsnešanās ātrums ūdenī ir 0,1 m dienā, kas

nodrošina lēnu nogulsnēšanos, un kopā ar upes plūsmu patogēns var nesasniegt upes sedimentu, bet tikt pārnestš uz tālāku vietu (Vermeulen et al., 2019).

***Giardia duodenalis* izplatība, cistu izdalīšanās intensitāte, ģenētiskā daudzveidība, un to izplatību ietekmējošos faktori mājās suņiem Latvijā**

Kopumā *G. duodenalis* izplatība mājās suņiem bija 10,7 % (95 % TI: 7,9–14,3), kur visaugstākā izplatība 13,0 % tika novērota Latgalē (3/23; 95 % CI: 4,5–32,1), kam sekoja Vidzeme (12,1 %; 25/206; 95 % TI: 8,4–17,3), Kurzeme (8,8 %; 5/57; 95 % TI: 3,8–18,9) un Zemgale (8,0 %; 7/87; 95 % TI: 4,0–15,7). Netika novērotas būtiskas atšķirības *G. duodenalis* izplatībā starp reģioniem ($p = 0,7$). Iepriekšējie pētījumi Eiropā liecina, ka vidējā *G. duodenalis* izplatība suņiem bija augstāka, un svārstījās no 14,6 % (38/260) Apvienotajā Karalistē līdz 28,5 % (80/281) Beļģijā (Epe et al., 2010). Jaunākā pētījumā, kas veikts suņiem Spānijā, *G. duodenalis* izplatība bija 48,6 % ($n = 252$) (Mateo et al., 2023). Šajā pētījumā tika novērotas reģionālās atšķirības *G. duodenalis* izplatībā. Tādi faktori kā virszemes ūdenstilpju blīvums, augsnes mitrums un kopējais nokrišņu daudzums, varētu palielināt *Giardia* cistu izdzīvošanu un izplatību Latvijā (Hadi et al., 2016). Līdzīgi kā mūsu pētījumā, reģionālās atšķirības *G. duodenalis* izplatībā arī tika novērotas suņiem Norvēģijā, kur suņiem Dienvidnorvēģijas reģionā izplatība bija augstāka (28,2 %; 11/39), neka Ziemeļnorvēģijā (3,5 %; 1/29) iespējamo suņu blīvuma vai klimata atšķirību dēļ starp reģioniem (Hamnes et al., 2007).

Augstākā *G. duodenalis* izplatība tika novērota kucēnu vecuma grupā, kam sekoja seniora vecuma un pieauguši suņi, savukārt zemākā izplatība tika novērota geriatrisko suņu vecuma grupā, kur tikai viens suns bija *G. duodenalis*-pozitīvs (11. tabula).

11. tabula. *Giardia duodenalis* izplatība un izdalīto cistu intensitāte dažāda vecuma grupās, mājās suņiem

Vecuma grupa	Pozitīvie suņi	Kopējais testēto suņu skaits	Izplatība, % (95 % TI)*
Kucēni	12	65	18,5 ^a (10,7–29,7)
Pieaugušie	18	193	9,3 (5,9–14,3)
Seniori	9	96	9,4 (4,8–17,1)
Geriatriskie	1	19	5,3 (0,1–26,5)
Kopā	40	373	10,7 (8,0–14,3)

*TI: ticamības intervāls; ^a starp *G. duodenalis* izplatību un vecuma grupu netika novērotas statistiski būtiskas atšķirības ($p > 0,05$).

Nebija būtiskas atšķirības starp vecuma grupām un *G. duodenalis* izplatību suņiem ($\chi^2 = 5,2$; $p = 0,2$; 11. tabula), kā arī vecuma grupām un izdalīto cistu intensitāti ($p = 0,1$). Līdzīgi rezultāti tika novēroti pētījumā, kas veikts ar suņiem, kuri bija jaunāki par vienu gadu, kur *G. duodenalis* izplatība bija augstāka 12 mēnešus veciem nekā trim mēnešus veciem suņiem, taču starpība nebija būtiska ($p > 0,05$) (Hamnes et al., 2007). Citos pētījumos aprakstīta līdzīga tendence, ka jaunāki suņi ir vairāk invadēti, taču rezultāts nebija statistiski būtisks ($p > 0,05$) (Lopez-Arias et al., 2019; Remesar et al., 2022). Augstāka sastopamība jaunākiem suņiem varētu būt saistīta ar pilnībā neattīstījušos imūnsistēmu, kas varētu nenodrošināt pienācīgu aizsardzību pret patogēniem, kā arī mātes antivielu zudumu vai arī pilnībā neattīstījusies zarnas mikrobiotu (Chastant & Mila, 2019).

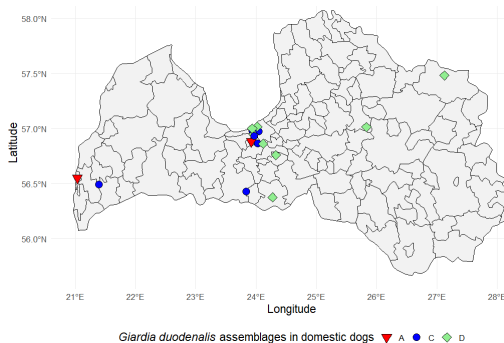
Starp dzimumiem, vīrišķās kārtas suņiem bija augstāka izplatība (14,7 %; 28/190; 95 % TI: 10,3–20,5) un tie izdalīja augstāku cistu intensitāti (56 400 CPG) salīdzinājumā ar sievišķās kārtas suņiem (6,6 %; 12/183; 95 % TI: 3,7–11,2; 27 250 CPG). Starp dzimumiem novēroja statistiski būtisku atšķirību ($\chi^2 = 5,7$, $p = 0,01$), bet starp izdalīto cistu intensitāti un dzimumu ($\chi^2 = 0,6$; $p = 0,5$) rezultāts nebija statistiski būtisks. Dažāda *G. duodenalis* sastopamība starp suņu dzimumiem aprakstīts iepriekš. Fontanarrosa et al. (2006) veiktajā pētījumā vīrišķās kārtas suņiem novēroja augstāku izplatību, nekā sievišķās kārtas suņiem, bet netika novērota būtiska atšķirība ($p > 0,05$). Līdzīgi rezultāti tika ziņoti arī Epe et al. (2010) pētījumā, kurā tika iekļauti suņi no septiņām Eiropas valstīm. Taču, pētījumā, kas veikts Norvēģijā, kurā tika izmeklēti jaunāki par vienu gadu suņi, sievišķās kārtas suņiem konstatēja augstāku izplatību (22,1 %; $n = 147$), nekā vīrišķās kārtas suņiem (19,7 %; $n = 142$) (Hamnes et al., 2007). Atšķirības starp dzimumiem varētu būt saistītas ar to, ka vīrišķās kārtas suņiem ir raksturīga klejošana un apkārtnes izpēte, kā arī, iespējama ir saistība ar paaugstinātu androgēnu hormonu līmeni, kas varētu samazināt imunitāti (Klein, 2000).

Patversmes suņiem *G. duodenalis* izplatība bija 6,7 % (3/45; 95 % TI: 2,3–17,9), bet īpašnieku suņiem tā sasniedza 11,3 % (37/328; 95 % TI: 8,1–15,2). *G. duodenalis* izplatība starp īpašnieku suņiem un patversmes suņiem nebija būtiski atšķirīga ($p = 0,4$). To daļēji varētu izskaidrot ar mazāku paraugu skaitu, kas tika ievākts no patversmes suņiem. Tomēr līdzīgi rezultāti tika novēroti patversmes suņiem Spānijā, kur tas tika skaidrots ar to, ka suņi, kas dzīvo audzētavās varētu būt nepārtrauktā saskarē ar *Giardia* cistām (Adell-Aledón et al., 2018). Tomēr biežāk tiek ziņots, ka patversmes suņiem ir augstāka *G. duodenalis* izplatība nekā īpašnieku suņiem, jo trūkst pienācīgas tīrības un sanitārijas, ir augstāks stresa līmenis, liels dzīvnieku blīvums un augsta dzīvnieku apgrozījums (Epe et al., 2010; Mircean et al., 2012; Turner et al., 2012; Gil et al., 2017). Lai gan patversmes suņu dati sniedz vērtīgu informāciju par *G. duodenalis* izplatību, to iekļaušana var ietekmēt parazītu izplatības novērtējumus Latvijā, jo tie var neatspoguļot reālo situāciju patversmes suņu populācijā.

No 40 mikroskopiski pozitīvajiem mājas suņu paraugiem DNS amplifikācija bija veiksmīga 16 paraugiem (40,0 %; 95 % TI: 26,3–55,4). Visbiežāk tika

izdalīts *G. duodenalis* D apakštips (50,0 %, 95 % TI: 28,0–72,0), kam sekoja C apakštips (37,5 %; 95 % TI: 18,4–61,5), un A apakštips (12,5 %; 95 % CI: 2,2–37,3). Suņiem raksturīgais *G. duodenalis* C apakštips tika novērot trim vīrišķās kārtas suņiem un trīs sievišķās kārtas suņiem, vecumā no trim mēnešiem līdz pieciem gadiem, kur vidējais vecums bija 3,4 gadi. D apakštips tika konstatēts pieciem sievišķās kārtas suņiem un trim vīrišķās kārtas suņiem vecumā no 3 mēnešiem līdz 3 gadiem (vidējais vecums 3,4 gadi). *G. duodenalis* C un D apakštīpi ir arī visbiežāk konstatētie apakštīpi suņiem Eiropā. Rumānijā *G. duodenalis* D un C apakštīpi tika konstatētas attiecīgi 70,0 % (42/60) un 16,7 % (10/60) no izmeklētajiem suņiem (Adriana et al., 2016). Tajā pašā pētījumā Rumānijā viens suns bija invadēts ar abiem ar *G. duodenalis* C un D apakštīpiem, bet cits suns izdalīja *G. duodenalis* E apakštīpu, kas ir govīm specifisks (Adriana et al., 2016). Arī Polijā *G. duodenalis* C un D apakštīpi bija izplatītākie mājas suņiem, taču viens suns bija pozitīvs uz zoonotisko *G. duodenalis* B apakštīpu (Piekarska et al., 2016). Citā pētījumā, kas veikts Polijā, *G. duodenalis* A apakštīps tika konstatēts 1,7 % no izmeklētajiem suņiem (n = 350) (Zygner et al., 2006).

Potenciāli zoonotiskais *G. duodenalis* A apakštīps tika konstatēts diviem sievišķās kārtas suņiem. Viens no tiem bija deviņus mēnešus vecs, bet otrs – piecus gadus vecs suns. *G. duodenalis* A apakštīps ir iepriekš konstatēts suņiem Apvienotajā Karalistē, Beļģijā, Nīderlandē, Polijā, Spānijā, Vācijā, un Zviedrijā (Mravcová et al., 2019). Līdzīgi kā govīm, joprojām notiek diskusijas par to, vai cilvēki var invadēties ar zoonotiskiem *G. duodenalis* A un B apakštīpiem, ko suņi izdala ārējā vidē. Dažos pētījumos ir aprakstīta saistība starp žiardiazi cilvēkiem un ar *G. duodenalis* pozitīviem suņiem, kuri dzīvoja tajā pašā mājāsaimniecībā vai bijuši ciešā kontaktā (Traub et al., 2004; Traub et al., 2009). Lai gan novērojumi par invāzijas pārnesei starp suņiem un cilvēkiem ir reti, šo apakštīpu klātbūtne joprojām var radīt risku cilvēku saslimšanai. Ar *G. duodenalis* apakštīpu invadēto suņu lokācijās Latvijā, ir attēlotas 7. attēlā.



7. att. *Giardia duodenalis* apakštīpu izplatība mājas suņiem Latvijā

Lai noteiktu risku un aizsargājošos faktorus, vispirms tika veikta vienfaktoru loģistiskā regresijas analīze, lai novērtētu potenciālo saistību starp atsevišķiem faktoriem un *Giardia duodenalis* invāziju mājas suņiem. Vecums kā nepārtrauktais mainīgais lieluma nebija statistiski būtisks ($p = 0,15$), tādēļ vecums kā grupa tika analizēts sākotnējā modelī. Kopumā četri sākotnējie vienfaktoru loģistiskās regresijas modeļi uzrādīja nozīmīgumu pie $p < 0,1$, un tie tika turpmāk izmantoti daudzfaktoru analīzē: Dzimums: vīrišķā kārtā (OR 2,5; $p = 0,01$); Vecuma grupa: kucēns (OR 2,2; $p = 0,05$); Aktivitāte ārpus pilsētas: ar pavadu: Jā (OR 0,4; $p = 0,008$); *Cryptosporidium* spp.: Pozitīvs (OR 9,9; $p < 0,001$).

Tika konstatēts viens aizsargājošs faktors – aktivitāte ārpus pilsētas ar pavadu ($p < 0,05$), savukārt citi aktivitātes veidi, tostarp aktivitāte pilsētā ar pavadu un aktivitāte dabā ar vai bez pavadas, nebija būtiski nozīmīgi ($p > 0,05$). Pavadas izmantošana ārpus pilsētas teritorijas var samazināt suņu klejošanu, kas savukārt var minimizēt kontaktu ar *G. duodenalis* cistām. Suņiem, kuri tiek vesti pavadā, var samazināt kontaktu ar zemi, līdz ar to ar invadētu materiālu vai ūdeni, kā arī, mazināt kontakta laiku ar citiem suņiem (Westgarth et al., 2010). Citā iepriekš veiktā pētījumā, savukārt, tika novērots, ka suņu aktivitātes bez pavadas bija pozitīvi saistītas ar paaugstinātu endoparazītu izplatību suņiem (Smith et al., 2014b). Turklāt mūsu pētījumā augsta *G. duodenalis* izplatība tika novērota arī rudajām lapsām (27,3 %; 60/219) un jenotsuņiem (30,8 %; 24/78), un šīs savvaļas suņu dzimtas sugas bieži novēro pilsētu un ciemu teritorijās. Tādēļ ir svarīgi izglītot suņu īpašniekus par pavadas lietošanas nozīmi, vedot suņus pastaigā, jo *G. duodenalis* cistas var tikt izdalītas lielos daudzumos no citiem invadētiem dzīvniekiem (Dixon et al., 2021).

G. duodenalis izplatība bija ievērojami augstāka vīrišķās kārtas suņiem nekā sievišķās kārtas suņiem ($p < 0,05$). Vīrišķās kārtas suņi arī izdalīja augstāku *G. duodenalis* cistu intensitāti, nekā sievišķās kārtas suņi. Tysnes et al. (2014) pētījumā tika konstatēts, ka augstāka *G. duodenalis* invāzijas varbūtība bija nekastrētiem un kastrētiem vīrišķās kārtas suņiem (OR 5,1; $p < 0,05$), un, to skaidroja ar atšķirībām hormonu sadalījumā vai suņu uzvedībā. French et al. (2023) apstiprināja, ka žiardiazes risks ir lielāks nekastrētiem suņiem, kas vecāki par 12 mēnešiem, nekā jaunākiem, kastrētiem suņiem ($p < 0,05$). Pretēji rezultāti tika novēroti Mircean et al. (2012) pētījumā, kurā netika novērotas atšķirības invāzijas riskā starp dzimumiem ($p > 0,05$), savukārt Smith et al. (2014b) aprakstīja augstāku risku sievišķās kārtas suņiem ($p < 0,05$). Ņemot vērā šos pretrunīgos secinājumus par *G. duodenalis* izplatības atšķirībām starp dzimumiem, būtu nepieciešams iegūt papildus informāciju par dzīvnieka kastrācijas statusu.

Šajā pētījumā vecums bija kā riska faktors, kas saistīts ar paaugstinātu *G. duodenalis* izplatību. Jaunākiem suņiem bija augstāka varbūtība invadēties ar *G. duodenalis* salīdzinājumā ar vecākiem suņiem ($p < 0,05$). Tas bija arī aprakstīts pētījumā, kas veikts Apvienotajā Karalistē, kur jaunākiem suņiem arī bija paaugstināts invāzijas risks ($p < 0,05$) (Upjohn et al., 2010). Itālijā suņiem, kas

jaunāki par pieciem gadiem, bija lielāka varbūtība invadēties ar *G. duodenalis* (Papini et al., 2005). Liela mēroga pētījumā, kurā tika iekļauti vairāk nekā divi miljoni suņu, no dažādām vecuma grupām, tika noskaidrots, ka augstāks risks invadēties ar žiardijām bija suņiem, kuri jaunāki par pieciem mēnešiem un vecumā no pieciem mēnešiem līdz diviem gadiem (Mohamed et al., 2013). Lai gan joprojām nav skaidrs, vai pastāv cilvēkam iespēja invadēties no suņiem, *G. duodenalis* joprojām ir viens no visbiežāk konstatētajiem parazitāriem suņiem, kas izraisa hronisku, periodisku diareju, kas prasa specifisku un ilgstošu ārstēšanu (Traub et al., 2004; Traub et al., 2009; Epe et al., 2010; Tysnes et al., 2014). Suņiem ir žiardīaze var noritēt ilgstoši, tāpēc ir iespējama arī ilgstoša *G. duodenalis* cistu izdalīšana ārvidē, tādējādi invadētie dzīvnieki var piesārņot vidi ar cistām un paaugstina risku invadēties arī citiem suņu dzimtas dzīvniekiem (Tysnes et al., 2014).

Koinvāzija ar *Cryptosporidium* spp. bija vēl viens riska faktors, kas šajā pētījumā ievērojami palielināja *G. duodenalis* invāzijas iespējamību mājas suņiem. *Cryptosporidium* spp. ir viensūnas parazīts, kas parasti skar jaunākus dzīvniekus un var izraisīt diareju (Thompson et al., 2005). Abu parazitāru vienlaicīga konstatēšana suņiem liecina par nepieciešamību testēt dzīvniekus uz abu parazitāru klātbūtni, it īpaši, ja ir akūta vai hroniska, periodiska diareja (Overgaauw et al., 2009; Matos et al., 2015). No Vienas veselības skatu punkta, suņi var invadēties ne tikai ar zoonotisko *Cryptosporidium parvum*, kas ir bijis ierosinātais vairākiem cilvēku saslimšanas gadījumiem Eiropā, bet suņi var arī invadēties ar suņiem specifisko *C. canis* un atgremotājiem specifisko *C. andersoni* (Rosanowski et al., 2018). Suņu invadēšanās ar zoonotisko *G. duodenalis* A un B apakštipu liecina, ka suņi var radīt zoonotisku risku ne tikai cilvēkiem, bet arī šos parazitārus izdalīt ārvidē un tādējādi invadējot citus uzņēmīgus dzīvniekus (Simonato et al., 2017; Cacciò et al., 2018; Rosanowski et al., 2018).

***Giardia duodenalis* izplatība, cistu izdalīšanās intensitāte, ģenētiskā daudzveidība, un to izplatību ietekmējošie faktori rudajām lapsām un jenotsuņiem Latvijā**

Kopumā *G. duodenalis* izplatība rudajām lapsām bija 27,4 % (60/219; 95 % TI: 21,9–33,7), ar vidējo cistu izdalīšanas intensitāti 3133 (min. 300; maks. 47 600; mediāna 700 CPG). Augstāka *G. duodenalis* izplatība konstatēta Latgalē (52/183; 28,4 %, 95 % TI: 22,4–35,3), tam sekoja Vidzeme (7/27; 25,9 %, 95 % TI: 13,4–44,7), Zemgale (1/5; 20,2 %, 95 % TI: 3,6–62,4), bet Kurzemē (0/4) netika novērotas *G. duodenalis* pozitīvas lapsas. Mūsu pētījumā lielākā daļa rudo lapsu tika izmeklētas no Latvijas austrumu daļas, kas ir salīdzinoši mazapdzīvota, tādēļ var kalpot kā indikators patogēnu klātbūtnei savvaļas suņu dzimtas dzīvniekos. Rudās lapsas tika medītas kā daļa no trakumsērgas valsts uzraudzības

un apkarošanas programmas (ZM un PVD, 2021). Ir veikti tikai daži pētījumi par *G. duodenalis* izplatību rudaļm lapsām Eiropā, kur izplatība svārstījās no 44,0 % (n = 104) Zviedrijā līdz 4,8 % (n = 269) Norvēģijā, 4,5 % (n = 66) Horvātijā un 2,8 % (n = 273) Rumānijā (Hamnes et al., 2007; Beck et al., 2011; Onac et al., 2015; Debenham et al., 2017).

Attiecībā uz vecumu, zemākā *G. duodenalis* izplatības tika novērota 1–1,5 gadus vecām lapsām (12. tabula).

12. tabula. *Giardia duodenalis* izplatība dažādām rudo lapsu vecuma grupām

Vecuma grupa, gadi	Pozitīvās rudās lapsas	Pārbaudītās rudās lapsas	Izplatība, % (95 % TI)*	Vidējā intensitāte (CPG)** (Min–Maks)
1–1,5	8	47	17,2 ^a (8,6–30,4)	875 ^b (200–2600)
2–2,5	26	85	30,6 (21,8–41,1)	5408 (200–47 600)
3–3,5	10	30	33,3 (19,18–51,3)	920 (200–2800)
4	2	5	40,0 (11,68–77,1)	6400 (800–12 000)
5	1	2	50,0 (9,48–90,5)	2800
NR***	13	50	26,0 (15,88–39,7)	1200 (200–5400)

*TI: ticamības intervāls; **CPG: cistas vienā gramā; ***NR: nav reģistrēts; ^anetika novērota būtiska atšķirība starp *G. duodenalis* izplatību un vecuma grupām ($p > 0,05$); ^bnetika novērota būtiska atšķirība starp izdalīto cistu intensitāti un vecuma grupām ($p > 0,05$).

Lai gan starp rudo lapsu vecuma grupām bija novērojamas atšķirības parazīta izplatībā, atšķirības nebija būtiskas ($\chi^2 = 4,5$, $p = 0,5$). Netika novērotas būtiskas atšķirības starp vecuma grupām un izdalīto cistu intensitāti ($p = 0,07$) (12. tabula). Mūsu pētījumā novērots *G. duodenalis* izplatības pieaugums, palielinoties lapsu vecumam, kad viszemākā izplatība novērota 1–1,5 gadu vecuma grupā salīdzinājumā ar vecākiem dzīvniekiem. Šāds rezultāts bija negaidīts, jo iepriekš ziņotajos pētījumos par *G. duodenalis* sastopamību lapsām Norvēģijā un Itālijā, tika konstatēta augstāka izplatība tieši jaunākām rudaļm lapsām (Hamnes et al., 2007; Papini & Verin, 2019). Rudo lapsu vecumu šajā pētījumā noteica mednieki un, iespējams, ka vecums var būt novērtēts neprecīzi. Lai gan *G. duodenalis* vairāk skar jaunākus dzīvniekus, ja dzīvnieks ir pakļauts hroniskam stresam vai ir novērojamas citas slimības, piemēram, kašķis, tas var izraisīt imūnsistēmas samazināšanos, veicinot hronisku žiardīzes gaitu un ilgstošu cistu izdalīšanos ārvidē (Soulsbury et al., 2007; Thompson et al., 2008).

Jenotsuņiem, *G. duodenalis* izplatības sasniedza 30,8 % (24/78, 95 % TI: 21,6–41,7), ar vidējo cistu izdalīšanas intensitāti 14 008 (min. 200; maks. 224 000; mediāna 1200 CPG). *G. duodenalis* pozitīvi jenotsuņi tika konstatēti divos no trijiem Latvijas reģioniem, un visaugstākā izplatība bija Latgalē (23/69; 33,3 %, 95 % TI: 23,4–45,1), kam sekoja Vidzeme (1/7; 14,3 %, 95 % TI: 2,6–51,3).

Salīdzinājumā ar rudajām lapsām, par *G. duodenalis* izplatību jenotsuņiem ir veikti mazāk pētījumu. Polijā veiktajā pētījumā, *G. duodenalis* izplatība jenotsuņiem no audzētavām, bija 11 % (n = 18) (Solarczyk et al., 2016). Tikmēr citā Polijā veiktajā pētījumā *G. duodenalis* netika konstatēts savvaļas jenotsuņiem (Osten-Sacken et al., 2017). Pētījumos ārpus Eiropas *G. duodenalis* izplatība jenotsuņiem bija no 1,7 % (4/233) līdz 7,2 % (22/305) (Zhang et al., 2016; Liu et al., 2025).

No 78 jenotsuņiem, 55 dzīvniekiem tika reģistrēts vecums gados, un vidējais vecums bija 2 gadi (min. 1; maks. 4,5), bet 23 jenotsuņiem vecums netika reģistrēts. No jenotsuņiem, kuru vecums bija reģistrēts, visaugstākā saslīmstība ar *G. duodenalis* tika novērota 1–1,5 gadus veciem jenotsuņiem, kuri arī izdalīja vislielāko cistu skaitu, bet kopumā vislielākā saslīmstība un izdalītais cistu skaits bija jenotsuņiem, kuru vecums nav zināms (13. tabula).

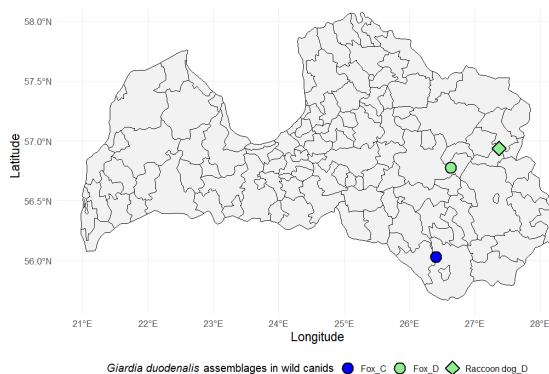
13. tabula. *Giardia duodenalis* sastopamība dažādām jenotsuņu vecuma grupām Latvijā

Vecuma grupa, gadi	Pozitīvie jenotsuņi	Kopā pārbaudītie jenotsuņi	Izplatība, % (95 % TI)*	Vidējā intensitāte (CPG)** (Min–Maks)
1–1,5	7	15	46,7 ^a (24,88–69,9)	6171 ^b (600–25 200)
2–2,5	6	33	18,2 (8,28–34,8)	2733 (400–10 000)
3–3,5	1	6	16,7 (1,18–58,2)	600
4,5	0	1	0	NA****
NR***	10	23	43,5 (25,68–63,2)	27 600 (200–224 000)

*TI: ticamības intervāls; **CPG: cistas uz gramu; ***NR: nav reģistrēts; ****NA: nav pieejams; ^astarp vecuma grupām un *G. duodenalis* izplatību netika novērota būtiskas atšķirības ($p > 0,05$); ^bstarp vecuma grupām un izdalīto cistu intensitāti netika novērota būtiskas atšķirības ($p > 0,05$).

Neskatoties uz to, ka novēroja atšķirības *G. duodenalis* izplatībā jenotsuņiem starp vecuma grupām, atšķirības nebija būtiskas ($p = 0,1$). Netika novērotas arī būtiskas atšķirības starp jenotsuņu vecuma grupām un izdalīto cistu intensitāti ($p > 0,05$) (13. tabula). Šis rezultāts saskan ar to, ka jaunāki dzīvnieki ir uzņēmīgi pret *G. duodenalis* (Boucard et al., 2021). Lai gan trūkst pētījumu par *G. duodenalis* izplatību jenotsuņiem Eiropā, šis pētījums sniedz labu ieskatu par potenciālo situāciju savvaļas suņu dzimtas dzīvnieku populācijā Latvijā.

No 23 mikroskopiski pozitīvajiem rudo lapsu un jenotsuņu paraugiem no trīs paraugiem veiksmīgi tika izdalīta DNS (11,5 %, 95 % TI: 3,2–29,8). *G. duodenalis* D apakštips tika konstatēts vienai, divus gadus vecai, rudajai lapsai, kuras izdalītā cistu intensitāte sasniedza 37 000 CPG, un vienam jenotsunim, kurš izdalīja ārvidē 224 000 CPG. Pozitīvā jenotsuņa vecums nav zināms. *G. duodenalis* C apakštipu izdalīta viena, divus gadus veca, lapsa, kas izdalīja 47 600 cistas uz gramu izkārnījumiem (8. attēls).



8. att. *Giardia duodenalis* apakštīpu izplatība rudajām lapsām un jenotsuņiem Latvijā

Vairākos pētījumos Eiropā ir ziņots par zoonotiskā *G. duodenalis* A un B apakštīpu rudajām lapsām. Rumānijā divām rudajām lapsām tika konstatēti abi zoonotiskie *G. duodenalis* A un B apakštīpi (Ocan et al., 2015). Norvēģijā piecām lapsām konstatēja *G. duodenalis* A apakštīpu, un divām lapsām tika konstatēts *G. duodenalis* AI apakštīps, un, vienai no šīm lapsām tika konstatēts *G. duodenalis* A apakštīps, kas iepriekš bija konstatēts stirnai (Hamnes et al., 2007). Turklāt, konstatētais *G. duodenalis* B apakštīps, kas tika genotipizēts kā BIII apakštīps, ir bijis konstatēts cilvēkam Norvēģijā (Hamnes et al., 2007). Zviedrijā *G. duodenalis* B apakštīps tika konstatēts četrām lapsām (Debenham et al., 2017). Šie pētījumi no citām Eiropas valstīm liecina, ka rudās lapsas var kalpot kā zoonotisko *G. duodenalis* pārnēsātājas. Lai gan šajā pētījumā zoonotiskie *G. duodenalis* A un B apakštīpi netika konstatēti rudajām lapsām, šos dzīvnieku iesaisti zoonotisko apakštīpu pārnēsāšanā Latvijā nevar izslēgt.

Ir maz pētījumu par *G. duodenalis* apakštīpiem jenotsuņiem Eiropā un pasaulē. Polijā tika konstatēts *G. duodenalis* D apakštīps diviem audzētavu jenotsuņiem (Solarczyk et al., 2016). Ārpus Eiropas, *G. duodenalis* C un D apakštīpi jenotsuņiem ir ziņoti Ķīnā (Zhang et al., 2016; Liu et al., 2025). Tā kā trūkst pētījumu par jenotsuņiem un zoonotisko apakštīpu sastopamību šiem dzīvniekiem, nevar izslēgt šo dzīvnieku nozīmi zoonotiskās transmisijas ķēdē. Tomēr šie dzīvnieki var kalpot kā suņiem specifisko apakštīpu pārnēsātāji, tādēļ tie varētu būt invāzijas rezervuārs mājas suņiem.

Loģistikas regresijas modelī par faktoriem, kas ietekmē *G. duodenalis* izplatību rudajām lapsām Latvijā, tās lapsas, kas bija invadējušas ar *Cryptosporidium* spp., bija ievērojami lielāka varbūtība izdalīt arī *G. duodenalis* cistas (OR 111,1; $p < 0,001$). Koinvāzija ar *Cryptosporidium* bija saistīta arī ar vecumu (OR 2,3; $p = 0,007$). *G. duodenalis* invāzija bija arī augstāka vecākām lapsām, bet starp vecuma grupām netika novērotas būtiskas atšķirības ($p > 0,05$). Lai gan iepriekšējos pētījumos par *G. duodenalis* Eiropā tika novērotas izplatības atšķirības starp rudo lapsu vecumiem, trūkst pētījumu, kuros izmantoti tieši

lineārie modeļi, lai identificētu un kvalificētu *G. duodenalis* invāzijas riska faktorus (Hamnes et al., 2007; Beck et al., 2011; Onac et al., 2015; Debenham et al., 2017; Papini & Verin, 2019).

Mūsu pētījumā rudajām lapsām tika novērota arī *G. duodenalis* vienlaicīga invāzija ar *Cryptosporidium* spp. Vienšūņa *Cryptosporidium* spp. izplatība rudajām lapsām Norvēģijā un Bosnijā un Hercegovinā ir bijusi no 2,2 % (6/269) līdz 3,2 % (4/123), bet koinvāzija ar *G. duodenalis* nav iepriekš konstatēta (Hamnes et al., 2007; Hodžić et al., 2014). Pretstatā tam, mūsu pētījumā konstatēta spēcīga sakarība starp abiem parazītiem, un vienlaicīga invadēšanās bija ievērojami biežāka jaunākām lapsām ($p < 0,05$).

Tāpat kā rudajām lapsām, arī jenotsuņiem sākotnējās loģistikas regresijas modelī tika pievienotas līdzīgi faktori, kas ietekmē *G. duodenalis* izplatību. Medību apgabals, pagasts vai virsmežniecība neuzrādīja būtisku rezultātu ($p > 0,05$). Vecums uzrādīja tendenci ($p = 0,05$), ka jaunākiem jenotsuņiem bija lielāka varbūtība būt pozitīviem ar *G. duodenalis*. Turklāt *Cryptosporidium* spp. klātbūtne bija cieši saistīta ar *G. duodenalis* invāziju (OR 16,0; $p < 0,001$). Šāds rezultāts tika novērots arī mājas suņiem. Mājas suņiem žiardiaze bieži izpaužas ar hronisku slimības gaitu, un cistas var periodiski izdalīties pat vairākus mēnešus (Hamnes et al., 2007), bet trūkst pētījumu par *G. duodenalis* jenotsuņiem, tostarp saistībā ar vecumu vai klīniskām izpausmēm.

Govju un suņu dzimtas dzīvnieku loma vides piesārņojumā ar *Giardia duodenalis* ar zoonotisko A apakštipu

Lai novērtētu *G. duodenalis* vides piesārņojuma potenciālu Latvijā no govīm un suņu dzimtas dzīvniekiem Latvijā, tika novērtēta izplatība un cistu intensitāte visām četrām dzīvnieku sugām: govīm, mājas suņiem, rudajām lapsām un jenotsuņiem.

Jenotsuņiem tika konstatēta 3,7 reizes augstāka *G. duodenalis* izplatība nekā govīm un 2,9 reizes augstāka nekā mājas suņiem. Rudajām lapsām *G. duodenalis* izplatība bija 3,3 un 2,9 reizes augstāka nekā govīm un mājas suņiem. Dzīvnieku suga bija nozīmīgs faktors, kas ietekmēja *G. duodenalis* izplatību ($\chi^2 = 83,8$; $p < 0,0001$). Šis rezultāts var atspoguļot gan ekoloģiskās, gan uzvedības, gan turēšanas atšķirības starp savvaļas, mājdzīvniekiem un produktīviem dzīvniekiem Latvijā. Atšķirībā no suņiem un produktīviem dzīvniekiem, endoparazitārās slimības netiek kontrolētas savvaļas suņu dzimtas dzīvniekiem, ļaujot tām izplatīties (Laurenson et al., 2005). Gan lapsas, gan jenotsuņi mēdz uzturēties cilvēku mājvietu tuvumā, kas var palielināt šo dzīvnieku saskari ar parazītu, līdz ar to var uzturēt *G. duodenalis* ciklu, neizraisot klīniskās izpausmes (O'Bryan et al., 2018). Turklāt gan rudās lapsas, gan jenotsuņi nekontrolēti pārvietojas, un visi aptaujātie govju ganāmpulku īpašnieki ziņoja, ka redzējuši savvaļas plēsējus savu ganāmpulku tuvumā. Abi zoonotiskie *G. duodenalis* A un B apakštipi ir bijuši konstatēti govīm un savvaļas suņu dzimtas dzīvniekiem,

tādējādi lapsas un jenotsuņi varētu netieši izplatīt šos parazītus govju ganāmpulkos (Hamnes et al., 2007; Ocan et al., 2015; Debenham et al., 2017). Nepietiekama *G. duodenalis* uzraudzība savvaļas dzīvniekos un to kontakts ar virszemes ūdens avotiem un meža produktiem, piemēram, sēnēm un ogām, kuras Latvijā bieži tiek vāktas, padara šos dzīvniekus par augsta riska *G. duodenalis* izplatītājiem (Geldreich, 1996; Grivins, 2021).

G. duodenalis invāzijas intensitāte arī ievērojami atšķirās starp dzīvnieku sugām ($p < 0,001$). Sākotnēji mājas suņi izdalīja ievērojami lielāku cistu intensitāti ($p < 0,05$) nekā govīs un savvaļas suņu dzimtas dzīvnieki, bet pēc žiardiju cistu intensitātes pārēķiniem ar vidējo fekāliju masu katrai dzīvnieku sugai, govīs izdalīja būtiski lielāku ($p < 0,05$) *G. duodenalis* cistu daudzumu salīdzinājumā ar pārējām dzīvnieku sugām.

Pielāgojot izdalītās žiardijas cistu vērtības vidējai fekāliju masai (grami vienā defekācijas reizē) un defekāciju reižu skaitam dienā, potenciālais korigētais izdalīto žiardijas cistu daudzums diennaktī no viena invadēta dzīvnieka tika aprēķināts, izmantojot mediānās invāzijas intensitātes vērtības, lai noteiktu iespējamo vides kontaminācijas risku no katras dzīvnieku sugas (14. tabula).

14. tabula. Mediānā *Giardia duodenalis* cistu izdalīšanās intensitātes rādītāji vienā defekācijas reizē un dienā, korigējot pēc fekāliju daudzuma un defekācijas biežuma pozitīvām govīm, mājas suņiem, rudajām lapsām un jenotsuņiem Latvijā

Suga	Mediānā invāzijas intensitāte (CPG*) no pozitīviem dzīvniekiem	Vidējais fekāliju svars vienā defekācijas reizē (g)	Vidējais defekāciju reižu skaits dienā	Izdalīto žiardijas cistu skaits vienā defekācijas reizē	Pielāgotais žiardiju izdalīto cistu skaits vienā dienā
Govis	600	1900 ^a	14 ^a	1 140 000	15 960 000 ¹
Suņi	310	150 ^b	2 ^b	465 000	930 000 ²
Rudās lapsas	70	120 ^c	6,4 ^c	84 000	537 600
Jenotsuņi	1200	120 ^d	6,4 ^d	144 000	921 600

*CPG: cistas vienā gramā ^a Aland et al., 2002; ^bWright et al., 2009; Ferreras et al., 2019.

^dPieņemts, ka tāds pats kā lapsām, jo nav pieejami dati, ¹tika novērota statistiski būtiska atšķirība starp koriģēto *G. duodenalis* cistu izdalīšanos starp govīm un citām sugām ($p < 0,05$); ²tika novērota statistiski būtiska atšķirība starp koriģēto *G. duodenalis* cistu izdalīšanos starp suņiem un rudajām lapsām ($p < 0,05$).

Kopumā deviņi dzīvnieki izdalīja *G. duodenalis* A apakštipa cistas ārējā vidē. Lielākā daļa *G. duodenalis* A apakštipu pozitīvo gadījumu tika konstatētas govīm (77,8 %, 95 % TI: 45,3–94,1), un 22,2 % (95 % TI: 6,3–54,7) no izmeklētajiem

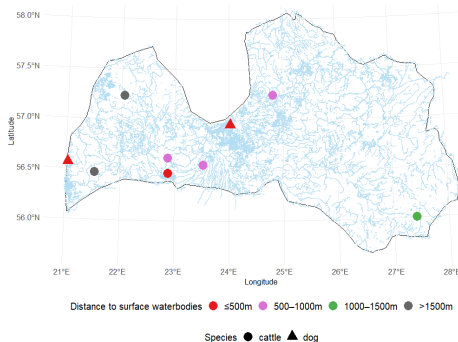
suņiem. Starp suņiem, vislielākā cistu izdalīšanas intensitāte tika konstatēta tieši jaunākajiem dzīvniekiem, bet starp govīm, visvairāk cistas ārvidē izdalīja vecākas govis. Zoonotiskā *G. duodenalis* A apakštipa pozitīvie dzīvnieki tika konstatēti visos Latvijas reģionos, dažādās turēšanas sistēmās, tostarp bioloģiskajās un industriālās govju saimniecībās, un, trīs saimniecībām, kur konstatēti pozitīvie dzīvnieki, bija pieejamas ganības (42,7 %, 95 % CI: 15,7–75,0) (15. tabula).

15. tabula. Ar restrikcijas garuma fragmentu polimorfisma analīzi apstiprināto *Giardia duodenalis* A apakštipa pozitīvo dzīvnieku raksturojums

Reģions	Dzīvesvieta	Dzīvnieku suga	Vecums, mēneši	Īpašnieks/ ganāmpulka lielums	Mājoklis un vide	Invāzijas intensitāte (CPG)*
Kurzeme	Pilsēta	Suns	2,4	Privāts īpašnieks	Dzīvoklis, aktivitātes pilsētā bez pavadas	33 400
Vidzeme	Pilsēta	Suns	36	Privāts īpašnieks	Privātmāja, aktivitātes publiskos parkos, mežos, plavās, ar pavadu	68 200
Vidzeme	Lauku teritorija	Govs	4	> 501	Industriālā saimniecība, ir ganības, nav piekļuves ūdenstilpei ganībās	600
Vidzeme	Lauku teritorija	Govs	51	>501	Industriālā saimniecība, nav piekļuves ūdenstilpei ganībās	200
Zemgale	Lauku teritorija	Govs	4	251–500	Industriālā saimniecība, nav piekļuves ūdenstilpei ganībās	9600
Zemgale	Lauku teritorija	Govs	87	> 501	Industriālā saimniecība, nav piekļuves ūdenstilpei ganībās	15 800
Latgale	Lauku teritorija	Govs	5	> 501	Rūpnieciskā lauksaimniecība, ir ganības, ir piekļuve ezeram ganībām	40
Latgale	Lauku teritorija	Govs	4	> 501	Industriālā saimniecība, ir ganības, nav piekļuves ūdenstilpei ganībās	20
Kurzeme	Lauku teritorija	Govs	6	251–500	Bioloģiskā saimniecība, ir ganības, nav piekļuves ūdenstilpei ganībās	2600

*CPG: cistas vienā gramā

Lai novērtētu attālumu līdz virszemes ūdenstilpēm, tika aprēķināts attālums no *G. duodenalis* A grupas pozitīvajiem dzīvniekiem līdz tuvākajai upei, dīķim vai ezeram. Astoņi no deviņiem *G. duodenalis* A apakštīpa pozitīvajiem dzīvniekiem (sešas govīs, divi suņi) atradās 1500 m attālumā no virszemes ūdenstilpes, tostarp trīs – 500 m attālumā (9. attēls).



9. att. *Giardia duodenalis* A grupas pozitīvo govju un mājas suņu atrašanās vietas attiecībā pret virszemes ūdenstilpēm

Lai gan suņu koordinātas bija aptuvenas, viena suņa atrašanās vieta bija tuvu dīķim (Valhovas dīķis), bet trīs govju ganāmpulki atradās 2 km attālumā no lielākajām upēm – Bērze, Tērvete un Engure.

No govju saimniecību aptaujas anketām, deviņi (28,1 %, 95 % TI: 15,4–45,5) no 32 saimniecību īpašniekiem ziņoja par atklātām ūdenstilpēm (piemēram, upes, dīķi, ezeri, grāvji) ganībās. No tiem divi īpašnieki ziņoja par ezeriem (33,3 %, 95 % TI: 9,2–70,4), bet divi citi īpašnieki – par upēm (33,3 %, 95 % TI: 9,2–70,4) ganībās. No šiem deviņiem ganāmpulku īpašniekiem, seši īpašnieki ziņoja, ka govīm ir tieša piekļuve pie šīm virszemes ūdenstilpēm ganībās (66,7 %, 95 % TI: 35,1–88,3). Vienā saimniecībā, kur viena govja bija pozitīva ar *G. duodenalis* A apakštīpu, īpašnieks ziņoja, ka govīs ganībās varēja piekļūt ezeram (16,7 %, 95 % TI: 1,1–58,2). Turklāt septiņi no deviņiem saimniecību īpašniekiem (77,8 %, 95 % TI: 42,3–94,7), kuri ziņoja par virszemes ūdenstilpju klātbūtni ganībās, atzina, ka šīs ūdenstilpes ar upi vai grāvi bija savienotas ar citu virszemes ūdenstilpi.

Visi govju ganāmpulku īpašnieki izmantoja mēslus lauku apstrādei (100 %), un astoņi ganāmpulku īpašnieki uzglabāja šos kūsmēslus kaudzē blakus novietnei (25,0 %, 95 % TI: 13,0–42,3), 16 uzglabāja mēslus atklātās bedrēs (50,0 %, 95 % TI: 33,6–66,4), bet astoņas saimniecībās, kūsmēsli tika uzglabāti lagūnās (25,0 %, 95 % TI: 13,0–42,3). No 32 ganāmpulkiem, 10 ganāmpulku īpašnieki ziņoja, ka viņi neapstrādā mēslus vai vircu pirms to izmantošanas lauku apstrādei (31,2 %, 95 % TI: 17,8–48,7), divi ganāmpulku īpašnieki izmanto fermentāciju (20,0 %, 95 % TI: 4,6–52,1) un astoņas izmanto lagūnās (80 %, 95 % TI: 47,9–95,4). Attiecībā uz *G. duodenalis* A apakštīpa pozitīvajiem govju

ganāmpulkiem, trīs no septiņiem ganāmpulkiem, šie kūsmēsli tika izmantoti lauku apstrādei (42,9 %, 95 % TI: 15,7–75,0), un piecos no septiņiem ganāmpulkiem, kūsmēsli tika uzglabāti atklātās bedrēs blakus saimniecības ēkām (71,4 %, 95 % TI: 35,2–92,4).

G. duodenalis A apakštips tika konstatēts govīm un suņiem, kuriem bija piekļuve virszemes ūdenstilpēm, kas norāda uz potenciālu zoonotisku risku un ūdens piesārņojumu Latvijā. No septiņiem govju ganāmpulkiem Latvijā, kur tika konstatēts *G. duodenalis* A apakštips, viens ganāmpulks atradās 570 metru attālumā no Bērzes upes un otrs 785 metru attālumā no Tērvetes upes. Nevienam no šiem ganāmpulkiem, kur tika konstatētas šīs govīs, nebija ganību, bet saimniecību īpašnieki izmantoja kūsmēsļus lauku apstrādei. Tas var izraisīt zoonotisko *G. duodenalis* saturošu fekāliju nokļūšanu gan virszemes, gan pazemes ūdens avotos, tādējādi ietekmējot visu ekosistēmu (Oliver et al., 2005). Lietusgāzes tiek saistītas ar palielinātu *Giardia* transmisiju, jo tas paaugstina noplūdes risku no laukiem un saimniecībām, ja kūsmēsli vai virca netiek pienācīgi apstrādāta (Oliver et al., 2005). *Giardia* cistas nepieķeras dabiskajām augsnes daļiņām, un noplūdes gadījumos, tās tiek brīvi pārnestas ar šķidrumu plūsmu (Dai & Boll, 2003). Lai samazinātu ūdens piesārņojumu, ir svarīgi samazināt vircas noteces no novietnēm, pienācīgi apstrādāt kūsmēsļus, lai mazinātu *G. duodenalis* cistu dzīvotspēju pirms lauku mēslošanas, un, ja iespējams, novērst dzīvnieku tiešu piekļuvi virszemes ūdens avotiem ganībās (Oliver et al., 2005). Šie rezultāti uzsver, ka lauksaimniecība un produktīvie dzīvnieki, jo īpaši govju audzēšana, var būt nozīmīgs *G. duodenalis* vides piesārņojuma avots, uzsverot nepieciešamību pēc integrētiem kontroles pasākumiem saskaņā ar Vienas veselības pieeju. Ir pētījumi, ka Latvijā cilvēku žiardīazes gadījumi netiek pietiekami diagnosticēti (Deksne et al., 2022). Pēdējo 20 gadu laikā Latvijas Slimību profilakses un kontroles centram ir oficiāli ziņots par kopumā 1020 cilvēku saslimšanas gadījumiem (vidēji 34 gadā), no kuriem lielākā daļa bija bērni vecumā no viena līdz sešiem gadiem (Deksne et al., 2022). Turklāt, dati no cilvēku klīniskās diagnostikas laboratorijas liecināja, ka *G. duodenalis* izplatība bija 2,2 % (n = 18 367), testējot fekālijas uz *Giardia* antigēnu, taču prospektīvā pētījumā, kurā tika analizēti 584 pacienti, *G. duodenalis* izplatība sasniedza 7,2 % (n = 42/584), izmantojot imunofluorescences metodi (Deksne et al., 2022). Šie *G. duodenalis* rezultāti cilvēkiem, īpaši prospektīvajā pētījumā, uzsver, ka šis parazīts ir sastopams Latvijas iedzīvotāju vidū, kas pamato *Giardia* dzīvnieku un vides avotu uzraudzības nozīmi un nepieciešamību pēc integrētām profilakses stratēģijām saskaņā ar Vienas veselības koncepciju. Lai pilnībā izprastu zoonotiskā *G. duodenalis* A grupas radītos vides piesārņojuma riskus Latvijā, ir nepieciešami turpmāki pētījumi par tā izplatību virszemes ūdenstilpēs, notekūdeņos, kā arī notekūdeņu attīrīšanas iekārtu efektivitāti.

SECINĀJUMI

1. *G. duodenalis* izplatība govīm bija 8,4 %. Augstākā *G. duodenalis* izplatība tika novērota 0–3 mēnešus veciem teļiem (16,4 %, $p < 0,05$), un vīrišķā dzimuma govīm (11,7 %), kuri arī izdalīja vislielāko cistu intensitāti (8017 CPG).
2. Tikai govīm specifiskais *G. duodenalis* E apakštips tika konstatēts 74,1 % ganāmpulkos, no kuriem, 55 govīm (88,7 %) konstatēja E apakštipu. Savukārt, četros ganāmpulkos (14,8 %) tika konstatēta jaukta *G. duodenalis* A un E apakštipu invāzija, bet trīs ganāmpulkos (12,0 %) tika konstatēts tikai zoonotiskais *G. duodenalis* A apakštips, kas tika konstatēts septiņām (11,3 %) govīm, kas uzsver nepieciešamību veikt molekulāro uzraudzību, lai mazinātu zoonotisko riskus.
3. Galvenie aizsardzības faktori pret *G. duodenalis* govīm bija vecums (OR 0,4, $p < 0,01$), ganību un kūtsmēslu apsaimniekošana, biodrošības protokolu ievērošana (grauzēju kontrole (OR 0,7; $p < 0,05$) un apavu maiņa apmeklētājiem (OR 0,6; $p = 0,05$), savukārt riska faktors bija govīm iespēja atstāt novietni (OR 2,2; $p < 0,05$), kas uzsver pārvaldības faktoru nozīmi *G. duodenalis* samazināšanā govju saimniecībās.
4. *G. duodenalis* izplatība mājas suņiem bija 10,7 %, un vislielākā izplatība novērota kucēniem (18,5 %) un vīrišķās kārtas suņiem, salīdzinot ar sievišķās kārtas suņiem ($p = 0,01$), norādot, ka gan vecums, gan dzimums spēlē svarīgu lomu invāzijas dinamikā suņiem.
5. Suņiem tika konstatēti trīs *G. duodenalis* apakštipi: suņiem raksturīgie C un D apakštipi, kā arī zoonotiskais A apakštips, kas tika konstatēts diviem suņiem, norādot uz potenciālu zoonotisko risku cilvēkiem.
6. Suņiem vienlaicīga invadēšanās ar *Cryptosporidium* spp. bija saistīts ar paaugstinātu *G. duodenalis* risku (OR 10,0, $p < 0,01$); taču, pastaigas ar pavadu ārpus pilsētas bija kā aizsargājošs faktors (OR 0,4, $p = 0,008$), kas uzsver klejošanas samazināšanas nozīmi brīvā dabā.
7. *G. duodenalis* izplatība rudajām lapsām (27,4 %) un jenotsuņiem (30,8 %) bija augstāka nekā govīm (8,4 %) un mājas suņiem (10,7 %), tomēr šie dzīvnieki izdalīja mazāku cistu daudzumu vidē (attiecīgi 3133 un 14 008 CPG), kas liecina, ka savvaļas suņu dzimtas dzīvnieki var būt bieži *G. duodenalis* pārnēsātāji.
8. Savvaļas suņu dzimtas dzīvniekos tika konstatētas suņiem specifiskie *G. duodenalis* C un D apakštipi, kas var liecināt par šo dzīvnieku, kā parazīta rezervuāru, lomu mājas suņiem.
9. Līdzīgi kā suņiem, *Cryptosporidium* spp. vienlaicīga invāzija palielināja *G. duodenalis* invāzijas iespējamību rudajām lapsām (OR 111,1, $p < 0,001$) un jenotsuņiem (OR 16,0, $p < 0,001$), kas liecina, ka rudās lapsas un jenotsuņi ir nozīmīgi, vairāku zoonotisko parazītu rezervuāri, uzsverot to nozīmi Vienas veselības koncepcijā.

10. Lai gan savvaļas suņu dzimtas dzīvnieki bija visvairāk invadēti ar *G. duodenalis*, govīs izdalīja ievērojami augstāku cistu intensitāti (15 960 000 CPG koriģēti), paaugstinot parazīta daudzumu vidē. *G. duodenalis* A apakštipu pozitīvo dzīvnieku tuvums virszemes ūdenstilpēm uzsver vides piesārņojuma un ūdens pārnēsātas invāzijas iespējamību.

PRAKTISKI IETEIKUMI

1. Uzlabot biodrošību govju novietnēs: Tā kā *G. duodenalis* ir tiešs attīstības cikls, cistas ir mazas (7–10 μm), izturīgas ārvidē un ļoti izplatītas Latvijas govju ganāmpulkos, ganāmpulku īpašniekiem būtu svarīgi ieviest stingrus biodrošības protokolus. Visiem darbiniekiem un veterinārārstiem, kas ienāk ganāmpulkā, jālieto ganāmpulka īpašnieka nodrošinātie individuālie aizsardzības līdzekļi (piemēram, vienreizlietojamās cimdi) un zābaki, lai līdz minimumam samazinātu žiardiju un citu patogēnu iekļūšanu ganāmpulkos. Pirms jaunu teļu ieviešanas individuālos teļu boksos, boksi ir rūpīgi jāiztīra, jādezinficē un jāizžāvē, lai novērstu jauno dzīvnieku invadēšanos.
2. Uzsvērt personāla, pārtikas un ūdens higiēnu: Ņemot vērā lielo *G. duodenalis* cistu skaitu, ko ārvidē izdala visi pētījumā iekļautie dzīvnieki, jo īpaši govīs, no pārtikas drošības viedokļa, prioritāte jāpiešķir higiēnas pasākumiem saistībā ar svaigiem produktiem. Ogas, augļi, dārzeņi un lapu salāti, kas audzēti govju ganāmpulku tuvumā, apstrādāti ar kūtsmēsliem vai audzēti laukos, kas ir viegli pieejami suņu dzimtas dzīvniekiem, ir rūpīgi jāmazgā ar tīru, tekošu ūdeni, lai maksimāli nomazgātu žiardiju cistas. Tā kā *G. duodenalis* visbiežāk ir ar ūdeni pārnēsāts parazīts, peldēšanās ūdenstilpēs, kas atrodas govju ganāmpulku vai ganību tuvumā, īpaši pēc stiprām lietusegāzēm, kad ir augsts piesārņojuma risks, būtu jāizvairās. Turklāt ir jāapsver rūpīgas sabiedrības higiēnas izglītošanas kampaņas, kas vērstas uz pareizu produktu mazgāšanu, un informācijas zīmes par iespējamo *G. duodenalis* piesārņojumu peldvietu tuvumā.
3. Palielināt zoonozes uzraudzību un informētību: Tā kā zoonotiskais *G. duodenalis* A apakštips tika konstatēts govīm un mājas suņiem, ir svarīgi diagnosticēt un uzraudzīt *G. duodenalis* klātbūtni abās sugās, īpaši gadījumos, kad ir cilvēku caurejas uzliesmojumi. *Cryptosporidium* spp. vienlaicīgas invāzijas konstatēšana suņu dzimtas dzīvniekiem uzsver nepieciešamību pēc plašākas diagnostiskās pārbaudes veterinārajā un sabiedrības veselības jomā. Pašlaik *G. duodenalis* Latvijā netiek oficiāli uzraudzīts ne vides, ne veterinārajā jomā.
4. Īstenot un veicināt „Vienas Veselības” konceptu: *G. duodenalis* ir ļoti izturīgs pret ārējas vides apstākļiem, ir svarīgi līdz minimumam samazināt vides, jo īpaši ūdens un pārtikas avotu, piesārņojuma risku. Lai samazinātu cistu dzīvotspēju pirms kūtsmēsliu izmantošanas lauku apstrādei, prioritāri jāveic izglītojošas kampaņas uzņēmumiem un lauksaimniecības darbiniekiem par

pareizu kūtsmēslu apsaimniekošanu. Svarīgi ir arī samazināt kūtsmēslu un vircas noplūdes no govju novietnēm, īpaši ja tuvumā ir atklātas ūdenstilpes. Lai samazinātu pārnēsāšanas risku gan govīm, gan cilvēkiem, stingri ieteicams nodrošināt tīru dzeramo ūdeni ganībās, nevis izmantot virszemes ūdens avotus.