



**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

Trabalho de Conclusão de Residência

DERMATOPATIAS NODULARES EM EQUINOS: CARACTERIZAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DE 20 CASOS NOS ANOS DE 2016-2020 DO HOSPITAL VETERINÁRIO DA FMVZ-USP

Luiz Augusto Santana Silva

São Paulo

2021

DERMATOPATIAS NODULARES EM EQUINOS: CARACTERIZAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DE 20 CASOS NOS ANOS DE 2016-2020

Luiz Augusto Santana Silva¹; Jamile M. Garcia¹; Julio D. Spagnolo²; Carla B. Belli²; Lilian R. M. de Sá^{1*}.

¹Serviço de Patologia Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

²Serviço de Cirurgia de Grandes Animais, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Resumo

As dermatopatias nodulares em equinos são causas frequentes do atendimento clínico e cirúrgico e, embora as neoplasias possuam casuística importante, as dermatopatias não neoplásicas representam o principal diagnóstico diferencial. Em virtude da escassez de descrição desses processos patológicos, do perfil dos animais acometidos e da dificuldade da abordagem de algumas lesões, o objetivo foi caracterizar o perfil dos animais acometidos e os padrões histopatológicos das dermatopatias nodulares não neoplásicas e linfoma de grandes células B rico em células T (LGCB-RTH), durante os anos de 2016 a 2020, utilizando microscopia óptica no diagnóstico com colorações histoquímica, polarização e realização de imuno-histoquímica. Para tanto, foi realizado estudo retrospectivo dos casos de dermatopatias nodulares não neoplásicas incluindo casos suspeitos para LGCB-RTH. Totalizaram 20 casos de 19 animais, sendo 13 deles em machos e 7, em fêmeas, com um dos machos apresentando duas lesões em tempo e localização distinta. A idade variou dos dois aos 17 anos. A raça mais acometida foi o Mangalarga Marchador contando seis casos, seguida de cinco casos em animais sem raça definida, dois casos em Brasileira de Hipismo e um caso para cada uma das seguintes raças Crioulla, Quarto de Milha, Pampa, Campolina, Árabe e WestFallen. Das localizações, a mais acometida foi a região prepucial somando sete casos, em seguida três casos para os membros torácicos, membros pélvicos e região ventral (abdominal, inguinal e peitoral); foram dois casos acometendo região periocular e um caso na região do dorso. Das lesões, 10 foram caracterizadas por dermatite nodular eosinofílica, dos quais seis tiveram diagnóstico de habronemose cutânea. Foram seis diagnósticos de tecido de granulação exuberante, dois, dermatite granulomatosa e dois, linfoma cutâneo. Em conclusão, o perfil dos cavalos acometidos, a distribuição e diagnósticos das lesões foram similares aos descritos em literatura, mas verificou-se a necessidade da padronização da representação microscópica de casos suspeitos para habronemose cutânea, foram destacadas a imprecisão da biópsia incisional para o diagnóstico de lesões nodulares e a importância de diferenciar o linfoma de grandes células B rico em células T de lesões inflamatórias mononucleares.

- 61 **Palavras-chave:** tumores cutâneos, animais de grande porte, dermatopatologia, linfoma
- 62 cutâneo

63 **Abstract**

64 The nodular dermopathies in equines are frequent causes of clinical and surgery care,
65 although the neoplasms are important, non-neoplastic dermatopathies are the main differential
66 diagnosis. Due to the lack of description about these pathological processes, profile of
67 affected animals and difficulty in approaching some injuries, the goal was to characterize the
68 profile of the affected animals and the patterns of non-neoplastic nodular dermopathies and T-
69 cell-Rich Large B cell lymphoma (TCRLBCL), during 2016 to 2020, using optical
70 microscopy to perform the diagnoses in slides with histochemical stain, polarization and
71 immunohistochemistry. For this purpose, a retrospective study in non-neoplastic nodular
72 dermopathies cases and suspected cases for TCRLBCL was performed. In total we had 20
73 cases of 19 animals, 13 was males and 7 females, one male was showing two lesions in a
74 different time and location. Age ranged from two to 17 years. The most affected breed was
75 Mangalarga Marchador totalizing six cases, after five cases in mixed-breed animals, five
76 cases in Brasileira de Hipismo and one case in each of following horses: Crioula, Quarto de
77 Milha, Pampa, Campolina, Árabe and WestFallen. About lesions location, the most affected
78 locations were preputial region totalizing seven cases, and then three cases in thoracic limbs,
79 posterior limbs and ventral region (abdominal, inguinal and pectoral); there were two cases in
80 periocular region and one case in dorsal region. These lesions, 10 were characterized by
81 nodular eosinophilic dermatitis where six lesions were cutaneous habronemiasis. There were
82 six diagnoses of exuberant granulation tissue, two granulomatous dermatitis, and two
83 cutaneous lymphoma. In conclusion, the profile of affected animals, injuries distribution e
84 diagnoses were similar to literature reports, but we conclude the necessity of patronization
85 about trimming in habronemiasis suspected cases, highlight to incisional biopsy imprecision
86 in nodular lesions diagnostic and the importance of differentiation for TCRLBCL to
87 inflammatory mononuclear lesions.

88

89

90

91

92

93

94

95

96

97 **Keywords:** cutaneous tumors, big animals, dermatopathology, cutaneous lymphoma

98 INTRODUÇÃO

99 As formações nodulares cutâneas em equinos possuem elevada importância na rotina da
100 clínica médica e cirúrgica desta espécie, da qual revela como principais lesões os processos
101 neoplásicos como sarcoide, carcinoma espinocelular e papiloma (1). Embora esses processos
102 nodulares neoplásicos tenham alta ocorrência, as dermatopatias nodulares não neoplásicas,
103 divididas em inflamatórias e proliferativas, são de igual relevância e interesse, além de serem
104 os principais diagnósticos diferenciais. No Brasil, por exemplo, sabe-se que as lesões
105 inflamatórias nodulares com padrão eosinofílico e o tecido de granulação exuberante, estão
106 entre as cinco lesões mais frequentes (1,2).

As lesões nodulares não neoplásicas em equinos apresentam uma distribuição de ocorrência difusa no território brasileiro, porém, estudos epidemiológicos prévios mostraram que as condições patológicas serão diferentes de acordo com os países abordados e, também dentro deles, pois estas estão associadas com a temperatura da região, época do ano, características do terreno, presença de vetores e patógenos circulantes (2,3). Assim, destaca-se a importância da correlação entre clínica, perfil do animal, realização de exame histopatológico e exames complementares para diagnósticos de doenças cutâneas nodulares infecciosas, ou não, e para a conclusão final da condição patológica do animal, bem como para proteger os médicos veterinários e outros que tenham contato com os animais de patógenos zoonóticos (3–5).

117 No que se diz respeito à essas dermatopatias tumorais não neoplásicas em equinos, os
118 principais processos reconhecidos são habronemose, granuloma eosinofílico, pitiose, lesões
119 por picada de artrópodes e tecido de granulação exuberante (2,6). A habronemose cutânea
120 com ocorrência comum nos períodos de calor é causada por três parasitos larvares que
121 colonizam o estômago do equino, a *Habronema muscae*, *Habronema majus* e *Draschia*
122 *megastoma*; no entanto, para que o quadro dermatológico aconteça é necessário que o

123 mosquito deposite as larvas em alguma ferida cutânea pré-existente ou que a larva penetre a
124 pele intacta caracterizando um ciclo cutâneo, assim como pode ocorrer em mucosa genital,
125 cérebro (ciclo errático), pulmões e fígado (7). Posteriormente, nas apresentações cutâneas, as
126 larvas invadem a derme profunda e provocam resposta eosinofílica acentuada e crônicas
127 granulomatosas (8,9). Há importantes diagnósticos diferenciais a serem considerados na
128 ausência da visualização da estrutura larvar, o primeiro deles é a pitiose causada pelo *Pythium*
129 spp, que se trata de um oomiceto filamentoso atualmente classificado no reino Stramenopila,
130 separando-se dos verdadeiros fungos (10). A pitiose é a doença causada por esse oomiceto
131 adquirida quando o animal busca ingerir água ou habita pastagem em áreas alagadas, uma vez
132 que o zoósporo exibe seu ciclo em ambientes aquáticos, e a partir de uma lesão cutânea prévia
133 infecta o animal (11). O outro diagnóstico diferencial entre as dermatopatias nodulares é o
134 granuloma eosinofílico, para o qual a etiologia é incompletamente compreendida, porém,
135 consideram as hipóteses de reação à picada de inseto ou dermatite atópica (12). Considerando
136 os padrões lesionais e etiologias diferentes, o diagnóstico e caracterização histopatológica
137 apresenta grande relevância para a adequada abordagem terapêutica e melhor prognóstico
138 (3,13).

139 O tecido de granulação é uma lesão proliferativa frequente na rotina da clínica médica
140 de equinos acima dos seis meses de idade, essa, apresenta alguma similaridade com os
141 quadros de quebedo em humanos, porém, apresenta particularidades microambientais
142 relacionadas com a ausência de colágeno queoidal e a presença de miofibroblastos nos
143 equinos (14). Está associada com uma lesão prévia que tem como intenção a cicatrização
144 tecidual por segunda intenção, no entanto, devido às desordens que ocorrem na proliferação
145 fibroblástica e síntese de colágeno pelos fibroblastos, ao atraso da contração da ferida pelos
146 miofibroblastos, oclusão da vasculatura profunda e consequente incitação contínua de
147 neovascularização, ocorre a formação de um tecido de granulação volumoso, repleto de

148 angiogênese, fibroblastos e colágeno acompanhado por vezes de ulceração e processo
149 inflamatório crônico (15). Esse processo ocorre na maioria das vezes nos membros torácicos e
150 pélvicos, onde a resposta inflamatória é mais pronunciada quando comparadas a região de
151 tronco, além da característica inflamatória, a isquemia tecidual provocada por uma oclusão de
152 vasos cutâneos e a apoptose celular participam da contínua estimulação inflamatória e de
153 reparação tecidual (14,16).

154 Dentre os processos cutâneos nodulares, há destaque o linfoma de grandes células B
155 rico em células T, que ocorre principalmente nos equinos e gatos e, por sua vez, pode exibir
156 uma apresentação clínica multinodular cutânea que pode ser confundida com os demais
157 processos nodulares e que segundo relatos recentes representa o principal subtipo de linfoma
158 diagnosticado em equinos (17). Esse processo se assemelha muito a dermatopatia inflamatória
159 granulomatosa, já que sua composição heterogênea de células com grandes linfócitos
160 neoplásicos B, pequenos linfócitos T e infiltração macrofágica e de células gigantes pode
161 levar a confusão com resposta difusa granulomatosa (18,19). Contudo, apesar da semelhança
162 morfológica, a abordagem terapêutica é diferente, assim como o prognóstico e o custo de
163 tratamento (17,18). Quanto ao seu comportamento biológico, os casos onde a excisão
164 cirúrgica é possível, mostram baixa recorrência local e sobrevida longa ainda pouco
165 determinada, mas com relatos de sobrevida acima dos 10 anos, sem ainda um protocolo
166 específico proposto para o tratamento dessa entidade neoplásica (18,20)

167 Nesse sentido, doenças como infecção por *Habronema* e *Onchocerca*, pitiose,
168 esporotricose, histoplasmose, feohifomicose, herpesvírus tipo 2, granulomas idiopáticos,
169 micobacteriose e granuloma por corpo estranho necessitam ser considerados como
170 diagnósticos diferenciais dos processos nodulares e em especial do linfoma de grandes células
171 B rico em linfócitos T (21,22). Reconhecidos os principais diagnósticos diferenciais das

172 lesões granulomatosas *versus* linfoma cutâneo, justifica-se a inclusão dessa neoplasia cutânea
173 nesse estudo.

174 Embora atualmente tenham estudos que levantem e descrevam lesões nodulares
175 cutâneas principalmente concentradas na América do Norte e Europa, já no Brasil os
176 trabalhos são escassos e não há descrição clara do perfil dos animais acometidos.
177 Recentemente, a grande parte dos artigos são oriundos da região Sul do Brasil (23). Levando
178 em conta a necessidade e importância de descrever essas dermatopatias nodulares não
179 neoplásicas, com exceção dos casos suspeitos para linfoma de grandes células B rico em
180 células T cutâneo que foram inclusos, em equinos na capital de São Paulo, nosso estudo
181 aborda a caracterização do perfil dos animais e, da microscopia dessas lesões que ocorreram
182 durante os anos de 2016-2020.

183

184 **MATERIAL E MÉTODOS**

185 O estudo foi retrospectivo e baseado no arquivo do Hospital Veterinário da FMVZ-USP com
186 amostras de tecido biológico oriundo dos atendimentos do serviço de Clínica Médica e
187 Cirúrgica de Equinos submetidos a análise para o Serviço de Patologia Animal. Os
188 critérios de inclusão foram os diagnósticos clínico e histopatológico de dermatopatias
189 nodulares não neoplásicas e linfoma cutâneo em equinos, de qualquer raça ou sem raça
190 definida, gênero ou idade, que foram atendidos no Hospital Veterinário (HOVET) da FMVZ-
191 USP durante os anos de 2016 a 2020.

192 Das fichas dos animais foram retiradas as informações quanto à raça, sexo, idade e
193 localização da lesão. O levantamento dos casos submetidos à análise histopatológica pelo
194 Serviço de Patologia Animal do Departamento de Patologia Animal (VPT) da FMVZ-USP.
195 Os dados macroscópicos foram obtidos das fichas analisadas junto ao Serviço de Patologia
196 Animal. As localizações das lesões foram divididas em membros torácicos, membros

197 pélvicos, região ventral (abdominal, inguinal e peitoral), prepúcio, região de dorso e
198 periocular.

199 O diagnóstico foi realizado mediante o uso de achados clínicos, macroscopia da lesão
200 e aspectos microscópicos. As lâminas de histopatologia analisadas foram novamente
201 recoradas por hematoxilina e eosina e, quando necessário, foram utilizadas as colorações
202 especiais de Ácido Periódico de Schiff (PAS), coloração de Grocott, Ziehl Neelsen e Giemsa.
203 Os casos de tecido de granulação exuberante e dermatites eosinofílicas por habronemose
204 foram corados, também, com Picrosírius e foram submetidos à polarização no microscópio
205 Eclipse Ni-U, Nikon, Japão. As lâminas foram analisadas por dois patologistas que
206 desconheciam a identificação do caso e o diagnóstico prévio. Os tecidos biológicos em lâmina
207 de vidro foram examinados em microscópio óptico seguindo os critérios de diagnóstico
208 estabelecidos em literatura. As fotomicrografias foram realizadas no microscópio Opticam
209 O400 (Estados Unidos da América), com sistema de captura de 5.2MP e sistema de captura
210 utilizando câmera digital DS3 acoplada ao microscópio NiU (Nikon, Japão).

211 Os dados epidemiológicos, clínicos e anatomo-patológicos foram organizados em
212 quadros e gráficos como idade, gênero, raça, localização mais acometida por lesões e
213 diagnóstico dos processos. Para a análise microscópica foram comparados os achados mais
214 prevalentes que foram agrupados segundo o padrão morfológico predominante, assim,
215 possibilitando o compreendimento dos padrões de repetição morfológica que os casos com o
216 mesmo diagnóstico apresentam. Posteriormente, os casos examinados foram agrupados
217 segundo os seus diagnósticos gerais, tais como: tecido de granulação exuberante, dermatite
218 eosinofílica, dermatite granulomatosa mononuclear e linfoma cutâneo.

219 Os dois casos com diagnóstico histopatológico para linfoma cutâneo não
220 epiteliotrópico, sugerindo linfoma de grandes células B rico em células T e histiócitos foram
221 submetidos à reação de imunohistoquímica para caracterização fenotípica das células. O

222 processamento dos blocos de parafina incluiu cortes histológicos de cinco micrômetros de
223 espessura e adesão dos fragmentos obtidos em lâminas de vidro com adesivo organossilano
224 (código K580, adesive, StarFrost, Knittel glass, Alemanha) e mantidos em estufa a 60°C por
225 24 horas. Os cortes foram, a seguir, desparafinados em dois banhos de xanol a temperatura
226 ambiente durante 20 e 10 minutos, respectivamente. Posteriormente, foram hidratados em
227 sequência decrescente de etanol por 5 minutos, ou seja, etanol absoluto por duas vezes, a 95%
228 e 70%, e lavados em água destilada por 5 minutos e em solução tampão de fosfato, pH 7,4 por
229 5 minutos.

230 O bloqueio de peroxidase endógena foi realizado em câmara escura por três
231 incubações em água oxigenada 3% por 10 minutos, seguido de água corrente por 5 minutos,
232 água destilada por 5 minutos e deixadas em PBS pH 7,4, por no mínimo 5 minutos. Para
233 recuperação antigênica foi realizado em banho maria com tampão citrato pH 6,0, a 95°C por
234 20 minutos. Para o bloqueio de proteínas endógenas inespecíficas, as lâminas foram
235 incubadas bloqueio de proteínas fornecido no kit de revelação (Spring, cod DPB 125, Biogen)
236 por 10 minutos. A etapa seguinte foi a incubação dos espécimes com anticorpo primário CD3
237 (código A0425, Dako) e CD20 pab (Dako). Esses foram diluídos em solução de albumina
238 bovina, fração V, a 1% (cod. A9647, Sigma). A diluição usada para o anticorpo policlonal
239 anti-CD20 de coelho foi de 1:100 e para o anticorpo policlonal anti-CD3 de coelho foi de
240 1:100, cada anticorpo seguiu para a incubação *overnight* em câmara úmida a 4°C.

241 Após a incubação, as lâminas foram lavadas em PBS duas vezes por 5 minutos. O
242 sistema de visualização envolveu a incubação com o anticorpo secundário (polímero Reveal
243 complement (Spring, cod. DCMT-125) em câmara úmida por 10 minutos a 20-25 °C. O passo
244 seguinte foi a incubação com terciário (Reveal HRP conjugate, Spring – cod. DHRR-125) por
245 15 minutos a 20-25 °C. A revelação da reação foi com solução cromógena de
246 diaminobenzidina (DAB, 3,3' – diaminobenzidine, cod. D5637, Sigma) a 0,03% acrescida e

247 ativada com 1,2 ml de água oxigenada 3%. O tempo mínimo de revelação foi de 1 minuto
248 com bloqueio em água.

249 Por fim, os cortes foram lavados em água corrente por 10 minutos, contracorados com
250 hematoxilina de Harris (Merck), lavados abundantemente em água corrente, desidratados em
251 etanol, cujas soluções estarão em concentração crescente. A montagem das lâminas foi feita
252 com resina Permount (Fischer scientific, cod. SP 15-1000).

253 A reação foi realizada com controle positivo de tecido linfoide e tecido sem a adição
254 do anticorpo primário para atestar a veracidade da mesma. O resultado foi considerado
255 positivo quando as células exibiram marcação em marrom no citoplasma e membrana e foi
256 considerado na interpretação do resultado a distribuição, a quantidade de células marcadas em
257 porcentagem e o tipo de célula marcado.

258

259 **RESULTADOS**

260 Foram estudadas 20 lesões nodulares cutâneas provenientes de biópsia incisional e excisional,
261 de 19 animais, sendo que um deles apresentou lesões cutâneas em duas localizações diferentes
262 (metacarpo e escápula) e em épocas distintas. No que se diz respeito ao sexo, 13 (68%)
263 animais eram machos e 7 (32%) foram fêmeas. A idade dos animais variou de 19 dias aos 17
264 anos de idade, com média de idade de 8,61 e desvio padrão de 4,89 anos. O predomínio das
265 lesões ficou entre os 4 e 8 anos de idade (9/19), totalizando 47,36% das dermatopatias
266 estudadas concentradas nessa faixa etária. O Quadro 1 apresenta os dados epidemiológicos e
267 clínicos dos casos estudados.

268 Com relação as raças acometidas, foram 6 (31,57%) casos em Mangalarga Marchador,
269 5 (26,31%) em sem raça definida, 2 (10,52%) em Brasileira de Hipismo, e completando 1
270 (5,26%) caso para cada uma das raças: Crioula, Quarto de Milha, Campolina, American
271 Trotter e Árabe (gráfico 1).

272 As localizações das lesões foram de 7 (35%) casos no prepúcio, 4 (20%) nos membros
 273 pélvicos, 3 (15%) nos membros torácicos, 3 (15%) na região ventral, 2 (10%) na região
 274 periocular e 1 (5%) no dorso (Gráfico 2). Apenas um caso (número 16) não constava a
 275 localização precisa da lesão, informando somente o membro acometido. A localização exata
 276 das lesões pode ser acessada no quadro 1.

277 Das 20 lesões, 10 (50%) delas foram diagnosticadas por dermatites eosinofílicas, 6
 278 (30%) por tecido de granulação exuberante, 2 (10%), linfomas de grandes células B rico em
 279 células T e 2 (10%), por dermatite granulomatosa mononuclear (gráfico 3).

280

281 | **Quadro 1.** Distribuição dos casos de equinos com diagnóstico de dermatite nodular cutânea
 282 | segundo sexo, idade, raça, localização topográfica das lesões e diagnóstico morfológico
 283

Nº	Sexo	Idade	Raça	Localização	Diagnóstico geral
01	M	8 anos	Mangalarga	Prepúcio	Dermatite eosinofílica por Habronemose
02	M	9 anos	Mangalarga	Boleto de MTE ¹	Dermatite eosinofílica
03	M	13 anos	SRD	Prepúcio	Dermatite eosinofílica por Habronemose
04	M	6 anos	Mangalarga	Boleto de MPD ²	Dermatite eosinofílica por Habronemose
05	F	4 anos	Árabe	periocular	Dermatite eosinofílica por Habronemose
06	F	8 anos	SRD	Inguinal direita	Dermatite eosinofílica
07	M	4 anos	Mangalarga	Metacarpo esquerdo	Dermatite eosinofílica por Habronemose
08	M	17 anos	Br. De Hipismo ³	Prepúcio	Dermatite eosinofílica e linfohistiocítica
09	M	4 anos	Mangalarga	Escápula	Dermatite eosinofílica
10	M	16 anos	Campolina	prepúcio	Dermatite eosinofílica por Habronemose
11	M	19 dias	Crioula	Peito	Tecido de granulação exuberante
12	F	10 anos	SRD	Boleto de MPD ²	Tecido de granulação exuberante
13	M	15 anos	Westfallen	Periocular	Tecido de granulação exuberante
14	M	7 anos	SRD	Prepúcio	Tecido de granulação exuberante
15	F	12 anos	SRD	Abdômen	Tecido de granulação exuberante
16	M	6 anos	Quarto de Milha	MPE ⁴	Tecido de granulação exuberante
17	F	7 anos	Br. De Hipismo	Dorso	Dermatite granulomatosa mononuclear ⁵
18	M	15 anos	Pampa	Prepúcio	Dermatite granulomatosa mononuclear ⁶
19	F	2 anos	Mangalarga	Face medial proximal de MPD ²	LGCB-RTH ⁷
20	M	4 anos	Mangalarga	Prepúcio	LGCB-RTH ⁷

284 ¹MTE = Membro torácico esquerdo

285 ²MPD = Membro pélvico direito

286 ³Br. De Hipismo = Brasileira de Hipismo

287 ⁴MPE = Membro pélvico esquerdo; Localização precisa não informada

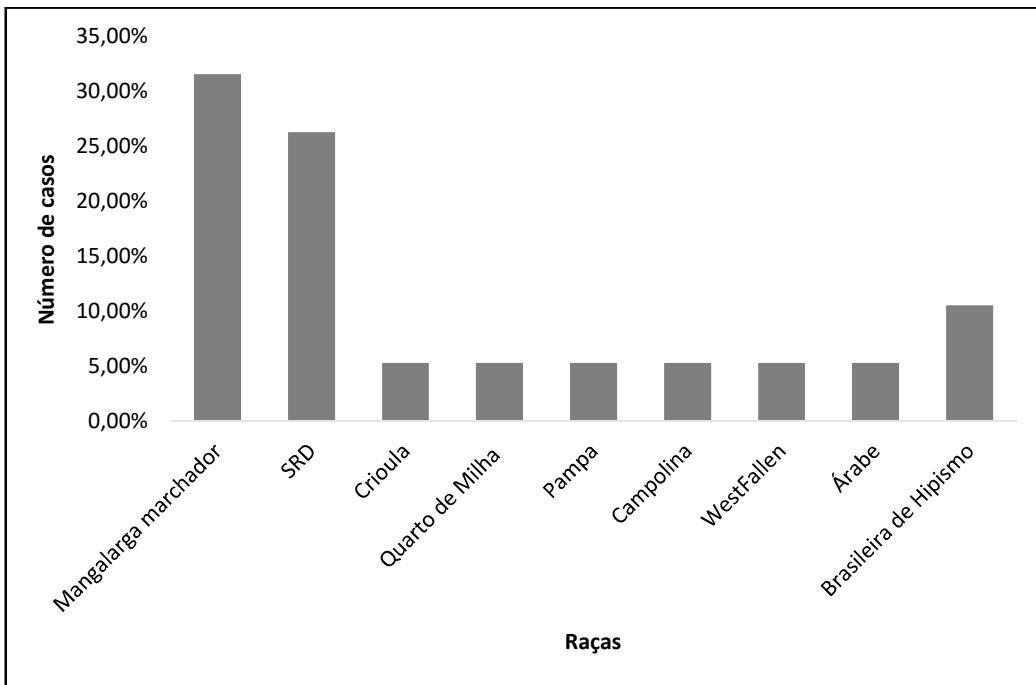
288 ⁵Dermatite por corpo estranho

289 ⁶Dermatite por *H. gingivalis*

290 ⁷LGCB-RTH = Linfoma de grandes células B rico em células T e histiocitos

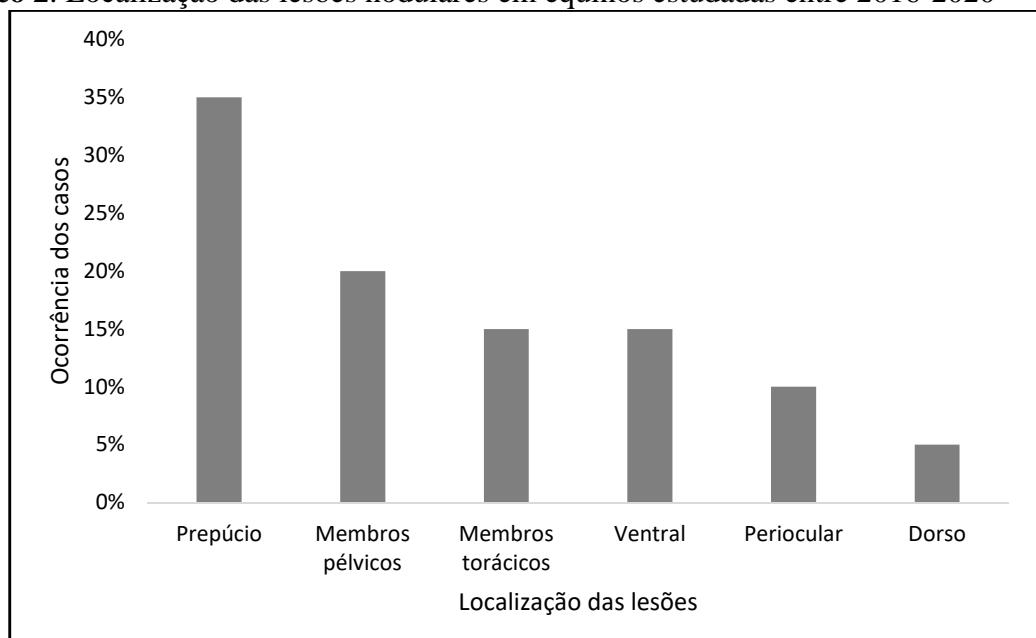
291 Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.

292
293
294
295
296
297
298 **Gráfico 1.** Raças de equinos acometidos por dermatopatias nodulares cutâneas diagnosticas
299 entre 2016-2020



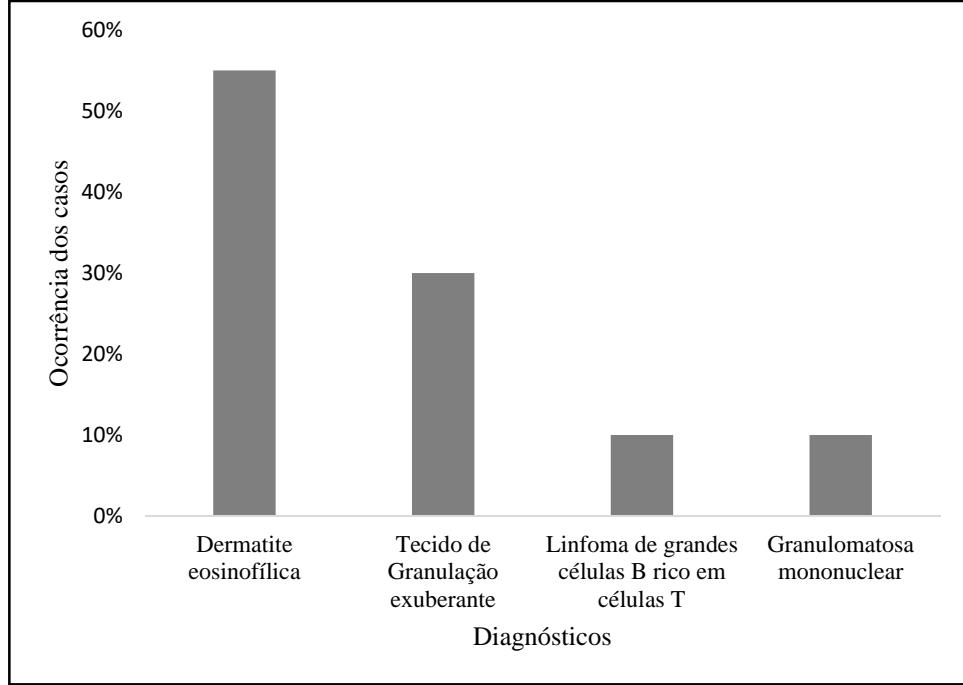
300
301 Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.
302
303

Gráfico 2. Localização das lesões nodulares em equinos estudadas entre 2016-2020



Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.

Gráfico 3. Diagnósticos morfológicos das lesões nodulares cutâneas em equinos estudados de 2016 a 2020



Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.

A análise microscópica permitiu agrupar em quatro padrões morfológicos as lesões nodulares em equinos: 1. dermatite eosinofílica difusa com ou sem presença de agente etiológico; 2. tecido de granulação exuberante; 3. Dermatite nodular granulomatosa com ou sem agente etiológico; 4. linfoma de grandes células B rico em linfócitos T.

Os equinos acometidos por dermatite eosinofílica com ou sem agente etiológico intralesional foram na maioria machos (8/10), com machos 4x mais acometidos em relação as fêmeas, com idade variando de 4 a 17 anos e com lesões localizadas em prepúcio>membros>periocular, inguinal e escapular. Em 6/10 casos foi possível observar a presença de estruturas larvares que segundo a morfologia e resposta indicavam a condição de

327 habronemose. O tamanho das larvas nos materiais examinados variou de 30 µm a 43 µm para
 328 os cortes transversais e ficaram próximo dos 150 µm para os cortes longitudinais. Em 4/10
 329 casos não foi possível identificar um agente etiológico; entretanto, era possível notar regiões
 330 multifocais de granulomas eosinofílicos com necrose multifocal, ulceração epidérmica e a
 331 inflamação eosinofílica difusa acentuada, assim como encontrado nos materiais onde as
 332 estruturas larvares eram perceptíveis. Nos seis casos de habronemose os fragmentos
 333 encaminhados foram excisionais (dado não informado), o que possibilitou fazer recortes e
 334 aprofundar os blocos várias vezes. Os diagnósticos morfológicos e o tamanho das biópsias
 335 recebidas no Serviço de Patologia Animal podem ser consultados no Quadro 2.

336

337 **Quadro 2.** Diagnóstico morfológico e tamanho das biópsias recebidas nos casos de
 338 dermatites eosinofílicas dos equinos estudados de 2016 a 2020
 339

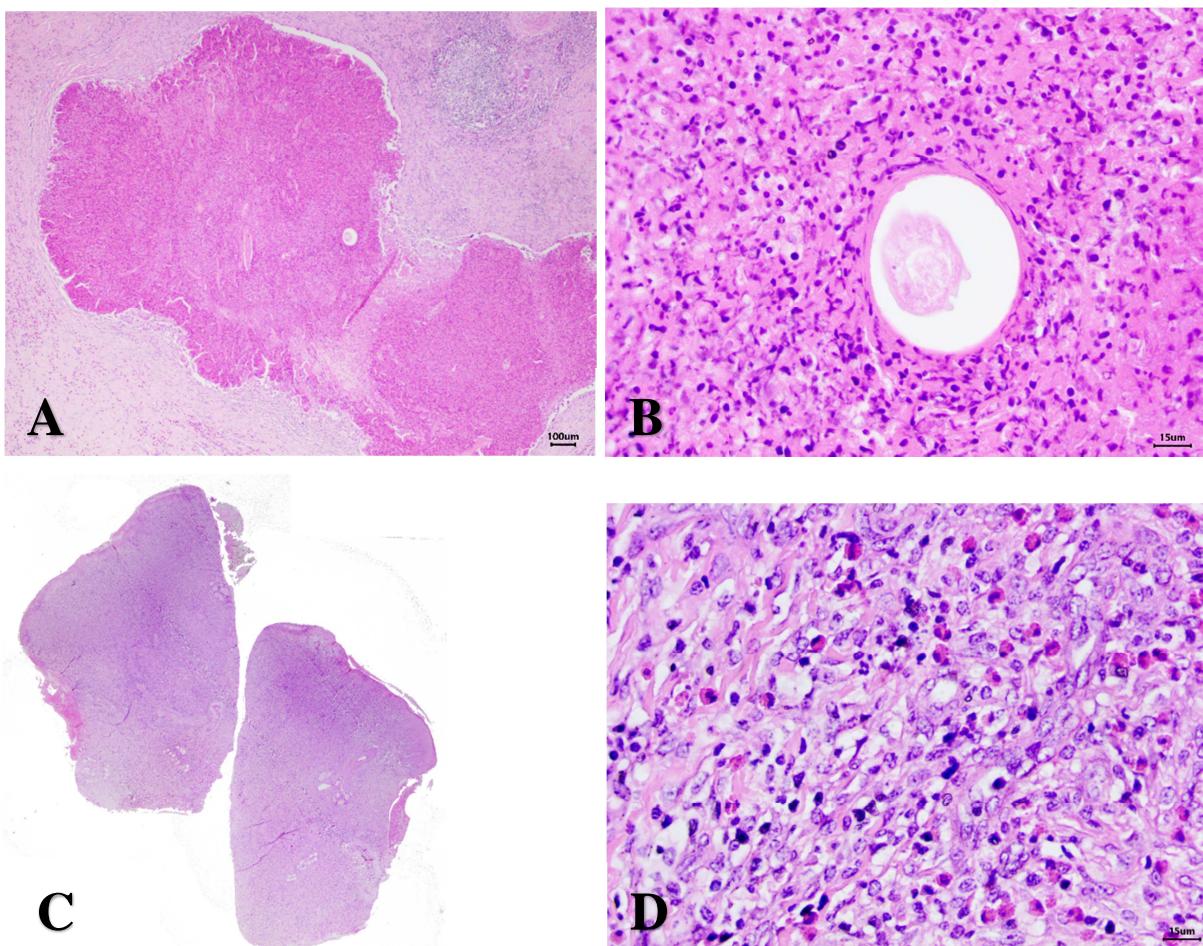
Nº	Tamanho da Biópsia	Diagnóstico morfológico	Achados secundários
01	9,7 x 6,0 x 8,6 cm e 9,5 x 3,8 x 5,6 cm	Dermatite granulomatosa eosinofílica ulcerada, difusa, marcante, com necrose multifocal e parasitos larvais intralesionais degenerados	orthoqueratose, hiperplasia epidérmica, hidradenite e inflamação perianexial linfoplasmocítica no tecido adjacente
03	1,5 x 0,8 x 1,0 cm	Dermatite granulomatosa eosinofílica ulcerada, difusa, marcante, com necrose multifocal e parasitos larvais intralesionais degenerados	crosta serocelular, paraqueratose e hiperplasia epidérmica
04	2,8 x 1,4 x 1,9 cm e 2,0 x 1,5 x 1,2 cm	Dermatite granulomatosa eosinofílica ulcerada, difusa, marcante, com necrose multifocal e parasitos larvais intralesionais degenerados	paraqueratose, hiperplasia epidérmica e furunculose
05	5,5 x 2,5 x 0,8 cm	Dermatite granulomatosa eosinofílica ulcerada, difusa, marcante, com necrose multifocal e parasitos larvais intralesionais degenerados	crosta serocelular, hiperplasia epidérmica e vasculite
07	2,5x2,0x4,0cm	Dermatite granulomatosa eosinofílica ulcerada, difusa, marcante, com necrose multifocal e parasitos larvais intralesionais degenerados	crosta serocelular, ortoqueratose, hiperplasia epidérmica e formação de tecido de granulação
10	5,0 x 3,8 x 4,0 cm e 4,5 x 4,5x 2,2 cm	Dermatite eosinofílica ulcerada, difusa, marcante, com necrose multifocal e parasitos larvais intralesionais degenerados	crosta serocelular, ortoqueratose, hiperplasia epidérmica, necrose de glândula sebácea e trombos em capilares
02	1,0 x 0,5 x 0,5 cm e 1,0 x 0,5 x 0,3 cm	Dermatite eosinofílica ulcerada, difusa, marcante, com necrose multifocal	paraqueratose, hiperplasia epidérmica e colagenólise
06	4,5 x 4,3 x 3,5 cm	Dermatite e paniculite septal eosinofílica ulcerada, difusa, moderada	crosta serocelular, paraqueratose, hiperplasia epidérmica, edema intersticial, hemorragia profunda
09	6,2 x 2,0 x 2,3 cm	Dermatite, paniculite e miosite eosinofílica ulcerada, difusa, marcante, associadas à piogranulomas com o centro necrótico na derme profunda, tecido de granulação exuberante, fibroplasia e cistos de protozoário intramiócitos compatíveis com <i>Sarcocystis</i> spp	crosta serocelular, hiperplasia epidérmica, foliculite mural e luminal neutrofílica e colagenólise
08	0,6 x 0,4 x 0,4 cm	Dermatite hiperplásica ulcerada, eosinofílica e linfohistiocítica, difusa, marcante.	crosta serocelular e hiperplasia epidérmica

340 Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.

341

342 Dois casos, dos quatro casos que não foram possíveis determinar a etiologia, tratavam-
 343 se de biópsias incisionais (dado não informado). Nestes, a lesão se caracterizou por processo
 344 inflamatório misto eosinofílico e linfohistiocítico difuso (figura 1), um desses casos, mostrava
 345 áreas de colagenólise e focos de necrose, contudo, sem um agente etiológico evidente.

346



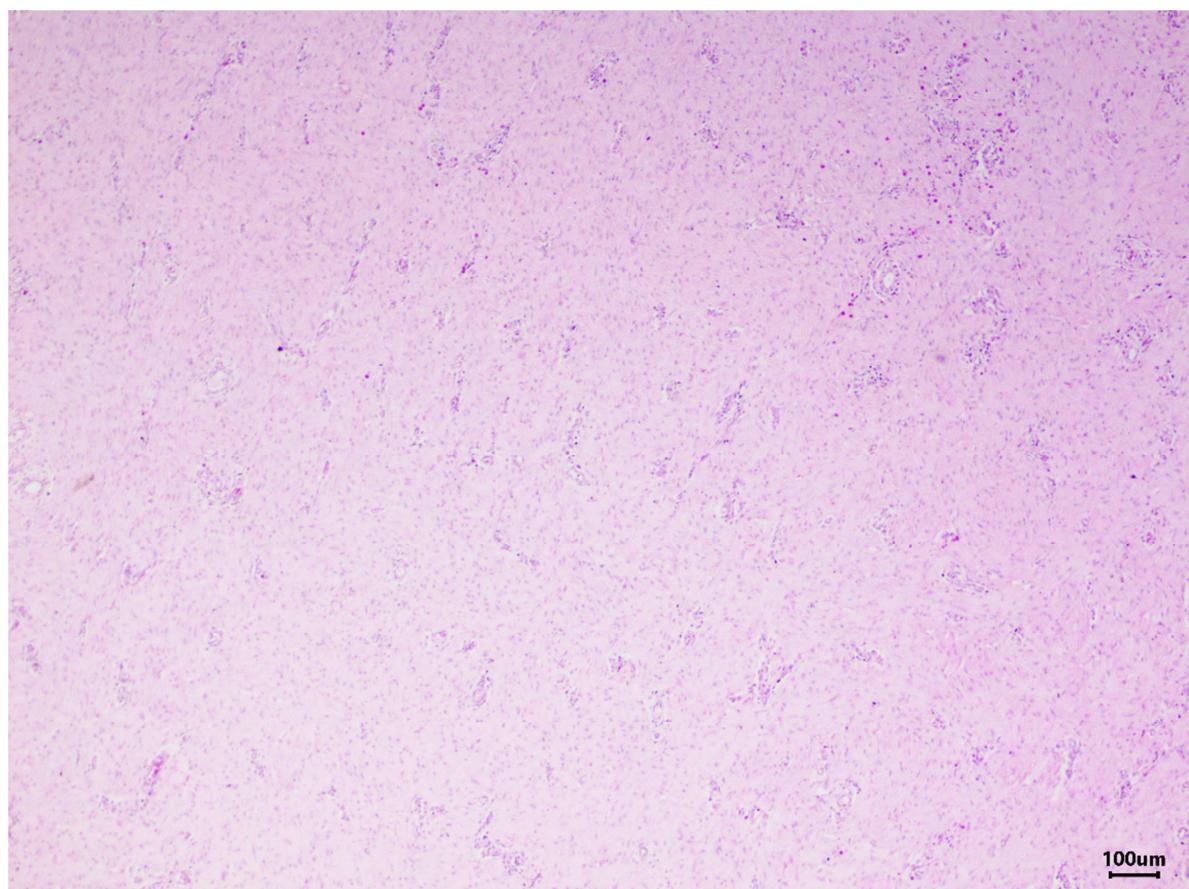
348

349

350 **Figura 1.** A. Equino, dermatite nodular eosinofílica, Habronemose cutânea, caso 03, coloração em Hematoxilina
 351 e Eosina. Notar extensa área de dermatite eosinofílica, com necrose central associada à presença de uma
 352 estrutura larvar (maior aumento na figura 1B), aumento de 40x, barra de 100 μ m. B. Maior aumento da figura
 353 1A. Há um corte transversal degenerado de uma estrutura larval, aumento de 400x, barra de 15 μ m. C. Equino,
 354 Dermatite eosinofílica e linfohistiocítica, difusa, acentuada, caso 08, coloração em Hematoxilina e Eosina.
 355 Recortes teciduais cutâneos em uma foto panorâmica representando sua extensão que compromete os fragmentos
 356 inteiros, provenientes de biópsia incisional por punch. D. Equino, Dermatite eosinofílica e linfohistiocítica,
 357 difusa, acentuada, coloração em Hematoxilina e Eosina. Maior aumento da figura 1C, revelando processo
 358 inflamatório eosinofílico e linfohistiocítico, aumento de 400x, régua de 15 μ m. Fonte: Luiz Augusto Santana
 359 Silva.

360 Os cavalos diagnosticados como tecido de granulação exuberante foram na maioria
361 machos 4/6 (com machos acometidos duas vezes mais do que as fêmeas), idade variável de 6
362 a 15 anos e cujas lesões estavam localizadas em diferentes regiões de periocular, membros,
363 prepúcio, peito e abdômen. Microscopicamente, a maioria (5/6) compartilhavam a
364 característica de ter uma ulceração epidérmica, e fibroplasia acentuada somada a
365 neovascularização, cujos vasos exibiam endotélio com aumento do volume nuclear e muitas
366 vezes organizando-se por vezes, perpendicular à epiderme e mais organizados de acordo com
367 a maturação do processo, no entanto, em todos havia o predomínio de tecido frouxo e com
368 pouca deposição de colágeno próximo a ulceração e nos trechos mais profundo aumento da
369 organização dos vasos e maior deposição de fibras de colágeno (figura 2).

370

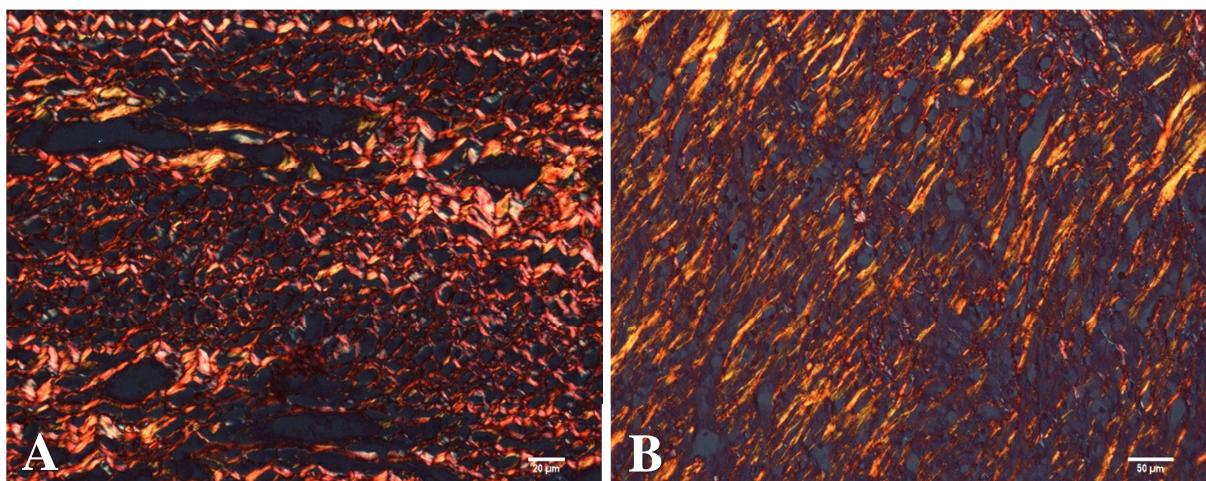


371 **Figura 2.** Equino, lesão nodular cutânea caracterizada por tecido de granulação exuberante, caso 15. O tecido é
372 densamente povoado por fibroblastos, colágeno pouco organizado e neovascularização, cujos vasos se
373 organizam e tendem a se disporem perpendiculares aos feixes de colágeno. Recorte corado em Hematoxilina e
374 Eosina, aumento de 40x, régua de 100 μm. Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.
375

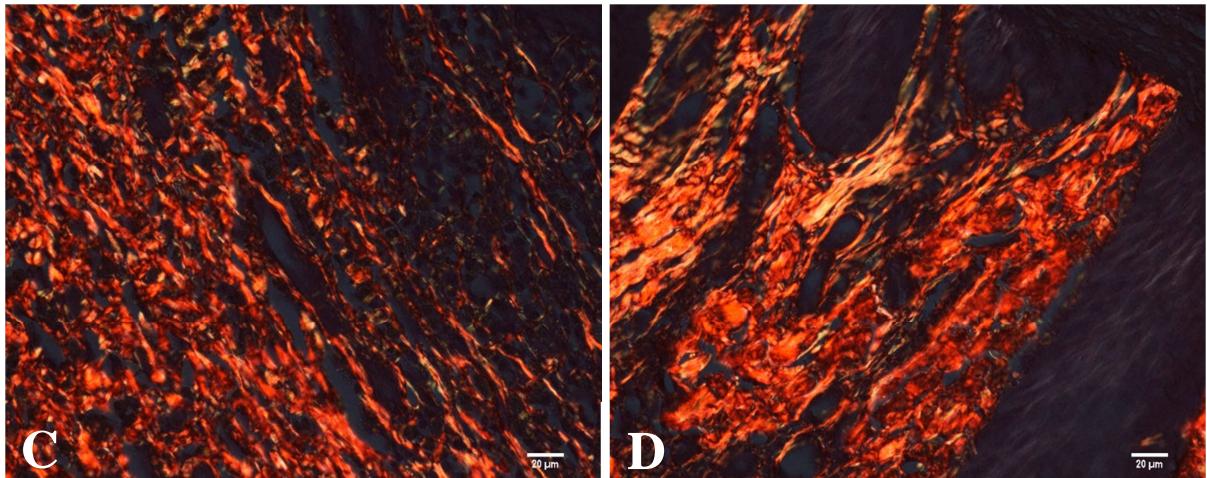
376

377 À coloração com Picosirius e posterior polarização, revelou que os tecidos de
378 granulação exuberante são compostos predominantemente por colágeno do tipo 1. Apenas
379 nas regiões próximas aos vasos que, se organizam em trajeto perpendicular nesses tecidos
380 neoformados, mostraram a presença de discreta quantidade de colágeno tipo III. As
381 dermatites por habronemose também se apresentavam em sua totalidade por colágeno do tipo
382 I, no entanto, chamou a atenção a organização e espessura das fibras colágenas que se
383 diferiam nos dois processos. O tecido de granulação exuberante exibiu fibras colágenas
384 delgadas, em projeções paralelas discretamente tortuosas (figuras 3.A e 3.B). Apenas nas
385 circunjâncias dos leitos vasculares formados foi vista a presença de colágeno tipo III.
386 Enquanto que os casos de habronemose as fibras colágenas eram mais espessas e
387 eventualmente notavam-se agregados densos de colágeno (figuras 3.C). Como comparativo,
388 uma derme normal apresenta-se densamente colagenosa, por fibras colágenas do tipo 1 (figura
389 3.D).

390



391



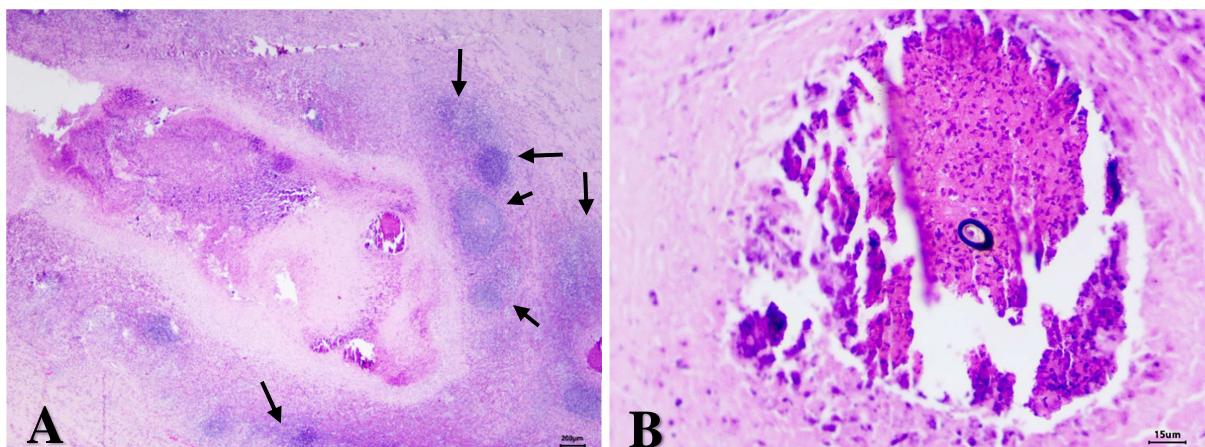
392 **Figura 3.** Lâminas coradas em Picrosírus e submetidas a polarização. **A.** Equino, tecido de granulação
 393 exuberante, caso 14. Notar que as fibras amareladas de colágeno I são paralelas e discretamente tortuosas, com
 394 espessura delgada, aumento de 400x, régua de 20 μm . **B.** Equino, tecido de granulação exuberante, caso 11. As
 395 fibras de colágeno I são paralelas e mostram-se mais retilíneas nessa imagem, aumento de 200x, régua de 50 μm .
 396 **C.** Equino, dermatite eosinofílica por habronemose, caso 05. Notar que as fibras são mais desorganizadas,
 397 possuem maior espessura e formam pequenos agregados mais densos, aumento de 400x, régua de 20 μm . **D.**
 398 Equino, derme superficial normal, caso 05. As fibras são de colágeno tipo I com alta densidade, aumento de
 399 400x, régua de 20 μm . Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.

400

401

402 Cavalos com o diagnóstico de dermatite granulomatosa mononuclear foram de ambos
 403 os gêneros, idade 7 ou 15 anos e as lesões estavam localizadas em dorso e prepúcio. Em
 404 ambos casos (número 17 e 18) foram encontrados agente etiológico intralesional. O caso 17
 405 mostrou processo inflamatório difuso, macrofágico e linfoplasmocítico, com formação de
 406 folículos linfoides na derme profunda, onde centralmente observou-se extensa área de
 407 necrose, células gigantes multinucleadas do tipo corpo estranho e presença de estrutura
 408 circunscrita, refringente à microscopia, pigmentada e medindo 35 x 23 μm e com uma parede
 409 de 8,68 μm de espessura, compatível com corpo estranho (figura 4). Já o caso 18, revelava um
 410 processo inflamatório dérmico composto por histiócitos, macrófagos epitelioides e células
 411 gigantes multinucleadas, além de linfócitos e plasmócitos, com destaque para a visualização
 412 de numerosos parasitos compatíveis com *Halicephalobus* sp. em diferentes estágios de
 413 desenvolvimento, compreendendo ovos, larvas e fêmeas adultas. O nematoide adulto
 414 apresentava de 250 a 460 μm de diâmetro, já o ovo media 55 μm . Nesse mesmo caso de
 415 infecção por *Halicephalobus* sp., o cavalo também apresentava carcinoma espinocelular
 416 adjacente à lesão prepucial (figura 5).

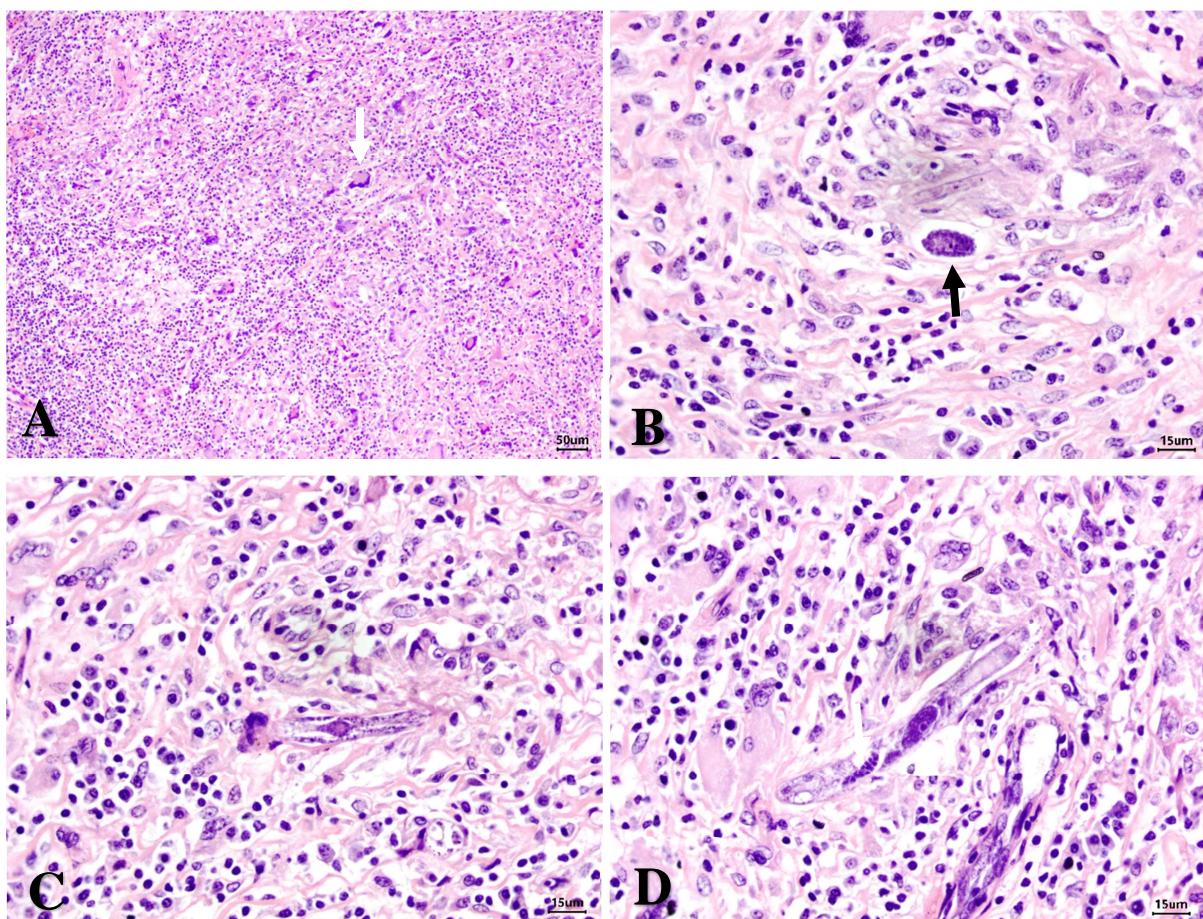
417



418
419
420
421
422
423
424
425

Figura 4. A. Equino, dermatite granulomatosa com presença de corpo estranho, caso 17. O processo inflamatório revela uma distribuição nodular a difusa, com importante área central de necrose. Merece destaque a formação de folículos linfoides na periferia da necrose (setas), contendo vários linfócitos jovens, aumento de 200x, régua de 200 μ m. B. Equino, dermatite granulomatosa com presença de corpo estranho. Notar que no centro da necrose há um corpo estranho com parede espessa, pigmentada (enegrecida) e refringente, aumento de 400x, régua de 15 μ m. Recortes corados em Hematoxilina e Eosina. Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.

426



427
428
429
430
431
432

Figura 5. Equino, com dermatite granulomatosa por *H. gengivalis*, caso 18. A. Notar a alta celularidade composta principalmente por histiócitos, linfócitos e células gigantes multinucleadas (seta), aumento de 10x, régua de 50 μ m. B. Em meio ao processo inflamatório mononuclear visualiza-se um zigoto em desenvolvimento, aumento de 400x, régua de 15 μ m. C. Observar um corte longitudinal do parasito que permite a visualização do esôfago, aumento de 400x, régua de 15 μ m. D. Neste corte longitudinal é possível observar o ovário (seta)

433 flexionado dorsalmente e um ovo grande uninucleado (cabeça de seta), aumento de 400x, régua de 15 µm. Fonte:
434 Luiz Augusto Santana Silva.

435

436 Os cavalos com diagnóstico de linfoma cutâneo não epiteliotrópico, morfologicamente
437 compatíveis com linfoma de grandes células B rico em células T e macrófagos. Um dos
438 animais (caso 20) era um macho de 4 anos de idade, com lesão prepucial (figura 6) e o outro
439 uma fêmea de 2 anos de idade com lesão em região de coxa do membro pélvico direito (caso
440 19). Ambas lesões mostravam o processo dérmico nodular profundo, bem delimitado, mas
441 não encapsulado, composto por células que se organizavam em um tapete celular denso,
442 entremeadas por discreto estroma fibrovascular. As células apresentavam-se heterogêneas,
443 onde 10% da população aproximadamente, exibia linfócitos grandes com o núcleo medindo
444 mais de duas hemácias de diâmetro, cromatina frouxa e frequente nucléolo central único.
445 Havia outra população linfocitária essa composta por pequenas células, de núcleo medindo de
446 1 a 1,5 hemácia de diâmetro e cromatina densa, sem percepção de nucléolo (figura 7).
447 Acompanhavam nas duas lesões, alguns plasmócitos, eventualmente mostrando aparência de
448 células de Mott e, por fim, uma quantidade moderada de macrófagos, ocasionalmente,
449 multinucleados (células gigantes multinucleadas). Foram realizadas as colorações
450 histoquímicas Ziehl Neelsen, Grocott e PAS, todas negativas para agentes infecciosos.

451 A reação de imuno-histoquímica revelou marcação heterogênea e que evidenciou
452 número menor de células com núcleos grandes atípicos positivas para CD20 (figuras 8A e
453 9A) e maior número de células menores positivas para CD3 (figuras 8B e 9B). Os resultados
454 foram interpretados e compatíveis com linfoma de grandes células B rico em linfócitos T e
455 histiócitos.

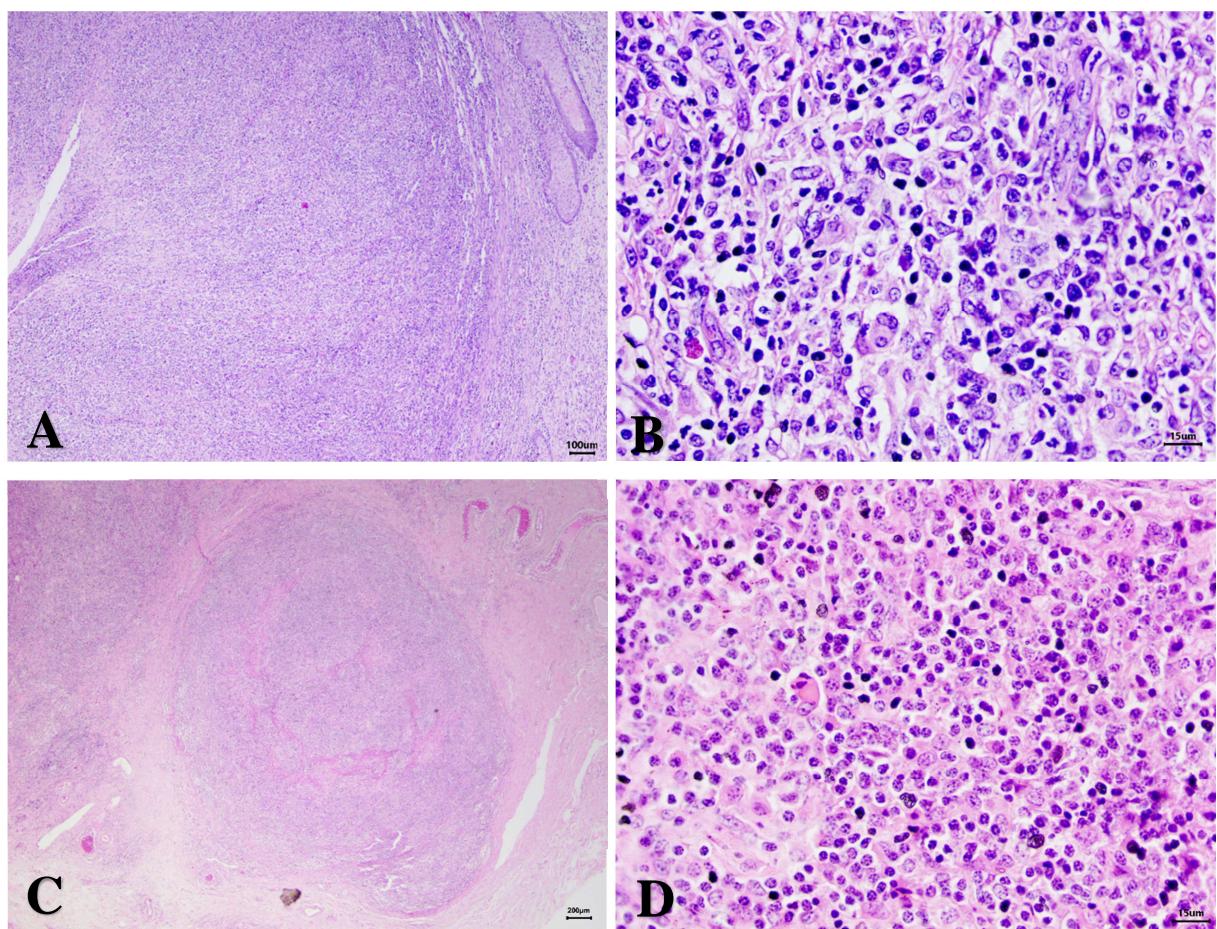
456



457
458
459
460
461

Figura 6. Equino, aspecto clínico de lesão multinodular de Linfoma cutâneo de grandes células rico em pequenas células e histiócitos, caso 20. Notar que a lesão revela nódulos distribuídos no subcutâneo na região do prepúcio e inguinal (cabeça de seta). Alguns estavam ulcerados (seta). Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.

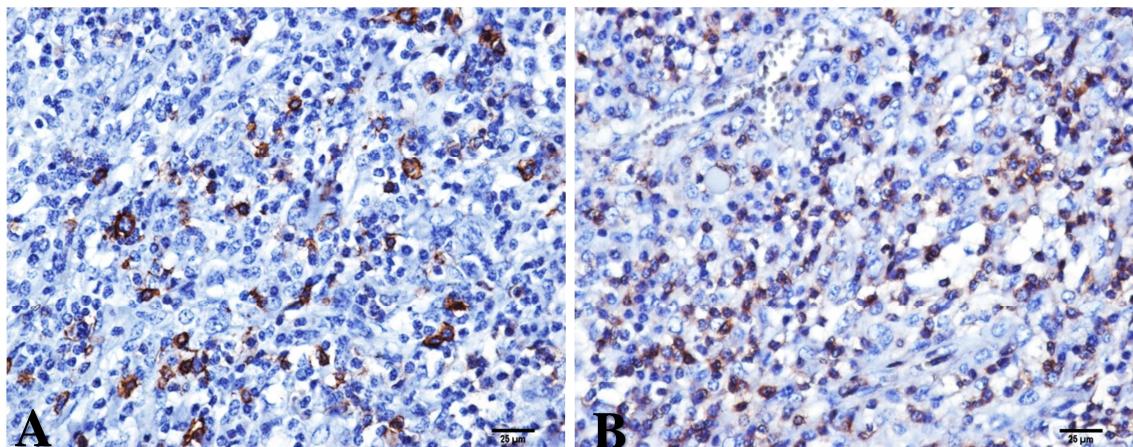
462



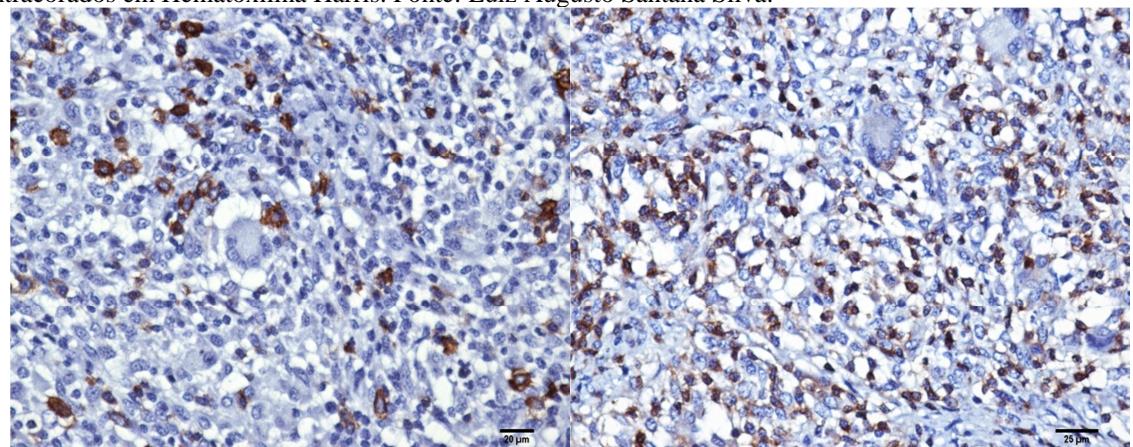
463
464
465
466
467
468
469
470

Figura 7. Recortes corados em Hematoxilina e Eosina. A. Equino, Linfoma cutâneo de grandes células rico em pequenas células e histiócitos, caso 20. Há uma formação nodular, bem delimitada, não encapsulada, rica em células. À direita nota-se tecido cutâneo adjacente preservado com discreta compressão da glândula sebácea nesse campo, aumento de 40x, régua de 100 μ m. B. Maior aumento da figura 7A. Presença de alta celularidade heterogênea, principalmente composta por pequenos linfócitos de cromatina densa e, em menor quantidade, há linfócitos neoplásicos de cromatina frouxa e histiócitos completando, aumento de 400x, régua de 15 μ m. C. Equino, Linfoma cutâneo de grandes células rico em pequenas células e histiócitos, caso 19. Notar a formação de

471 dois nódulos basofílicos na derme, não encapsulados, aumento de 20x, régua de 200 μ m. **D**. Maior aumento da
 472 figura 7C área do nódulo. A celularidade é heterogênea, variando de pequenos linfócitos de cromatina densa até
 473 grandes células com cromatina frouxa, aumento de 400x, régua de 15 μ m. Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.
 474



475 **Figura 8.** Equino, Linfoma cutâneo de grandes células rico em pequenas células e histiócitos, caso 19. A. A
 476 fotomicrografia mostra marcação positiva para CD20 em células grandes, aumento de 400x, régua de 25 μ m. B.
 477 Imunomarcação positiva para CD3 em células pequenas, aumento de 400x, régua de 25 μ m. Recortes
 478 contracorados em Hematoxilina Harris. Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.
 479



480 **Figura 9.** Equino, Linfoma cutâneo de grandes células rico em pequenas células e histiócitos, caso 20. A. A
 481 fotomicrografia mostra marcação positiva para CD20 em células grandes, aumento de 400x, régua de 20 μ m. B.
 482 Imunomarcação positiva para CD3 em células pequenas, aumento de 400x, régua de 25 μ m. Recortes
 483 contracorados em Hematoxilina Harris. Fonte: Luiz Augusto Santana Silva.
 484

485

486 DISCUSSÃO

487 O estudo caracterizou o perfil dos cavalos acometidos por lesões nodulares cutâneas
 488 inflamatórias, incluindo casos de linfoma não epiteliotrópico, diagnosticadas de 2016 a 2020.
 489 Os cavalos acometidos foram na maioria machos, com idade variável de 2 a 17 anos e cujas
 490 lesões estavam localizadas em prepúcio> membros> inguinal, abdominal, dorso, escapular,
 491 periocular e peito. Este perfil dos cavalos acometidos é próximo aos descritos por outros
 492 autores, assim como as regiões afetadas, no entanto, a maioria dos estudos incorporaram nas

493 lesões estudadas os processos neoplásicos (2). O gênero e idade dos animais não são
494 considerados fatores que auxiliam no diagnóstico de lesões nodulares em equinos, uma vez
495 que os artigos são escassos e com número restrito de casos (6). Entretanto, autores apontam
496 que granuloma eosinofílico e granulomas por fungos, bem como tecido de granulação
497 exuberante, ocorrem em animais com 10 anos ou mais jovens (6). As raças de cavalos não
498 foram consideradas como um fator predisponente para o acometimento por essas lesões, assim
499 como em outros estudos (2,24).

500 As lesões eosinofílicas se destacaram, principalmente os quadros de habronemose
501 cutânea, que diferentemente de outros autores, essa lesão foi a principal causa de dermatite
502 nodular nos equinos desse estudo (2,3). De acordo com os estudos prévios das lesões
503 eosinofílicas, a maior casuística se concentra em casos de pitiose cutânea (1,2). A
504 habronemose embora não tenham uma predisposição racial, sexual e etária, parecem
505 concentrar-se principalmente na região prepucial, convergindo com nossos resultados, já que
506 metade dos casos diagnosticados de habronemose com a presença de larva no trabalho foram
507 no prepúcio (25). Microscopicamente, os casos de habronemose cutânea mostram um
508 processo inflamatório eosinofílico difuso, normalmente acentuado, somado a áreas
509 multifocais de necrose que eventualmente podem revelar a presença do parasito (8).
510 Curiosamente, devido todo o processo inflamatório incitado e a resposta tecidual, segundo
511 nossos achados, as larvas parecem fazer localização profunda, dado que nos cortes teciduais
512 de biópsia por punch, em nenhum caso foi possível a realização do diagnóstico etiológico. E,
513 em cortes de tecidos acima de três centímetros, foram necessárias mais de três clivagens em
514 profundidades diferentes do material para a observação do parasito. A excisão cirúrgica da
515 lesão além da contribuição para o diagnóstico no que tange a representatividade do tecido,
516 também contribui positivamente com o tratamento do animal uma vez que retira o tecido com

517 acentuada resposta inflamatória e os parasitos que incitam a inflamação, ademais a cirurgia é
518 somada a outros fármacos de ação local e sistêmica no tratamento dessa enfermidade (26).

519 Das biópsias incisionais por punch não foi possível a conclusão da etiologia do
520 processo, que pode estar intimamente associado com a baixa profundidade do corte e,
521 ademais, deve-se, portanto, levar em consideração o diagnóstico diferencial das demais
522 dermatopatias nodulares eosinofílicas nos equinos e não permite afastar por completo
523 habronemose cutânea (8,11,12). Os quadros de granulomas eosinofílicos, assim como a
524 habronemose, também não possui predisposição racial, sexual ou etária, porém, costuma
525 acometer a região de cernelha e dorsal em sua totalidade; microscopicamente, apresentam
526 necrose central massiva, contendo eosinófilos degranulados e colagenólise variável, podendo
527 ser inexistente na lesão, com possibilidade de focos de mineralização em lesões crônicas
528 (8,12). Conforme visto, um dos nossos casos de biópsia revelou a inflamação eosinofílica
529 difusa, focos de necrose discreta pelo pequeno tamanho do fragmento e colagenólise, porém,
530 sem a visualização de nematoide intralesional. No entanto, localizava-se na região do boleto
531 em membro pélvico esquerdo, podendo favorecer um quadro de habronemose por ser uma
532 frequente região de traumas, mas, a ausência de uma extensão maior do fragmento pela
533 técnica de coleta incisional pode ter inviabilizado a confirmação.

534 Embora a pitiose cutânea também ocorra em épocas quentes com maior precipitação,
535 não tenha predileção por raça, sexo ou idade, os casos costumam acontecer com maior
536 frequência na região sul do país, além disso, mostra achados microscópicos que podem se
537 distinguir da habronemose cutânea (27,28). Microscopicamente, observa-se um padrão
538 inflamatório muito semelhante à resposta de casos de habronemose, no entanto, pode-se
539 perceber a presença de pseudohifas fúngicas e, eventualmente, a reação de Splendore-Hoepli,
540 que se caracteriza por uma deposição amorfa acidofílica nas circunjacências do fungo devido
541 a secreção de globulinas pelos plasmócitos (28). No nosso estudo não foram encontrados

542 casos de pitiose cutânea, embora seja de nosso conhecimento a ocorrência de casos de pitiose
543 na casuística do HOVET (dados não informados).

544 O tecido de granulação exuberante costuma ocorrer nos membros pélvicos e em
545 porções distais deles (12), todavia, em nosso estudo houve uma distribuição variada da
546 localização dessas lesões, desde região rostral até o boleto de membro pélvico direito. Do
547 ponto de vista microscópico essas lesões trazem um importante diagnóstico diferencial para o
548 sarcoide em sua apresentação fibrosa principalmente, uma vez que a abordagem terapêutica
549 entre eles serão diferentes, muitas vezes, necessitando de uma conduta cirúrgica cruenta para
550 proporcionar a restituição da epitelização superficial da ferida nos casos de tecido de
551 granulação exuberante (29); além disso, também são conhecidos outros métodos de
552 tratamento como a injeção de formaldeído a 4% e a utilização de pele de tilápia (30,31). Na
553 microscopia, o tecido de granulação se caracteriza por um tecido imaturo, com
554 desorganização do colágeno e fibroblastos, processo inflamatório crônico e neovascularização
555 que, por sua vez, impede a contração da ferida e possui atividade de retardar a proliferação
556 epidérmica, impedindo o fechamento da ferida (32). Já o sarcoide revela espessamento
557 epidérmico com projeções epiteliais em sentido da derme, que estará densamente povoada por
558 células alongadas neoplásicas organizadas em feixes ou espirais e, além disso, possuem graus
559 de pleomorfismo que vai variar de moderado até marcado com um estroma colagenoso
560 discreto (33).

561 O tecido de granulação é formado a partir de macrófagos mediando o processo com
562 secreção de citocinas, com importante função dos fibroblastos que substituem a fibrina por
563 glicoproteínas, proteoglicanos e colágeno sendo que, este último, primeiramente é colágeno
564 do tipo III e faz a maturação para colágeno tipo I que será importante para contração da ferida
565 (34,35). O tecido de granulação exuberante é reconhecido pelo incremento de fibroblastos,
566 miofibroblastos, vasos sanguíneos imaturos e por um colágeno ainda não organizado (14),

567 esses achados são compatíveis com os nossos resultados após a polarização das lâminas
568 coradas com Picrosírius, que permitiu a visualização de colágeno tipo I ainda delgado e o
569 colágeno tipo III estava restrito próximo aos vasos sanguíneos perpendiculares.

570 Das dermatites granulomatosas recebidas, o material cujo o diagnóstico foi compatível
571 com a presença de corpo estranho, trouxe achados microscópicos importantes e curiosos. O
572 primeiro diz respeito à estrutura refringente enegrecida e circunscrita, que pode levantar
573 suspeita para o corpo estranho não identificável, como espinhos de estrutura vegetal ou
574 aparato bucal de ectoparasito (36). Esses corpos estranhos aprisionados no tecido cutâneo
575 podem estimular uma resposta inflamatória crônica que progride ao quadro conhecido por
576 pseudolinfoma, visto principalmente em equinos e humanos que são propensos à essa
577 condição, onde observa-se uma importante infiltração e hiperplasia de linfócitos na pele com
578 formação de folículos linfoides secundários que são acompanhados por infiltração de outros
579 leucócitos, comumente eosinófilos e histiócitos (37,38). Esses quadros normalmente são
580 encontrados na região de tronco e dorso, sendo relacionados com picada de insetos,
581 artrópodes, reação solar ou idiopática (36). Embora o termo pseudolinfoma induza a um
582 pensamento de uma desordem proliferativa agressiva, essa condição mostra o oposto,
583 exibindo uma apresentação benigna com resolução cirúrgica local de bom prognóstico (37).
584 Assim como indicado na literatura, no caso do nosso estudo tratava-se de uma lesão focal
585 nodular na região do tronco, que na microscopia mostrava a estrutura circunscrita contendo
586 células gigantes multinucleadas do tipo corpo estranho em seu entorno, podendo ser
587 relacionada com o aparato bucal de algum ectoparasito.

588 Em humanos a lesão conhecida como pseudolinfoma cutâneo mostra achados
589 histopatológicos semelhantes aos descritos aqui, como um processo de distribuição nodular a
590 difusa, com formação de folículos linfoides revelando centros germinativos, entremeados por
591 eosinófilos e histiócitos, ainda, a imunohistoquímica pode ser aplicada destacando células B

592 CD20, CD79a e PAX-5 positivas, com centro germinativo BCL-6 positivo e BCL-2 negativo,
593 completando com alta capacidade proliferativa principalmente nos centros germinativos
594 evidenciada por Ki67 (39).

595 Um caso de dermatose nodular na região do prepúcio foi diagnosticado como infecção
596 por *Halicephalobus*, que se trata de um nematódeo saprófita com capacidade de causar a
597 infecção em equinos e humanos e caminhar para quadros fatais, devido a habilidade que esse
598 parasito tem pode ter uma apresentação de quadros disseminados com acometimento
599 principal de rins e encéfalo, progredindo para um processo grave de meningoencefalite devido
600 sua característica neurotrópica (40–42). Provavelmente o agente infeccioso desse caso é o
601 *Halicephalobus gingivalis*, isso porque não há descrição da infecção por outra espécie nos
602 equinos, porém, a conclusão deve ser realizada mediante exame de morfologia parasitária e
603 métodos moleculares (40).

604 A infecção por *Halicephalobus* possivelmente é dada a partir de uma lesão pré-
605 existente, possibilitando o contato e penetração do agente infeccioso que habita o ambiente e,
606 em seguida, com progressão a quadros disseminados (42,43). Nesse sentido, a presença do
607 carcinoma espinocelular ulcerado adjacente à lesão granulomatosa pelo *Halicephalobus*, pode
608 sugerir que essa neoplasia com perda da integridade cutânea permitiu a penetração do
609 nematódeo. Além disso, ressalta-se a preocupação da interação homem-animal, considerando
610 a possibilidade da transmissão zoonótica da doença que ainda é pouco caracterizada (44). O
611 diagnóstico histopatológico encontrado em literatura descreve uma lesão nodular, com
612 presença de granulomas contendo parasitos nematódeos que variam de larvas a adultos,
613 circundados por macrófagos epitelioides, células gigantes multinucleadas e na periferia
614 observam-se linfócitos, plasmócitos e poucos eosinófilos, compatível com os achados
615 descritos no material avaliado neste presente estudo (45).

616 No que tange os linfomas cutâneos equinos, a literatura mostra como uma neoplasia de
617 ocorrência incomum, porém, quando esta acontece, a principal apresentação do linfoma
618 segundo a caracterização pela OMS, é o linfoma de grande células B rico em células T
619 (20,46). Embora os casos de linfoma com apresentação cutânea sejam mais conhecidos nesse
620 subtipo, ainda, pode fazer uma apresentação gastrointestinal ou sistêmica, com envolvimento
621 do encéfalo inclusive (47). Esse neoplasma foi reportado por poder ser encontrado em
622 qualquer parte da extensão cutânea, com uma predileção por tronco e pescoço, porém um
623 dado muito importante encontrado é com relação a sua apresentação multinodular subcutânea
624 que, assim como no caso do nosso estudo, exibiu essa clínica de múltiplos nódulos com uma
625 localização focalmente extensa na região ventral do abdômen e proximidade ao prepúcio
626 (20,48). A média de idade dos linfomas cutâneos em equinos fica próximo dos 10 anos,
627 entretanto, há casos relatados desde os dois meses de idade (49) e os casos relatados foram
628 animais jovens com menos de 5 anos de idade em comparação aos demais quadros nodulares
629 relatados aqui..

630 Microscopicamente, assim como descrito em literatura os dois pacientes
631 diagnosticados com o linfoma de grandes células B rico em células T revelaram linfócitos
632 com diâmetro nuclear medindo aproximadamente de uma a duas hemácias de diâmetro,
633 podendo ocupar 5-10% somente de toda a população do nódulo, evidenciando cromatina
634 frouxa e nucléolo proeminente, que são entremeados por uma população predominante de
635 pequenos linfócitos T, que os autores acreditam ser atraídos pela população de linfócitos B e
636 histiócitos produzindo interleucina-4 (49,50). Quando realizada a imunohistoquímica, foi
637 observado o padrão heterogêneo das celularidades já relatados por autores anteriores
638 mostrando células grandes neoplásicas CD20 positivas e pequenas células não neoplásicas
639 CD3 positivas, que marcam linfócitos B e linfócitos T, respectivamente (18). Embora nossos
640 achados macroscópicos e, microscópicos em colorações histoquímicas e imunohistoquímica

641 serem fortemente compatíveis com essa entidade neoplásica, o exame confirmatório é por
642 PCR que mostra células B monoclonais com rearranjo dos genes IgH e IgL, enquanto que as
643 células T intralesionais presentes são policlonais consideradas reativas (46).

644 Em vista dos achados, o trabalho mostra a importância da infecção cutânea por
645 *Habronema* na cidade de São Paulo, desse modo, ressaltando a necessidade do preparo dos
646 clínicos e patologistas que abordarão casos dessa lesão, principalmente no que se refere ao
647 método de coleta e clivagem do material, já que este estudo mostrou que por meio das
648 biópsias incisionais não foi possível a visualização e confirmação diagnóstica Assim, sugere-
649 se a padronização do método de coleta e clivagem do material quando dessa suspeita clínica

650 Além da caracterização microscópica do tecido de granulação exuberante e das lesões
651 granulomatosas com etiologia identificadas, foi possível a descrição do linfoma de grandes
652 células B rico em células T e histiócitos, que embora seja a apresentação mais comum dos
653 linfomas cutâneos em equinos, de forma geral ainda é um tumor muito incomum, dificultando
654 sua abordagem clínica e muitas vezes a abordagem anatomo-patológica devido sua
655 heterogeneidade morfológica podendo confundir com lesões granulomatosas.

656 Por fim, nossos resultados indicam a necessidade de estudos para a padronização da
657 representação microscópica de casos suspeitos para habronemose cutânea, a imprecisão da
658 biópsia incisional para o diagnóstico de lesões nodulares e a importância do conhecimento do
659 linfoma de grandes células B rico em células T no sentido de considerar dentre os
660 diagnósticos diferenciais de lesões nodulares granulomatosas mononucleares.

661

662 **Declaration of Conflicting Interests**

663 The authors declare no conflicts of interest with respect to publication of this manuscript.

664

665 **Funding**

666 This study was partially funded by Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina
667 Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (HOVET/USP), MEC e Laboratório de
668 Patologia Diagnóstica e Ambiental da FMVZ-USP.

REFERÊNCIAS

1. Souza TM, Brum JS, Fighera RA, Brass KE, Barros CSL. Prevalência dos tumores cutâneos de equinos diagnosticados no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul. *Pesqui Vet Bras.* 2011;31(5):379–82.
2. Bianchi MV, Boos GS, Mello LS De, Vargas TP. A Retrospective Evaluation of Equine Cutaneous Lesions Diagnosed in Southern Brazil. *Acta Sci Vet.* 2016;55(1):1–7.
3. Schaffer PA, Wobeser B, Dennis MM, Duncan CG. Non-neoplastic lesions of equine skin in the central United States and Canada: A retrospective study. *Can Vet J.* 2013;54(3):262–6.
4. Ramos-Vara JA, Ortiz-Santiago B, Segalès J, Dunstan RW. Cutaneous leishmaniasis in two horses. *Vet Pathol.* 1996;33(6):731–4.
5. Crothers SL, White SD, Ihrke PJ, Affolter VK. Sporotrichosis: a retrospective evaluation of 23 cases seen in northern California (1987-2007). *Vet Dermatol.* 2009;20(4):249–59.
6. Valentine BA. Equine cutaneous non-neoplastic nodular and proliferative lesions in the Pacific Northwest. *Vet Dermatol.* 2005;16(6):425–8.
7. Barlaam A, Traversa D, Papini R, Giangaspero A. Habronematidosis in Equids: Current Status, Advances, Future Challenges. *Front Vet Sci.* 2020;7(July):1–8.
8. Mathison PT. Eosinophilic nodular dermatoses. Vol. 11, The Veterinary clinics of North America. Equine practice. 1995. p. 75–89.
9. Georgi JR. Cutaneous habronemiasis. In: Parasitology for veterinarians. Philadelphia: WB saunders; 1974. p. 328.
10. Adhikari BN, Hamilton JP, Zerillo MM, Tisserat N, Lévesque CA, Buell CR. Comparative Genomics Reveals Insight into Virulence Strategies of Plant Pathogenic Oomycetes. *PLoS One.* 2013;8(10):e75072.
11. Scott DW, Miller JR HR. Fungal Skin Diseases. In: Equine Dermatology. 2º ed Missouri: Elsevier; 2011. p. 171–211.
12. Scott DW, Miller JR HR. Miscellaneous diseases. In: Equine Dermatology. 2º ed Missouri: Elsevier; 2011. p. 436–67.
13. Scott DW, Miller JR HR. Dermatologic Therapy. In: Scott DW, Miller Jr HR, organizadores. Equine Dermatology. 2º ed Missouri: Elsevier; 2011. p. 101–29.
14. Theoret CL, Olutoye OO, Parnell LKS, Hicks J. Equine exuberant granulation tissue and human keloids: A comparative histopathologic study. *Vet Surg.* 2013;42(7):783–9.
15. Theoret C, Wilmink JM. Exuberant Granulation Tissue. In: Equine Wound Management: Third Edition. 3º ed Wiley Blackwell; 2016. p. 369–84.

- 702 16. Lepault É, Céleste C, Doré M, Martineau D, Theoret CL. Comparative study on microvascular occlusion
703 and apoptosis in body and limb wounds in the horse. *Wound Repair Regen.* 2005;13(5):520–9.
- 704 17. Durham AC, Pillitteri CA, Myint MS, Valli VE. Two Hundred Three Cases of Equine Lymphoma
705 Classified According to the World Health Organization (WHO) Classification Criteria. 2012;50(1):86–
706 93.
- 707 18. Valli VE, Bienzle D, Meuten DJ. Tumors of the Hemolymphatic System. In: Meuten DJ, organizador.
708 Tumors in Domestic Animals. 5º ed Iowa: Wiley Blackwell; 2017. p. 203–321.
- 709 19. Valli VE, Myint MS, Barthel A, Bienzle D, Caswell J, Colbatzky F, et al. Classification of Canine
710 Malignant Lymphomas According to the World Health Organization Criteria. 2011;198–211.
- 711 20. Miller CA, Durham AC, Schaffer PA, Ehrhart EJ, Powers BE, Duncan CG. Classification and clinical
712 features in 88 cases of equine cutaneous lymphoma. *J Vet Diagnostic Investig.* 2015;27(1):86–91.
- 713 21. Axon JE, Robinson P, Lucas J. Generalised granulomatous disease in a horse. *Aust Vet J.* 2004;82(1–
714 2):48–51.
- 715 22. Sledge DG, Miller DL, Styler EL, Hydrick HA, Baldwin CA. Equine herpesvirus 2-associated
716 granulomatous dermatitis in a horse. *Vet Pathol.* 2006;43(4):548–52.
- 717 23. Assis-Brasil ND de, Marcolongo-Pereira C, Stigger AL, Fiss L, Santos BL, Coelho ACB, et al. Equine
718 dermatopathies in southern Brazil: a study of 710 cases. *Ciência Rural.* 2015;45(3):519–24.
- 719 24. Summers M. Clinical survey of tumours and tumour-like lesions in horses in south east Queensland.
720 *Equine Vet J.* 1981;13(4):235–9.
- 721 25. Pusterla N, Watson JL, Wilson WD, Affolter VK, Spier SJ. Cutaneous and ocular habronemiasis in
722 horses : 63 cases (1988 – 2002). *J Am Vet Med Assoc.* 2002;222(7):978–82.
- 723 26. Scott DW, Muller A. Parasitic diseases. In: *Equine Dermatology.* 2º ed Missouri: Elsevier; 2011. p. 212–
724 50.
- 725 27. Simone E, Sallis V, Isabel D, Pereira B, Raffi MB. Pitiose cutânea em eqüinos: 14 casos. 2003;899–903.
- 726 28. Meireles MCA, Zambrano AFH, Zambrano MS. Cutaneous pythiosis in horses from Brazil Kutane
727 Pythiose bei Pferden in Brasilien. 1992;142(May 1985):139–42.
- 728 29. Wilmink JM, Weeren PR Van, Ecvs D. Treatment of Exuberant Granulation Tissue. *Clin Tech Equine
729 Pract.* 2004;3(2):141–7.
- 730 30. Varasano V, Marruchella G, Petrizzi L. Exuberant granulation tissue in a horse: successful treatment by
731 the intralesional injection of 4 % formaldehyde solution. *Vet Ital.* 2018;54(2):155–9.
- 732 31. Costa BO, Lima EM, Fechine FV, Nunes Alves APN, de Melo MMO, Correia Ribeiro WL, et al.
733 Treatment of a traumatic equine wound using nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin as a xenograft.
734 *Acta Sci Vet.* 2020;48(June):1–6.

- 735 32. Weeren PRVAN, Mil FNVAN, Barneveld A. Differences in second-intention wound healing between
736 horses and ponies: histological aspects. 1999;31:61–7.
- 737 33. Hendrick MJ. Mesenchymal Tumors of the Skin and Soft Tissues. In: Meuten DJ, organizador. Tumors
738 in Domestic Animals. 5º ed Iowa: Wiley Blackwell; 2017. p. 142–75.
- 739 34. Moulin V. Growth factors in skin wound healing. Eur J Cell Biol. 1995;68(1):1–7.
- 740 35. Wilmink JM, Van Weeren PR. Second-intention repair in the horse and pony and management of
741 exuberant granulation tissue. Vet Clin North Am - Equine Pract. 2005;21(1):15–32.
- 742 36. Scott DW, Miller JR HR. Neoplasms, Cysts, Hamartomas and Keratoses. In: Equine Dermatology. 2º ed
743 Missouri: Elsevier; 2011. p. 468–516.
- 744 37. Rashmir-Raven A. Disorders of the skin. In: Reed S, Bayly W, Sellon D, organizadores. Equine Internal
745 Medicine. 4º ed WB saunders; 2018. p. 1159–216.
- 746 38. Dv A, Miguel D, Peckruhn M, Elsner P. Treatment of Cutaneous Pseudolymphoma : A Systematic
747 Review A cta DV. Acta Derm Venereol. 2018;98(3):310–7.
- 748 39. Mitteldorf C, Kempf W. Cutaneous pseudolymphoma — A review on the spectrum and a proposal for a
749 new classification. J Cutan Pathol. 2019;47(1):76–97.
- 750 40. Akagami M, Shibahara T, Yoshiga T, Tanaka N, Yaguchi Y, Onuki T, et al. Granulomatous nephritis
751 and meningoencephalomyelitis caused by *Halicephalobus gingivalis* in a pony gelding. J Vet Med Sci.
752 2007;69(11):1187–90.
- 753 41. Anderson R, Linder K, Peregrine A. *Halicephalobus gingivalis* (Stefanski, 1954) from a fatal infection in
754 a horse in Ontario, Canada with comments on the validity of *H. deletrix* and a review of the genus.
755 Parasite. 1998;5(3):255–61.
- 756 42. Anwar MA, Gokozan HN, Ball MK, Otero J, McGwire BS. Fatal human eosinophilic meningo-
757 encephalitis caused by CNS co-infection with *Halicephalobus gingivalis* and West Nile virus. Parasitol
758 Int. 2015;64(5):417–20.
- 759 43. Lim CK, Crawford A, Moore C V., Gasser RB, Nelson R, Koehler A V., et al. First human case of fatal
760 *halicephalobus gingivalis* meningoencephalitis in Australia. J Clin Microbiol. 2015;53(5):1768–74.
- 761 44. Shadduck JA, Ubelaker J, Telford VQ. *Micronema deletrix* Meningoencephalitis in an adult man. Am J
762 Clin Pathol. 1979;72(4):640–3.
- 763 45. Muller S, Grzybowski M, Bornand V, Brehm W. A nodular granulomatous posthitis caused by
764 *Halicephalobus* sp . in a horse Case report. Vet Dermatol. 2007;19(1):44–8.
- 765 46. Valli VE. B cell neoplasms. In: Veterinary Comparative Hemopathology. 0 ed 1: Blackwell; 2007. p.
766 119–273.
- 767 47. Westerman TL, Poulsen KP, Jr JWS, Valentine BA. Case Report Rapport de cas. Can Vet J.

- 768 2014;55(4):379–82.
- 769 48. Valli VE, Bienzle D, Meuten DJ. Tumors of The Hemolymphatic System. In: Tumors in Domestic
770 Animals. 5º ed Iowa: Wiley Blackwell; 2017. p. 203–21.
- 771 49. Durham AC, Pillitteri CA, Myint MS, Valli VE. Two Hundred Three Cases of Equine Lymphoma
772 Classified According to the World Health Organization (WHO) Classification Criteria. *Vet Pathol.*
773 2012;50(1):86–93.
- 774 50. Chan A, Chan K. Diffuse large B-cell lymphomas. In: Jaffe E, organizador. *Hematopathology*.
775 Philadelphia: Elsevier Saunders; 2011.
- 776