



Surto de *Trypanosoma vivax* em rebanhos bovinos na Zona da Mata do estado de Pernambuco

[*Trypanosoma vivax* outbreak in cattle in the 'Zona da Mata' of the state of Pernambuco]

"Relato de Caso/Case Report"

Mayumi Santos Botelho **Ono**^{1*}, Pollyanna Cordeiro **Souto**²,
Jefferson Ayrton Leite de Oliveira **Cruz**³, Neurisvan Ramos **Guerra**¹,
Janaína Azevedo **Guimarães**¹, Alexandre Cruz **Dantas**¹, Lêucio Câmara **Alves**¹, Huber **Rizzo**¹

¹Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE, Brasil.

² Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil.

³Médico veterinário autônomo, Recife-PE, Brasil.

*Autor para correspondência/Corresponding author: E-mail: mayumi_sbo@hotmail.com

Resumo

Objetivou-se registrar a ocorrência e descrever os achados clínicos e hematológicos de surtos de tripanossomíase em bovinos em propriedades localizadas nos municípios de Timbaúba e Paudalho, Zona da Mata do estado de Pernambuco. Foram realizadas visitas às propriedades para coleta de dados sobre o histórico do rebanho além de informações sobre o manejo dos animais na propriedade, realização de exame clínico e coleta de material para hemograma, pesquisa de hematozoários e Reação em Cadeira da Polimerase. Clinicamente, os animais apresentavam mucosas hipocoradas, emaciação, havendo histórico de óbito em ambas as propriedades. Previamente ao manejo da ordenha era feita a aplicação de ocitocina, sendo ainda observada a presença de moscas hematófagas. Ao hemograma observou-se presença de anemia normocítica normocrômica e leucocitose por neutrofilia na maioria dos animais. Foi observada presença do protozoário *Trypanosoma vivax* no esfregaço sanguíneo e confirmados na PCR. Recomendou-se o tratamento com diaceturato de diminazene (10,5 mg/kg) em administração única. Conclui-se que o *T. vivax*, ocorre na região nordeste de maneira esporádica e que o manejo sanitário deficiente predispõe a ocorrência da enfermidade nos rebanhos.

Palavras-Chave: hemoparasitoses; sinais clínicos; animais de produção.

Abstract

The objective was to record the occurrence and describe the clinical and hematological findings of outbreaks of trypanosomiasis in cattle on properties located in Timbaúba and Paudalho in the Zona da Mata of Pernambuco. Visits to the properties were carried out to collect data on of the herd as well as information on the management of animals on the farm, clinical examination and collection of blood samples, searching for parasites in the blood, and Polymerase Chain Reaction. Clinically, the animals had pale mucosae, emaciation, and there was a history of death in both properties. Prior to milking, oxytocin was applied and biting flies were also observed. The hemogram showed normocytic normochromic anemia and leukocytosis due to neutrophilia in most animals. Presence of *Trypanosoma vivax* was observed in the blood smear and confirmed with the PCR. Treatment with dimethiazine diaceturate (10.5 mg/kg) in a single dose was recommended. In conclusion, *T. vivax* occurs in the northeast region sporadically and poor sanitary management predisposes the occurrence of disease in the herds.

Keywords: hemoparasitosis; clinical signs; farm animals.

Introdução

Trypanosoma vivax infecta uma grande variedade de animais ungulados selvagens e domésticos, podendo causar grande impacto na produção de ruminantes (Osório et al., 2008). Os animais acometidos podem se tornar portadores assintomáticos da doença ou apresentar sinais clínicos como alterações hematológicas graves, hipertermia, hiporexia, reduções na produção e óbito (Batista et al., 2007).

Os surtos de tripanossomíase causados pelo *T. vivax* em bovinos são mais frequentes em áreas endêmicas como Pantanal, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, porém há relatos de sua ocorrência em todo território brasileiro causando doença severa em ruminantes e equinos nas regiões Nordeste, Sul e Sudeste (Batista et al., 2007).

No nordeste brasileiro, poucos são os relatos desta enfermidade em bovinos sendo que apenas em 2002 observou-se o primeiro registro de surto na região, no estado da Paraíba, provocando a doença em quase metade do rebanho de uma propriedade do município de Catolé do Rocha (Batista et al., 2007). Em Pernambuco, o primeiro relato ocorreu no município de Itambé, com 30 animais apresentando sinais clínicos da doença e ocorrendo a morte de três destes (Pimentel et al., 2010).

Tendo em vista os impactos econômicos provocados pelo parasita na produção animal e a situação epidemiológica de instabilidade enzoótica do estado, objetivou-se registrar a ocorrência e descrever os achados clínicos e hematológicos de surtos de tripanossomíase em bovinos em duas propriedades localizadas na mesorregião da Zona da Mata do estado de Pernambuco.

Descrição do Caso

Foram analisados os dados do atendimento clínico e laboratorial de bovinos leiteiros de duas propriedades localizadas na mesorregião da Zona da Mata no estado de Pernambuco, nos municípios de Timbaúba (07°30'19"S, 35°19'06"O) e Paudalho (7° 53' 49" S, 35° 10' 48" O), nos anos de 2013 e 2014, respectivamente.

Além disso, amostras de sangue foram colhidas por venopunção jugular em tubos estéreis a vácuo contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 10% para realização de hemograma e pesquisa de hemoparasitas em esfregaço sanguíneo no Laboratório de Análises Clínicas de Animais de Produção (LACAP) na Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE.

Após a confirmação da presença do parasita no rebanho, foram colhidas novas amostras de sangue em EDTA de 20% de cada lote do rebanho do surto 1 e de 100% do rebanho do surto 2, sendo as mesmas encaminhadas para realização de teste da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) no Laboratório de Enfermidades Parasitárias dos Animais Domésticos da UFRPE, além de pesquisa de hemoparasitas novamente no LACAP.

Foi realizada PCR de *T. vivax* seguindo os procedimentos descritos por Guerra et al. (2015).

Surto 1 - Timbaúba-PE:

A propriedade visitada no município de Timbaúba-PE em agosto de 2013 era composta de um rebanho de 500 animais da raça Girolando criados em sistema intensivo, destinados a produção de leite.

Na propriedade, a ordenha era realizada duas vezes ao dia, sendo feita a aplicação de ocitocina previamente, reutilizando agulhas e seringas nos animais. Observou-se ainda a presença de moscas em grande quantidade no local. Foi relatado óbito de aproximadamente oito animais, todos no primeiro mês de lactação.

Os sinais relatados foram tremores musculares e incoordenação motora evoluindo para decúbito, porém ainda se mantinham alertas ao ambiente, sendo que após três dias os animais morreram. Foi realizado pelo proprietário, sem recomendação médico veterinária, tratamento dos animais doentes com tilosina (0,05mg/kg), anti-inflamatórios e cálcio. Alguns animais acometidos se recuperaram, porém não retornaram ao peso anterior, demonstrando ataxia como seqüela.

No exame físico realizado em três animais adultos em fase de lactação, observou-se que as mucosas se encontravam normocoradas, parâmetros de frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal dentro da normalidade. Apenas um, dos três animais, apresentava atonia ruminal com presença de som timpânico na região dorsal das últimas duas costelas e ausculta pulmonar com presença de crepitação. Neste animal observou-se ao hemograma anemia normocítica normocrômica, leucocitose por neutrofilia, linfocitose e monocitose, com desvio a esquerda regenerativo e atipia linfocitária, além de fibrinogênio no limite superior. Ainda, foi positivo para *Trypanosoma* sp. no esfregaço sanguíneo (Tabelas 1 e 2).

Outro animal (2) apresentou contagem total de leucócitos dentro da normalidade, porém com

inversão, neutrofilia e desvio a esquerda (Tabela 2), além de anemia normocítica e normocrômica (Tabela 1). O animal 2 também foi positivo para *Trypanosoma* sp. e foi observado presença de atipia linfocitária. O terceiro animal examinado não foi positivo para *Trypanosoma* sp. no esfregaço sanguíneo.

Após esta visita, e com a confirmação de casos positivos para *Trypanosoma* sp. na propriedade, foi realizada a colheita de sangue em 20% de cada lote do rebanho, para realização de pesquisa de hematozoários em esfregaço sanguíneo e PCR.

Tabela 1. Achados da série vermelha, PPT e Fibrinogênio plasmático dos animais positivos para *Trypanosoma vivax* no esfregaço sanguíneo.

Bovino	Ht (%)	He (x10 ⁶ /ml)	Hb (g/dL)	VCM (fL)	CHCM (%)	PPT (g/dL)	FP (g/L)
1	21	4,24	7	49,53	33,33	6,1	800
2	23	4,82	7,6	47,72	33,40	8,5	600
VM	22	4,53	7,3	48,62	33,36	7,3	700
VR*	24-46	5,0-10,0	8-15	40,0-60,0	30-36	7,0-8,5	300-700

Ht: hematócrito; He: hemácias; Hb: hemoglobina; VCM: volume globular médio; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; PPT: proteína plasmática total; FP: fibrinogênio plasmático; VR: valor de referência; VM: valores médios. *(Weiss e Wardrop, 2011).

Tabela 2. Resultados dos leucogramas realizados nos animais positivos para *Trypanosoma vivax* no esfregaço sanguíneo.

Bovino	Le (x10 ⁶ /ml)	Seg (%)	Linf (%)	Mon (%)	Eos (%)	Bas (%)	Bast (%)	Seg (µL)	Linf (µL)	Mon (µL)	Eos (µL)	Bas (µL)	Bast (µL)
1	69,5	22	62	10	-	-	06	15.290	43.090	6.950	-	-	4.170
2	9,8	60	27	09	-	-	04	5.880	2.646	882	-	-	392
VR*	4,0-12,0	15-45	45-75	2-7	0-20	0-2	0-2	600-4.000	2.500-7.500	25-840	0-2400	0-200	0-120

Le: leucócitos; Seg: segmentados; Linf: linfócitos; Mon: monócitos; Eos: eosinófilos; Bas: basófilos; Bast: bastonetes; VR: valor de referência. *(Weiss e Wardrop, 2011).

Observou-se que resultados positivos para o *T. vivax* foram encontrados na maioria dos lotes (Tabela 3). Porém, houve uma maior concentração de animais positivos nos lotes em que os animais estavam em lactação e nas fêmeas adultas em pré-parto.

No que diz respeito ao teste de PCR realizado, observou-se que 37,35% (n=31/83) das amostras apresentaram resultados positivos para *T. vivax*, resultado próximo ao exame direto realizado.

Tabela 3. Ocorrência de bovinos positivos para *Trypanosoma vivax* em esfregaço sanguíneo no surto 1.

Lote (idade)	Animais positivos (%)
Até 1 semana	0% (0/2)
De duas a três semanas	0% (0/2)
1 mês de idade	0% (0/2)
2 meses de idade	0% (0/7)
A partir de 3 meses de idade	28,57% (2/7)
Jovens antes do lote de inseminação	0% (0/2)
Novilhas para inseminação	15,38% (2/13)
Animais no pré-parto	50% (3/6)
1º lote de lactação (alta produção)	50% (4/8)
Segundo lote de lactação	55,55% (5/9)
Terceiro lote (novilhas)	23,07% (3/13)
Vacas paridas	33,33% (2/6)
Vacas com mastite	0% (0/6)
Total	25,30% (21/83)

Surto 2 – Paudalho-PE:

Quanto à propriedade visitada em setembro de 2014, tratava-se de uma criação de bovinos com aproximadamente 75 animais, entre fêmeas em lactação e secas, além de bezerros e touros. Foram relatados óbitos de 20 animais adultos, dentre os quais quatro encontravam-se com sinais de emagrecimento.

No manejo de ordenha do rebanho, era administrado ocitocina via intravenosa (veia mamária), reutilizando seringas e agulhas. Observou-se que todos os animais apresentavam escore de condição corporal (ECC) abaixo de 3, em escala de 1 a 5 (Edmonson et al., 1989). O ambiente

era úmido e os bezerros ficavam em local muito frio e apresentavam-se desnutridos.

Foi realizado o exame clínico em alguns animais e observou-se que todos eles apresentavam mucosas variando de pálidas a levemente pálidas e presença de ectoparasitas. A pesquisa de hematozoários, hemograma e dosagens de proteína plasmática total e fibrinogênio plasmático foram realizados em todos os animais da propriedade (N = 75), mas apenas em três destes, observou-se a presença de *Trypanosoma* sp. Ainda, esses três animais apresentaram o volume globular (VG) abaixo ou próximo ao limite inferior considerado normal para espécie, indicando um quadro de anemia normocítica normocrômica (Tabela 4).

Tabela 4. Achados da série vermelha, PPT e Fibrinogênio plasmático dos animais positivos para *Trypanosoma* sp. no esfregaço sanguíneo.

Bovino	Ht (%)	He (x10 ⁶ /ml)	Hb (g/dL)	VCM (fL)	CHCM (%)	PPT (g/dL)	FP (g/L)
1	19	4,12	6,2	46,11	32,63	7,3	400
2	21	4,61	7,4	45,53	35,23	7,0	200
3	26	6,19	8,8	42,00	33,85	8,2	200
VM	22	4,97	7,4	44,54	33,90	7,5	267
VR*	(24-46)	(5,0-10,0)	(8-15)	(40,0-60,0)	(30-36)	(7,0-8,5)	(300-700)

Ht: hematócrito; He: hemácias; Hb: hemoglobina; VCM: volume globular médio; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; PPT: proteína plasmática total; FP: fibrinogênio plasmático; VR: valor de referência; VM: valores médios. *(Weiss e Wardrop, 2011).

Em outros animais também foram observados outros parasitas como *Anaplasma marginale* (N=6) e *Babesia bigemina* (N=1). Foi observada leucocitose por neutrofilia em dois

animais além da presença de inversão na proporção linfócitos-neutrófilos (Tabela 5). Nesta propriedade não foi realizado a PCR das amostras em virtude dos custos.

Tabela 5. Resultados dos leucogramas realizados nos animais positivos para *Trypanosoma* sp. no esfregaço sanguíneo.

Bovino	Le (x10 ⁶ /ml)	Seg (%)	Linf (%)	Mon (%)	Eos (%)	Bas (%)	Bast (%)	Seg (µL)	Linf (µL)	Mon (µL)	Eos (µL)	Bas (µL)	Bast (µL)
1	12.9	49	43	04	04	-	-	6.321	5.547	516	516	-	-
2	12.4	65	30	04	01	-	-	8.060	3.720	496	124	-	-
3	11.0	32	54	01	12	-	01	3.520	5.940	110	1320	-	110
VM	12,1	49	43	3	5,7	-	01	5.967	5.077	374	654	-	110
VR*	4,0-12,0	45	75	2-7	0-20	0-2	0-2	4.000	7.500	840	2400	200	120

Le: leucócitos; Seg: segmentados; Linf: linfócitos; Mon: monócitos; Eos: eosinófilos; Bas: basófilos; Bast: bastonetes; VR: valor de referência; VM: valores médios. *(Weiss e Wardrop, 2011).

Nesta propriedade também foi observado que alguns animais apresentavam mastite clínica, broncopneumonia, artrite e afecções podais. Ainda, haviam animais que apresentavam sinais clínicos sugestivos de Leucose Enzoótica Bovina e um animal com enterite crônica. Neste último, foi realizada necropsia e obteve-se, por meio do exame histopatológico, o diagnóstico de paratuberculose.

Discussão

Nos surtos relatados, os animais apresentavam um baixo escore corporal indicando má nutrição, sendo ainda observadas doenças intercorrentes como pneumonia, pododermatite, endometrite e casos de anaplasmose, babesiose, leucose e paratuberculose, o que sugeriu que os animais estavam em condições precárias de manejo sanitário e expostos a diversos patógenos.

Nas duas propriedades era realizada a aplicação de ocitocina antes da ordenha reutilizando agulhas e seringas, o que pode ter favorecido a transmissão do *T. vivax*. Neste aspecto, observa-se a importância de um manejo eficiente de ordenha em uma propriedade leiteira, uma vez que a maior prevalência da enfermidade ocorreu em lotes de animais em lactação, os quais eram submetidos a aplicação de medicações durante a ordenha. Segundo Silva et al. (1997), a transmissão iatrogênica de tripanossomose pode ocorrer pelo reaproveitamento de agulhas para administração de medicamentos e vacinas ou instrumentos veterinários que são utilizados em mais de um animal.

No surto 1, também foram encontrados animais positivos para enfermidade que apresentavam idade inferior a três meses, refletindo o papel das moscas hematófagas (*Tabanus* spp. e *Stomoxys calcitrans*) como vetores mecânicos (Riet-Correa et al., 2007).

Observa-se ainda uma maior prevalência de animais positivos para tripanossomíase em fêmeas adultas no pré-parto. Esta pode ser devido tanto a presença de vetores na propriedade quanto a transmissão iatrogênica (Riet-Correa et al., 2007).

No que diz respeito aos achados hematológicos, a ocorrência de anemia nos animais acometidos em ambos os surtos, corroborou os resultados obtidos por outros autores que relataram essa alteração hematológica como a mais frequentemente observada em animais infectados naturalmente ou experimentalmente por *T. vivax* (Silva et al., 1999). Nos animais de ambas as propriedades foi observada a presença de anemia normocítica normocrômica, não regenerativa, além de, clinicamente, apresentarem alteração na coloração de mucosas estando as mesmas hipocoradas. Estes resultados estão de acordo com Weiss e Wardrop (2011), que relataram que a infecção por *T. vivax* causa anemia não regenerativa.

Quanto ao leucograma, observou-se um padrão de leucocitose por neutrofilia, exceto em um animal da propriedade de Timbaúba/PE, o qual apresentou leucócitos em níveis normais apesar de presença de neutrofilia. Segundo Cadioli et al. (2012), é comum notar leucopenia na fase inicial da enfermidade, entretanto, os autores relataram que bovinos naturalmente infectados pelo *T. vivax* demonstraram quadro de leucocitose por neutrofilia, o que corroborou os achados dos dois presentes surtos.

A semelhança dos sinais clínicos da tripanossomíase com outras doenças como a tristeza parasitária bovina, anaplasmose e babesiose, dificulta o diagnóstico definitivo, devendo as mesmas serem consideradas no diagnóstico diferencial da tripanossomíase (Batista et al., 2007). Na propriedade localizada em Paudalho/PE observou-se sinais clínicos e achados de hemograma compatíveis com a tripanossomíase, porém foi observado no esfregaço sanguíneo animais positivos para outros hemoparasitas como *A. marginale* e *B. bigemina*, demonstrando que é possível a ocorrência de diversos hemoparasitas no mesmo rebanho e ressaltando a importância da realização da pesquisa de hematozoários na diferenciação e diagnóstico definitivo.

A técnica de PCR apresenta uma alta especificidade e sensibilidade para diagnóstico de inúmeras enfermidades, e no caso da tripanossomíase, permite a detecção de DNA de *T. vivax* no sangue dos animais, mesmo quando este não é encontrado no esfregaço sanguíneo (Rodrigues et al., 2003). A PCR foi realizada apenas no surto 1 e quando comparados os resultados da pesquisa no esfregaço sanguíneo com a PCR, estes foram aproximados sendo 25,30% e 37,35% ($p=0,191$) (Guerra et al., 2015).

O tratamento da tripanossomíase baseia-se no uso de drogas tripanocidas como o diaceturato de diminazene (Smith, 2006), a qual foi recomendada para o tratamento da enfermidade em ambas as propriedades, na dose de 10,5mg/kg em administração única. Ainda, na propriedade que apresentou resultados positivos para anaplasmose, recomendou-se o tratamento com oxitetraciclina de longa ação na dose de 20mg/kg, sendo três aplicações com intervalo de 72 horas. Devido a associação da ocorrência da tripanossomíase com o manejo sanitário realizado nas propriedades, recomendou-se a adaptação dos animais a ordenha sem o uso de ocitocina e, durante o processo, deve ser utilizado uma agulha por animal, além da realização de controle biológico dos vetores mediante a utilização de esterqueiras.

Conclusão

Observa-se a ocorrência de surtos em duas propriedades localizadas nos municípios de Timbaúba e Paudalho, estado de Pernambuco, o qual é considerado uma área de instabilidade enzoótica para a doença. A presença do *T. vivax* nos bovinos nestas propriedades está relacionada ao manejo sanitário deficiente. Além disso, também

deve-se ressaltar o papel das moscas hematófagas na transmissão biológica da doença, uma vez que animais jovens também se encontravam infectados pelo hemoparasita.

Conflito de interesse

Os autores declaram não existir conflito de interesse.

Referências

- Batista, J.S.; Riet-Correa, F.; Teixeira, M.M.G.; Madruga, C.R.; Simões, D.V.; Maia, T.F. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian semiarid: description of an outbreak and lesions in the nervous system. **Veterinary Parasitology**, 143(2): 174-81, 2007.
- Cadioli, F.A.; Barnabé, P. A.; Machado, R. Z.; Teixeira, M. C. A.; André, M. R.; Sampaio, P. H.; Fidelis Junior, O. L.; Teixeira, M. M. G.; Marques, L. C. First report of *Trypanosoma vivax* outbreak in dairy cattle in São Paulo state, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 21(2): 118-124, 2012.
- Edmonson, A.J.; Lean, I.J.; Weaver, L.D.; Farver, T.; Webster, G. A. Body condition scoring chart of Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, 72(1): 68-78, 1989.
- Guerra, N. R.; Farias, M. P. O.; Guerra, H. M. M. S.; Nascimento, G. G.; Dantas, A. C.; Guimarães, J. A.; Souto, P. C.; López, I. Y. T.; Santos, J. A. M.; Alves, L. C. Importancia de la detección de ADN de *Trypanosoma vivax* en bovinos lecheros. **Bioma**, 84(4): 39-43, 2015.
- Osório A.L.A.R.; Madruga C.R.; Desquesnes M.; Soares C.O.; Ribeiro L.R.R.; Da Costa C.G. *Trypanosoma (Duttonella) vivax*: its biology, epidemiology, pathogenesis, and introduction in the New World: a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 103(1): 1-13, 2008.
- Pimentel, D. S.; Ramos, C. A. N.; Ramos, R. A. N.; Araújo, F. R.; Borba, M. L.; Faustino, M. A. G.; Alves, L. C. First report and molecular characterization of *Trypanosoma vivax* in cattle from state of Pernambuco, Brazil. **Veterinary Parasitology**, 185(2-4): 286-289, 2012.
- Riet-Correa, F. Tripanossomíase bovina. In: Riet-Correa, F.; Schild, A.L.; Lemos, R.A.A.; Borges J.R.J. **Doenças de ruminantes e equinos**. 3ª ed. São Paulo: Varela, 2007. p. 696-701.
- Rodrigues, A. C.; Campaner, M.; Takata, C. S.; Dell'Porto, A.; Milder, R. V.; Takeda, G. F.; Teixeira, M. M. Brazilian isolates of *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri*: diagnosis and differentiation of isolates from cattle and water buffalo based on biological characteristics and randomly amplified DNA sequences. **Veterinary Parasitology**, 116(3): 185-207, 2003.
- Silva, R. A. M. S.; Davilla, A. M. R.; Ramirez, L.; Pellegrin, A. O. Abortions caused by *Trypanosoma vivax* in bovines from Pantanal of Pocóne, MT, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 92: 123, supl. 1, 1997.
- Silva, R. A. M. S.; Ramirez, E. S. S. L. L.; Souza, S. S.; Ortiz, A. G.; Pereira, S. R.; Dávila, A. M. R. Hematology of natural bovine trypanosomosis in the Brazilian Pantanal and Bolivian Wetlands. **Veterinary Parasitology**, 85(1): 87-93, 1999.
- Smith, R. D.; Evans, D. E.; Martins, J. R.; Ceresér, V. H.; Correa, B. L.; Petraccia, C.; Cardozo, H.; Solari, M.A.; Nari, A. Babesiosis (*Babesia bovis*) stability in unstable environments. **Annals of the New York Academy of Science**, 916(1): 510-520, 2006.
- Weiss, D. J.; Wardrop, J. W. 6th ed. **Schalm's veterinary hematology**. Iowa: John Wiley & Sons, 2011. 1232p.