Journal Pre-proof

AUTOPSIAS EN CASOS SOSPECHOSOS DE SARS-CoV-2

Rafael Bañon Gonzalez Silvia Carnicero Caceres Mª Paz Suarez-Mier Francisco J. Diaz

PII: S0377-4732(20)30021-3

DOI: https://doi.org/doi:10.1016/j.reml.2020.05.002

Reference: REML 306

To appear in: *Revista Española de Medicina Legal*

Received Date: 3 May 2020

Accepted Date: 4 May 2020

Please cite this article as: Gonzalez RB, Caceres SC, Paz Suarez-Mier M, Diaz FJ, AUTOPSIAS EN CASOS SOSPECHOSOS DE SARS-CoV-2, *Revista Española de Medicina Legal* (2020), doi: https://doi.org/10.1016/j.reml.2020.05.002

This is a PDF file of an article that has undergone enhancements after acceptance, such as the addition of a cover page and metadata, and formatting for readability, but it is not yet the definitive version of record. This version will undergo additional copyediting, typesetting and review before it is published in its final form, but we are providing this version to give early visibility of the article. Please note that, during the production process, errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

© 2020 Published by Elsevier.

Journal Pre-proof

AUTOPSIAS EN CASOS SOSPECHOSOS DE SARS-CoV-2

Autopsies of suspected SARS-CoV-2 cases.

Rafael BAÑON GONZALEZ

Silvia CARNICERO CACERES

Mª Paz SUAREZ-MIER

Francisco J. DIAZ

Rafael Bañón González. Director del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Murcia.

Silvia Carnicero Cáceres. Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Cantabria.

Mª Paz Suarez Mier. Servicio de Histopatología. Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses, Departamento de Madrid.

Francisco J. Díaz, Deputy Chief Medical Examiner. Office of the Chief Medical Examiner Washington, DC (USA)

Correspondencia: Rafael Bañón González. Instituto de Medicina Legal y CCFF de Murcia. c/ Luis Fontes Pagán, 2. 30003 Murcia. ESPAÑA

AUTOPSIAS EN CASOS SOSPECHOSOS DE SARS-CoV-2

Autopsies of suspected SARS-CoV-2 cases.

RESUMEN

La medicina forense debe contemplar la posibilidad de que fallecidos por causas violentas o desconocidas puedan estar infectados por el virus SARS-CoV-2, o que el diagnóstico de la enfermedad tenga implicaciones legales, lo que exige un conocimiento adecuado de la epidemiología de la enfermedad, de las medidas de protección, de la toma de muestras y de las características anatomopatológicas.

La práctica de autopsias en fallecidos por COVID-19 se ha visto limitada por las obligadas medidas preventivas frente al contagio y por la necesidad de disponer de instalaciones con nivel de protección frente a riesgos biológicos de nivel 3, de modo que las series publicadas hasta la fecha son escasas, y parciales, con abordajes limitados (autopsia mínimamente invasiva o biopsia con

Journal Pre-proof

aguja gruesa).

En este artículo se hace una revisión de los aspectos de la fisiopatología de la enfermedad que tienen repercusión en la infectividad de los tejidos y fluidos del cadáver, de las medidas de prevención del riesgo biológico, de la toma de muestras y de los hallazgos patológicos, tanto macroscópicos como microscópicos, asociados a la muerte provocada por la infección por el virus SARS-CoV-2.

Palabras clave: Autopsia. Síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2. Patología forense. Postmortem. COVID-19.

ABSTRACT

Forensic physicians should consider the possibility that people who have died from violent or unknown causes may be infected by the virus SARS-CoV-2, or that the diagnosis of the disease has legal implications, which requires adequate knowledge of the epidemiology of the disease, protective measures, adequate sampling and the pathological characteristics.

The practice of autopsies on people who have died from COVID-19 has been limited by the mandatory preventive measures against contagion and by the need for facilities with a level of protection against level-3 biological risk, and therefore series published to date are scarce and partial,with limited approaches (minimally invasive autopsy or needle biopsy).

This article reviews the aspects of the pathophysiology of the disease that have an impact on the infectivity of the body's tissues and fluids, measures for preventing biological risk, taking samples and pathological findings, both macroscopic and microscopic, associated with death caused by infection with the SARS-CoV-2 virus.

Keywords: Autopsy. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. Forensic Pathology. Post-mortem. COVID-19

Journal Pre-proof

Journal Pre-proof

1.- ASPECTOS SOBRE LA FISIOPATOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR EL VIRUS SARS-COV-2.

Los coronavirus (*Orthocoronavirinae*) son una subfamilia de virus RNA monocatenarios positivos con un tamaño de genoma entre 26 y 32 kilonucleótidos, lo que los sitúa entre los más grandes de los RNA-virus, con un diámetro entre 120 y 160 nm. Tienen una morfología característica con unas espículas en su superficie que les da el aspecto de "coronados". Son conocidos desde mediados del siglo XX como virus que infectan animales domésticos y salvajes, particularmente mamíferos, y en la especie humana son los causantes de un gran número de infecciones banales del tracto respiratorio superior. Se dividen en 4 subtipos (alfa, beta, gamma y delta).1

A pesar de su aparente benignidad, los betacoronavirus han dado lugar en este siglo a dos epidemias con gran repercusión sanitaria: la epidemia por el SARS-CoV (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus*), aparecida en China en 2002-2003, y la producida por el MERS-CoV (*Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus*), que se desarrolló fundamentalmente en países del oriente medio en 2012, con una mortalidad del 35% 2.

Todos estos virus tienen un reservorio natural, el murciélago, alcanzando la especie humana a través de un reservorio intermedio que suele ser un mamífero. El nuevo virus, aislado en primer lugar en diciembre de 2019 en la ciudad de Wuhan en China 3, es un nuevo beta-coronavirus, pero con una estructura genómica muy parecida al SARS y al MERS. Denominado inicialmente 2019-nCoV, el Comité Internacional de Taxonomía de los Virus cambió la denominación a SARS-CoV-2 y a la enfermedad que produce, COVID-19. Este virus ocasiona un cuadro de infección respiratoria que en algunos casos evoluciona a neumonía y presenta una mortalidad global de un 5 %, si bien las diferencias entre países son muy acusadas, y se trata de cifras con un alto dinamismo 4.

En la estructura molecular destacan dos genes (ORF1a y ORF1b), encargados de sintetizar la polimerasa y la RNAsa, y el gen S, que es el responsable de sintetizar las espículas de superficie. Este gen S tiene dos subunidades: la S1, encargada de la unión con el receptor AC2 de la membrana celular y la S2, encargada de unirse a otro correceptor y producir la fusión con la membrana celular y la entrada del virus en la célula. Una vez en el citoplasma, el virus produce poliproteínas que son seccionadas por las proteasas celulares dando lugar a los componentes estructurales y el RNA viral que es conducido a través del aparato de Golgi y el retículo endoplásmico y genera vesículas citoplasmáticas que posteriormente se liberan a través de la membrana celular, dando lugar a miles de copias del virus en cada vesícula.5

El órgano más afectado clínicamente es el pulmón, por lo que se le ha considerado como el órgano diana en la infección. Sin embargo, algunas investigaciones ponen de manifiesto la afectación multisistémica asociada a inflamación y apoptosis del endotelio vascular.6

El virus se fija a los receptores AC2, ampliamente distribuidos por todo el organismo y en particular en los neumocitos alveolares, y da lugar a una tormenta de citoquinas entre las que destacan las IL1, IL6, IL8, y el factor inhibidor de la migración de los macrófagos (MIF). Estos factores a su vez atraen a los polimorfonucleares neutrófilos, que liberan enzimas y proteasas y agravan el daño celular dando lugar a un síndrome de *distress* respiratorio del

Journal Pre-proof

adulto (SDRA), con la formación de las típicas membranas hialinas en la cara interna de la pared alveolar, y la alteración consiguiente del intercambio gaseoso y la oxigenación tisular.7

La enfermedad se transmite fundamentalmente por las secreciones respiratorias, en contactos persona a persona, bien por las gotitas de Flügge, bien por depósitos en el suelo y superficies. Se ha comprobado también la transmisión oral-fecal, aunque parece tener menor importancia. La transmisión en el período asintomático es posible, así como la transmisión después de la curación, motivo por el cual la OMS recomienda aislamiento al menos dos semanas después del alta.8 Recientes investigaciones sugieren que el virus SARS-CoV-2 persiste varias horas en el aire y hasta días sobre algunas superficies como plástico y metal.9

El periodo de incubación medio es de 5 días (entre 2 a 14 días), y la clínica es similar a un cuadro viral con tos irritativa, fiebre y en algunos casos con diarrea y vómitos. La mayor parte de los casos tienen un curso hacia la recuperación espontánea, pero algunos otros desarrollan neumonía y fracaso multiorgánico, que son los casos más graves y en los que se produce una mayor mortalidad. Esta mayor tasa de complicaciones y mortalidad se asocia a una edad superior a 60 años y algunas patologías preexistentes, como obesidad, hipertensión, diabetes, y enfermedades pulmonares y cardiocirculatorias. Las complicaciones consisten, además de la neumonía y del citado SDRA, en: shock séptico, fracaso renal, isquemia intestinal [6], coagulación intravascular diseminada y rabdomiólisis10.

Además de las manifestaciones clínicas, el estudio con TAC parece ser más sensible que la radiología convencional en los casos en que se desarrolla neumonía para detectar los infiltrados alveolares que pueden evolucionar a SDRA, con imágenes típicas en vidrio deslustrado. Recientemente se han comunicado diversas manifestaciones cutáneas en forma de áreas de eritema con vesículas o pústulas, urticaria, erupciones maculo-papulosas y necrosis11.

En el laboratorio es básica la amplificación de los genes del virus mediante técnicas de RT-PCR. En general se realiza en un doble tiempo. En la primera determinación se amplifica el gen E, que es común a varios tipos de coronavirus, y una vez detectado, en un segundo tiempo se amplifica el gen RNA dependiente RNA polimerasa (PdRp), que es específico para el virus SARS-CoV-2. Otras determinaciones se basan en la detección de antígenos virales mediante test rápidos, que cuentan con una alta especificidad, pero una baja sensibilidad, lo que se traduce en un alto porcentaje de falsos negativos. Los test de anticuerpos tienen la particularidad de que pueden resultar negativos en los primeros días de la infección, dado que los anticuerpos sólo aparecen cuando se ha desarrollado un determinado nivel de inmunidad 12.

2. RECOMENDACIONES NACIONALES E INTERNACIONALES SOBRE BIOSEGURIDAD Y PROTECCIÓN.

La muerte por causas infecciosas es una situación en general ajena al interés judicial y forense 13. No obstante, la infección por SARS-CoV-2 se acompaña de una mortalidad importante y se sabe que existen muchos portadores asintomáticos o con síntomas leves, por lo que es posible que los cadáveres de fallecidos susceptibles de autopsia medicolegal estén infectados por este virus. Por este motivo, es importante conocer las recomendaciones que

Journal Pre-proof

la comunidad científica ha emitido en materia de protección frente a los riesgos biológicos derivados del estudio del cadáver con enfermedad por COVID-19, o con sospecha de ésta.

Existe un acuerdo general, en este momento de expansión de la pandemia, de evitar la manipulación del cadáver siempre que sea posible, y limitar la práctica y la extensión de los exámenes necrópsicos al objetivo que se persigue, aprovechando las opciones que están previstas en el ordenamiento jurídico de cada país 14,15

Sobre la capacidad infecciosa del cadáver de personas fallecidas por infección por SARS-CoV-2, no existe una evidencia científica establecida, lo que obliga a extremar las medidas de protección16. Diversas instancias internacionales, como el Centro Europeo de Control de Enfermedades (ECDC), sugieren que no hay evidencia de transmisión de SARS-CoV-2 a través del manejo de cadáveres de personas fallecidas por COVID-19, ya que el riesgo potencial de transmisión se considera vinculado al contacto directo con el cadáver o sus fluidos, así como con fómites contaminados. Pero por este mismo motivo, los procedimientos que generan aerosoles o salpicaduras, como ocurre durante la autopsia, suponen un riesgo biológico superior y obligan al uso de los equipos de protección personal adecuados.17

Los principales protocolos internacionales clasifican el virus SARS-CoV-2 dentro del riesgo biológico de nivel 3. Se incluyen en este grupo los agentes infecciosos que pueden causar enfermedades humanas graves y pueden constituir un riesgo importante para la comunidad, pero para las que se puede establecer una profilaxis efectiva para su prevención. El riesgo que generan estos agentes para los trabajadores se puede considerar asumible cuando se aplican los medios de prevención adecuados 18. De acuerdo a estos protocolos, no existe una razón por la que un patógeno de nivel 3 no pueda ser procesado en una sala de autopsias con los medios preventivos apropiados y siempre que sea llevada a cabo por personal experimentado 19.

Dado el riesgo de que cadáveres fallecidos por otras causas sean portadores del virus, es conveniente adoptar medidas adicionales que afectan al diseño de las salas de autopsia, la presión de aire dentro de las mismas y el empleo ocasional de la radiología y TAC en casos sospechosos (Figura 1) para evitar la manipulación del cadáver 20.

Adicionalmente, se han propuesto las siguientes medidas especiales para la práctica de autopsias durante la epidemia:

1.- Limitar de forma rigurosa la realización de estos estudios a aquellas instituciones que dispongan de las condiciones de bioseguridad suficiente y personal debidamente experimentado 21 .

2.- Adaptar la extensión de las investigaciones a la práctica de toma de muestras suficientes para el diagnóstico mediante exámenes externos, autopsias parciales, y realización de biopsias con aguja gruesa 22, en función de las circunstancias.

3.- Efectuar pruebas diagnósticas de presencia del virus en el cadáver con carácter previo a la práctica de la autopsia 23. Esta recomendación puede estar limitada por la disponibilidad de pruebas o de laboratorios durante la situación de pandemia.

Journal Pre-proof

En España existe una guía de actuación 24 que recoge aspectos básicos de las medidas de bioseguridad de nivel 3 que deben disponer tanto el personal como las instalaciones, así como las actuaciones que deben llevarse a cabo con el cuerpo y la limpieza tras la práctica de las autopsias, siguiendo la línea de otros organismos internacionales antes mencionados. De forma más específica, la Sociedad Española de Patología Forense (SEPAF) ha publicado un documento *ad hoc* para la práctica de autopsias forenses 25.

Las recomendaciones principales efectuadas en estos documentos se detallan en la tabla I y la tabla II.

3. RECOGIDA DE MUESTRAS.

a) Muestras para diagnóstico de enfermedad de COVID-19 previas a la manipulación del cadáver.

La confirmación del diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 se consigue mediante la RT-PCR, como hemos visto. Para su análisis se procede a recoger torundas de la región nasofaríngea, a las que se pueden añadir frotis de la zona orofaríngea26.

Un resultado positivo para SARS-CoV-2 generalmente confirma el diagnóstico. Sin embargo, están bien documentados los casos falsos negativos, lo que se debe tener en cuenta a la hora de la interpretación 27. Los factores que pueden interferir en la sensibilidad de la determinación son: toma inadecuada, el tipo de análisis RT-PCR, el tipo de muestra, su calidad, y la fase de la enfermedad en el momento de la toma 28.

Los test serológicos pueden ser de utilidad como complemento a la determinación por PCR. Los test de antígenos presentan una menor sensibilidad y tienen el riesgo de no detectar el virus cuando la carga viral es pequeña si se realizan de forma aislada. Por otra parte, la determinación de anticuerpos puede ser negativa en los primeros 5 días de la infección, por lo que tiene poca utilidad para identificar un cadáver portador de carga viral en ausencia de PCR 29. La mejor opción parece ser una combinación de las pruebas de PCR y serológicas, recogidas con el menor intervalo post mortem posible, que ofrezcan información tanto de la carga viral como del estado inmunológico del fallecido.

b) Muestras para estudio histopatológico

Antes de proceder a la apertura del cadáver se deben preparar todos los envases que van a ser necesarios para los estudios complementarios. Para el estudio histopatológico conviene disponer de envases con formol tamponado al 4% que permita una relación muestra/volumen de formol de 1/3 30. Las muestras recomendadas son: tráquea (proximal y distal, con secciones de ambos bronquios), pulmones (zonas representativas de ambos), miocardio, hígado, bazo, riñones, piel, músculo y médula ósea.

Se recomiendan 7 días de fijación en formol. En el caso de muestras muy pequeñas que se puedan incluir en casete bastaría con 48 h de fijación [18].

c) Muestras para otros estudios

Para análisis químico-toxicológico, según las recomendaciones ya mencionadas, se debe recoger sangre periférica en Fluoruro sódico y Oxalato potásico. Además es conveniente recoger otros dos tubos de sangre en EDTA que pueden ser necesarios tanto para estudio de tóxicos como para estudio genético en el contexto de una posible cardiopatía familiar. La recogida de muestras para análisis microbiológico se trata ampliamente en otro artículo de este monográfico.

Journal Pre-proof

4. HALLAZGOS PATOLÓGICOS.

Existen pocos trabajos en los que se describan los hallazgos patológicos en fallecidos por Covid-19. Los primeros están publicados en China y se limitan a biopsias pre y post mortem con muestreo selectivo 31 32 33 o a autopsias mínimamente invasivas 34. Otros corresponden a estudios retrospectivos de piezas quirúrgicas de tres pacientes intervenidos de cáncer de pulmón en los que posteriormente se detectó el COVID-19 35 36. Recientemente Carsana y cols., han dado a conocer los hallazgos pulmonares *postmortem* en una serie de 38 fallecidos en el norte de Italia 37. Las únicas publicaciones que conocemos de autopsias completas proceden de Estados Unidos. La primera, de Oklahoma, es del ámbito forense 38, con diagnóstico post mortem mediante RT-PCR a partir de hisopos de nasofaringe y pulmón en dos fallecidos y la segunda corresponde a autopsias clínicas de cuatro pacientes fallecidos por Covid-19 en Nueva Orleans 39.

En concordancia con las manifestaciones clínicas de la enfermedad Covid-19, los principales hallazgos patológicos se encuentran en el pulmón. En la autopsia puede verse derrame pleural y pericárdico, en general seroso o serosanguinolento [38] (Figura 2), salvo que exista una infección bacteriana sobreañadida que dé lugar a un exudado purulento 40. Macroscópicamente los pulmones son compactos, con peso elevado, edematosos (Figura 3), con zonas hemorrágicas y pardo-grisáceas de consolidación [37 38 39]. Ocasionalmente se reconocen trombos en arterias periféricas [39], pero en ningún caso se ha visto tromboembolismo pulmonar a pesar de que se ha asociado a Covid-19 41. En el estudio microscópico, en las formas precoces de la enfermedad se observa edema, exudado proteináceo intraalveolar, neumonitis intersticial y presencia de macrófagos, células gigantes multinucleadas y algunos fibroblastos [35 36].

En fase avanzada, como otros coronavirus, el SARS-CoV-2 produce un daño alveolar difuso caracterizado por la presencia de membranas hialinas, depósito de fibrina y descamación de neumocitos (Figura 4) [31 34 38 39] 42. Los tabiques interalveolares con frecuencia presentan infiltrado inflamatorio linfocitario (CD3, CD4 y CD8 positivos) de intensidad variable [31 33 34 36 38 39 42 37] que también puede observarse formando manguitos alrededor de los bronquiolos grandes y alrededor de los vasos pequeños [39]. En algunos fallecidos se observa exudado en organización con proliferación de fibroblastos y fibrosis intersticial (Figura 5) [33 34 42], aunque la fase fibrótica es poco frecuente [37].

En arterias pequeñas y capilares de forma repetida se identifican trombos fibrino-plaquetarios [34 37 38 39]. En las autopsias estudiadas por Fox y cols. era llamativa la presencia de numerosos megacariocitos intravasculares (CD61+) hipercromáticos y con atipia nuclear que podían estar asociados a la producción de los trombos [39]. Corresponderían a megacariocitos nativos del pulmón que serían activados por la infección viral. Esta microangiopatía trombótica solo la observaron en el pulmón.

En algunos estudios se apreciaron cambios citopáticos virales en los neumocitos tipo II y dudosas inclusiones virales [39]. Con inmunohistoquímica se ha demostrado positividad frente al antígeno 2019-nCoV en el epitelio alveolar, neumocitos descamados y macrófagos [33 34] y también se han visto partículas de RNA en el citoplasma de numerosas células gigantes multinucleadas [39]. Doug-Kuang y cols. mencionan la extracción del RNA viral a partir de

Journal Pre-proof

tejido pulmonar en parafina [36]. Con microscopía electrónica se han encontraron partículas de coronavirus en el epitelio bronquial y en neumocitos tipo II [34 37], así como en células endoteliales de los capilares glomerulares [6], lo que demostraría la diseminación sistémica del virus.

En algunos casos se observó también en los pulmones un infiltrado inflamatorio neutrofílico y abscesos bacterianos y fúngicos, que se interpretaron como infecciones secundarias [32 37 39].

En el examen macroscópico del corazón se encuentra con frecuencia patología crónica preexistente no relaciona con la enfermedad Covid-19 [38 39]. Las alteraciones microscópicas han sido mínimas: necrosis dispersa, aislados linfocitos intersticiales y pequeños parches de fibrosis [31 34 38 39 42]. A pesar de las complicaciones cardiovasculares clínicamente observadas en estos pacientes 43, solamente se ha descrito infarto agudo de miocardio en una fallecida [6], pero en ningún caso se ha observado miocarditis.

Destaca el trabajo de Varga y cols., en el que observan infiltrado inflamatorio y apoptosis en células endoteliales de corazón, pulmón, hígado, riñón e intestino delgado, que serían responsables de una disfunción endotelial que conduciría a isquemia orgánica, edema tisular y estados pro-coagulación [6]. La esteatosis hepática se describe en varios estudios [31 34 38 42], pero muy probablemente no está asociada a la enfermedad y también se ha visto depleción linfocitaria en bazo, degeneración y necrosis de células parenquimatosas, trombos hialinos en vasos pequeños y patología crónica en otros órganos [34].

A pesar de que en la fisiopatología de la enfermedad Covid-19 existen marcadores analíticos de hipercoagulabilidad, con elevación de dímero D e indicios de coagulación intravascular diseminada, solo Xiaochong y cols. describen trombos en vasos pequeños de varios órganos (en una fotografía de la publicación original en chino se aprecian trombos en capilares glomerulares) [34] estando la microangiopatía trombótica limitada al pulmón en el resto de los trabajos.

5. CONCLUSION.

La autopsia ha contribuido significativamente al conocimiento de muchas enfermedades. En relación con la enfermedad Covid-19, a pesar de su elevada mortalidad, el número de estudios es escaso. La explicación a este hecho hay que buscarla en su gran contagiosidad y en la carencia de instalaciones y equipos de protección adecuados. A destacar que el primer trabajo publicado de autopsias completas pertenece al ámbito medicolegal [38]. Esperemos que en el futuro próximo se realicen muchas más necropsias, en las condiciones adecuadas, que ayuden a conocer mejor esta nueva enfermedad y a desarrollar terapias adecuadas que ayuden a combatir esta emergencia mundial.

5. BIBLIOGRAFÍA

References

1 Lai M.M.C, & Holmes K.V.: Coronaviridae: The Viruses and Their Replication. In: Knipe DM, Howley PM, editors. Fundamental virology. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p.641-63.

2 Plapp, F.: The Covid-19 pandemic: A summary. The pathologist. Marzo, 2020.

Journal Pre-proof

3 https://www.sciencemag.org/news/2020/01/novel-human-virus-pneumonia-cases-linked-seafood-market-china-stir-concern (ultimo acceso: 1 de mayo de 2020)

4 https://coronavirus.jhu.edu/map.html (ultimo acceso: 1 de mayo de 2020)

5 de Wit, E., van Doremalen, N., Falzarano, D. y Munster, V.J..: "SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses". *Nat Rev Microbiol*. 2016 Aug;14(8):523-34.

6 Varga, Z., Flammer, A.J., Steiger, P. y cols.: "Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19". *Lancet*. 2020 2-8 May; 395(10234): 1417–1418.

7 Zhou, P. y cols.: "A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin", *Nature*. 2020 Mar;579(7798):270-273.

8 Lirong Z., y cols.: "SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients" *N Engl J Med* 2020; 382:1177-1179. DOI: 10.1056/NEJMc2001737

9 van Doremalen, N. y cols.: Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1". *N Engl J Med.* 2020 Apr 16;382(16):1564-1567.

10 Guan, W. y cols.: "Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China". *N Engl J Med* 2020; 382:1708-1720 DOI: 10.1056/NEJMoa2002032

11 Galván, C., Catalá, A., Carretero, G. y cols.: "Classification of the cutaneous manifestations of COVID-19: a rapid prospective nationwide consensus study in Spain with 375 cases". *Br J Dermatology* 2020: 29 Abril. doi.org/10.1111/bjd.19163

12 Chu, D, y cols.: "Molecular Diagnosis of a Novel Coronavirus (2019-nCoV) Causing an Outbreak of Pneumonia". *Clin Chem*. 2020 Apr 1;66(4):549-555.

13 Consejo de Europa. Recomendación R99(3) del consejo de ministros de los estados miembros, para la armonización metodológica de las autopsias médicolegales. (Traducción de Emilio Donat Laporta). *REML* 1999; XXIII(86-87)

14 Acuerdo del Consejo Medico Forense por el que se aprueban determinadas recomendaciones en el ámbito de la medicina forense con motivo de la epidemia COVID-19.
https://ficheros.mjusticia.gob.es/aviso/20200320%20Recomendaciones%20CMF%20COVID19.pdf (ultimo acceso 1 de mayo de 2020)

15 COVID-19. Comunicado de la red iberoamericana de Instituciones de Medicina Legal y Ciencias Forenses.

16 Organización Mundial de la Salud, Organización Panamericana de la Salud. "Manejo de cadáveres en el contexto del nuevo coronavirus (COVID-19) (recomendaciones provisionales, 18 de marzo de 2020)" Disponible en:

17 ECDC. Considerations related to the safe handling of bodies of deceased persons with suspected or confirmed COVID-19. Disponible en:

Journal Pre-proof

18 CDC. Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19).

19 THE ROYAL COLLEGE OF PATHOLOGIST. Briefing on COVID-19 Autopsy practice relating to possible cases of COVID-19 (2019-nCov, novel coronavirus from China 2019/2020). https://www.rcpath.org/uploads/assets/d5e28baf-5789-4b0f-acecfe370eee6223/447e37d0-29dd-4994-a11fe27b93de0905/Briefing-on-COVID-19-autopsy-Feb-2020.pdf

20 Xue, Y.: "Perspectives on the death investigation during the COVID-19 pandemic". *Forensic Science International*: Synergy 2 (2020) 126-128.

21 COLLEGE OF AMERICAN PATHOLOGIST. COVID-19 Autopsy Guideline Statement from the CAP Autopsy Committee.

22 RECOMENDACIONES SOBRE LA REALIZACION DE BIOPSIAS POSTMORTEM EN PACIENTES COVID 19. SEAP-IAP. Disponible en:

23 SOCIETÀ ITALIANA DI ANATOMIA PATOLOGICA E DI CITOPATOLOGIA DIAGNOSTICA Y SOCIETÀ SCIENTIFICA DEI MEDICI LEGALI DELLE AZIENDE SANITARIE DEL SERVIZIO SANITARIO NAZIONALE. Infezione respiratoria da COVID 19: documento su autopsia e riscontro diagnostico (REVISIONATO). https://www.siapec.it/public/uploads/archiviodocumenti/PRD%20COVID-19-9%20rev001%20010420.pdf

24 Ministerio de Sanidad y Sociedad Española de Anatomía Patológica. Documento técnico. Procedimiento para el manejo de cadáveres de casos de COVID-19. Versión del 13 de abril de 2020.

25 SOCIEDAD ESPAÑOLA DE PATOLOGÍA FORENSE. Recomendaciones actuación médico forense en el levantamiento del cadáver y autopsias médico-legales ante la situación de pandemia generada por el Covid-19 (versión 1.0, 20.03.2020). http://www.sepaf.es/documentos/protocolos/sepaf_covid19.pdf

26 Centers for Disease Control and Prevention Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens from Persons for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Updated April 29, 2020. https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/guidelines-clinical-specimens.html

27 Documento de consenso de la Sociedad Española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica (SEIMC): RECOMENDACIONES INSTITUCIONALES DOCUMENTO DE POSICIONAMIENTO DE LA SEIMC SOBRE EL DIAGNÓSTICO MICROBIÓLOGO DE COVID-19.

28 Fang, Y. y cols.: "Sensitivity of Chest CT for COVID-19: Comparison to RT-PCR". *Radiology*. 2020 Feb 19:200432. doi: 10.1148/radiol.2020200432.

29 Guo, L. y cols.: "Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19)". *Clin Infect Dis*. 2020 Mar 21. pii: ciaa310.

Journal Pre-proof

30 Orden JUS/1291/2010, de 13 de mayo, por la que se aprueban las normas para la preparación y remisión de muestras objeto de análisis por el Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses. BOE 19 de mayo de 2010.

31 Xu, Z. y cols.: "Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome". *Lancet Respir Med*. 2020 Apr;8(4):420-422.

32 Tian, S. y cols.: "Pathological Study of the 2019 Novel Coronavirus Disease (COVID-19) through Post-Mortem Core Biopsies". *Mod Pathol*. 2020 Apr 14.

33 Zhang, H., Zhou, P., Wei, Y. y cols.: "Histopathologic changes and SARS-CoV-2 immunostaining in the lung of a patient with COVID-19". *Ann Intern Med*. 2020 Mar 12. doi: 10.7326/M20-0533.

34 Yao, X.H., Li, T.Y., He, Z.C., y cols.: "A pathological report of three COVID-19 cases by minimally invasive autopsies" [Article in Chinese; Abstract available in Chinese from the publisher]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.* 2020 Mar 15;49(0):E009.

35 Tian, S., Hu, W., Niu, L., y cols.: "Pulmonary pathology of early-phase 2019 novel coronavirus (COVID-19) pneumonia in two patients with lung cancer". *J Thorac Oncol.* 2020 May;15(5):700-704. doi: 10.1016/j.jtho.2020.02.010.

36 Kuang, D., Xu, S.P., Hu, Y., Liu, C., Duan, Y.Q. y Wang, G.P.: "The pathological changes and related studies of novel coronavirus infected surgical specimen". *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.* 2020 Mar 15;49(0):E008. doi: 10.3760/cma.j.cn112151-20200315-00205.

37 Carsana, L., Sonzogni, A., Nasr, A. y cols.: "Pulmonary post-mortem findings in a large series of COVID-19 cases from Northern Italy". COVID-19 SARS-CoV-2 preprints from medRxiv and bioRxiv. doi: https://doi.org/10.1101/2020.04.19.20054262. (preprint not peer-reviewed)

38 Barton, L.M., Duval, E.J., Strobertg, E., Ghosh, S. y Mukhopadhyay, M.: "Covid-19 autopsies, Oklahoma, USA". *Am J Clin Pathol*. 2020 Apr 10. pii: aqaa062.

39 Fox, S.E., Akmatbekov, A., Harbert, J.A., Li, G., Brown, J.Q. y Vander Heide, R.S.: "Pulmonary and cardiac pathology in Covid-19: the first autopsy series from New Orleans". *COVID-19 SARS-CoV-2 preprints from medRxiv and bioRxiv* doi: https://doi.org/10.1101/2020.04.06.20050575. (preprint not peer-reviewed)

40 Hanley, B., Lucas, S.B., Youd, E., y cols.: "Autopsy in suspected COVID-19 cases". *J Clin Pathol.* 2020 May;73(5):239-242. doi: 10.1136/jclinpath-2020-206522.

41 Fabre, O., Rebet, O., Carjaliu, I., Radutoiu, M., Gautier, L. y Hysi, I.: "Severe Acute Proximal Pulmonary Embolism and COVID-19: A Word of Caution". *Ann Thorac Surg*. 2020 Apr 17. doi: 10.1016/j.athoracsur.2020.04.005

42 Tian, S., Xiong, Y., Liu, H., Niu, L., Guo, J., Liao, M. y Xiao, S.: "Pathological Study of the 2019 Novel Coronavirus Disease (COVID-19) through Post-Mortem Core Biopsies". *Mod Pathol*. 2020 Apr 14. doi: 10.1038/s41379-020-0536-x.

Journal Pre-proof

43 Xiong, T.Y., Redwood, S., Prendersgast, B. y Chen, M.: “Coronavirus and the cardiovascular system: acute and long-term implications”. *Eur Heart J.* 2020 Mar 18. pii: ehaa231. doi: 10.1093/eurheartj/ehaa231.

Journal Pre-proof