



Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information website.

Elsevier hereby grants permission to make all its COVID-19-related research that is available on the COVID-19 resource centre - including this research content - immediately available in PubMed Central and other publicly funded repositories, such as the WHO COVID database with rights for unrestricted research re-use and analyses in any form or by any means with acknowledgement of the original source. These permissions are granted for free by Elsevier for as long as the COVID-19 resource centre remains active.

## Carta Científica

**Estudio histológico mediante biopsia pulmonar post mortem en pacientes con neumonía por COVID-19**

**Histology Study of Postmortem Lung Biopsies in Patients with Covid-19 Pneumonia**

Al Director:

Los estudios de anatomía patológica (AP) del pulmón en pacientes que fallecen por COVID-19 nos han permitido entender el daño pulmonar producido por el virus SARS-CoV-2<sup>1,2</sup>. En el contexto de la pandemia COVID-19, la realización de una autopsia tiene varias limitaciones. La Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP) recomendaba no realizar autopsias por el riesgo biológico de contagio para los ejecutores de esta y por el riesgo de propagación del virus<sup>3</sup>. Solo se recomendaba realizarlas en centros con salas con nivel de seguridad BSL-3, equipadas con cabinas de seguridad biológica tipo II y filtros HEPA, poco comunes en España<sup>3</sup>. Ante estas limitaciones, la SEAP propuso la obtención de muestras *post mortem* de pacientes como una alternativa a la autopsia en los centros en que no se reuniese las condiciones de bioseguridad<sup>4</sup>. En una reciente revisión sistemática de estudios histológicos del pulmón publicados en infección por COVID-19, 33 de 171 (19%) pacientes incluyeron biopsias pulmonares obtenidas *post mortem*<sup>5</sup>. Ninguno de los estudios publicados fue realizado en hospitales de España.

En nuestro centro redactamos un protocolo para la obtención de biopsias pulmonares percutáneas en el *post mortem* inmediato que fue aprobado por el comité ético de investigación médica (número protocolo: HCB/2020/0487). Se obtuvo consentimiento de los familiares de los pacientes en todos los casos incluidos. En caso de tratarse de un paciente con diagnóstico de COVID-19, se ponían en contacto de forma inmediata con el equipo de cirugía torácica para la obtención de muestras mediante biopsia por aguja gruesa (BAG). Durante el periodo de estudio entre el 4 y el 27 de mayo/2020 se realizaron biopsias a un total de 13 pacientes. Las características clínicas de los pacientes y los tratamientos recibidos están descritos en la **tabla 1**.

Las biopsias se realizaron con equipos de protección individual completos mediante la utilización de agujas manuales (Tru-Cut® Biopsy Device 14G × 15 cm) o semiautomáticas (Bard® Mission™ Disposable Core Biopsy Instrument 14G × 16 cm). La toma de muestras se realizó mediante referencias anatómicas, estableciéndose 3 áreas de punción por cada hemitórax: anterior, lateral y posterior. Se puncionó cada área tantas veces como se considerase oportuno para obtener un cilindro de tejido pulmonar. Las muestras obtenidas se introdujeron de forma inmediata en cápsulas de seguridad precargadas con formalina (SafeCapsule SC021 y SC022 de DiaPath) para realizarse el análisis anatomopatológico diferido. Las muestras se procesaron tras fijación 24 h en formol y se

**Tabla 1**

Características generales de los 13 pacientes estudiados, n (%)/mediana (percentiles: 25-75)

<b>Sexo</b>	
Mujer, n (%)	4 (31)
Varón, n (%)	9 (69)
<b>Edad media</b>	
	78 (68-83)
<b>Enfermedades previas</b>	
Enfermedades respiratorias <sup>2a</sup> , n (%)	2 (15)
Hipertensión arterial, n (%)	7 (54)
Diabetes mellitus, n (%)	4 (31)
Enfermedad cardiovascular, n (%)	3 (23)
<b>Terapia recibida</b>	
Hidroxicloroquina/azitromicina, n (%)	11 (84)
Lopinavir/ritonavir, n (%)	9 (69)
Tocilizumab, n (%)	5 (38)
Anakinra, n (%)	6 (46)
Corticoides, n (%)	11 (85)
Antibióticos, n (%)	10 (77)
<b>Ingreso en unidad de cuidados intensivos</b>	
Intubación orotraqueal + ventilación mecánica	9 (62)
Ventilación mecánica no invasiva	4 (31)
Oxigenoterapia de alto flujo	4 (31)
Días de ingreso hospitalario	30 (5-44)

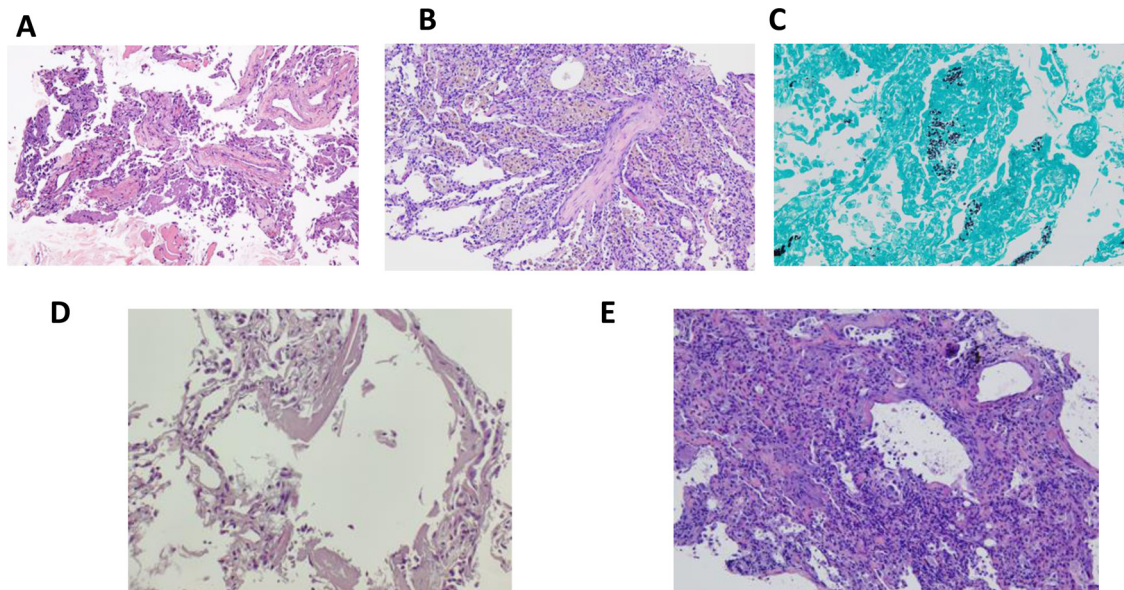
incluyeron en bloques de parafina, siguiendo el procedimiento habitual. Además de hematoxilina-eosina, en cada caso se realizaron tinciones de tricrómico de Masson para evaluar la fibrosis intersticial, tinción de Perls para evidenciar los depósitos de hemosiderina y tinción de plata metenamina para identificar hongos. Se realizó tinción inmunohistoquímica para actina de músculo liso para identificar los miofibroblastos.

La **tabla 2** muestra los resultados de las biopsias. De forma global, se obtuvo en un 73% (57 de 78 punciones) muestras de tejido pulmonar. No se identificaron contagios por SARS-CoV-2 debido al procedimiento. El patrón histológico más frecuente fue el daño alveolar difuso (DAD) (n = 9; 75%). En 2 pacientes se objetivó un DAD exudativo y en 8 un DAD en fase proliferativa (66,7%). En 3 pacientes los cambios de DAD se asociaban también con focos de neumonía organizada fibrinosa aguda (AFOP) y en 2 pacientes se asociaban con focos de neumonía organizada. Los cambios de neumonía organizada se encontraban en 3 pacientes, dos de ellos con DAD, y otro asociado a hemorragia alveolar. En la gran mayoría de las muestras se observó ensanchamiento celular intersticial moderado o grave (n = 7; 58,3%). En todos estos casos se observó la presencia de miofibroblastos en intersticio. En 6 casos se observó fibrina intraalveolar (50%). Por otro lado, la BAG sirvió para incluir otros diagnósticos adicionales (**tabla 2**): hemorragia pulmonar (n = 3), fibrosis pulmonar relacionada con el tabaco (n = 1), infección por *Pneumocystis jirovecii* (n = 1), linfangitis carcinomatosa (n = 1). No se observaron microtrombos vasculares en las muestras analizadas. Se incluyen como **material suplementario** los casos más significativos de las muestras con hallazgos radiológicos e histológicos representativos (**figs. 1S-5S**).

**Tabla 2**  
Características de los hallazgos patológicos

Caso	Neumonía organizada	Ensanchamiento celular intersticial	Miofibroblastos en intersticio (actina)	Membranas hialinas	Fibrina intraalveolar	Inflamación	Reactividad neumocitos	Cambios citopáticos	Hemosiderofagos	Microtrombos vasculares	Diagnóstico histológico	Otros
1	No	Moderado	Sí	No	Sí	PMN focal	Sí	Sí	Focal	No evidentes	AFOP/DAD-p	
2	Sí (focal)	Moderado/grave	Sí	No	No	No	Sí	No	No	No evidentes	Neumonía organizada focal/DAD-p	
3	No	Moderado	Sí	No	Sí	PMN focal	Sí	Sí	No	No evidentes	AFOP/DAD-p	
4	No	Moderado	Sí	No	Sí	No	Sí	Sí	Sí	No evidentes	AFOP/DAD-p	Enfisema + SRIF + hemorragia
5	Sí	Leve	No	No	No	No	No	No	Sí	No evidentes	Neumonía organizada	
6	No	Muy leve	Muy escasos	No	No	No	No	No	No	No evidentes	Cambios intersticiales mínimos	
7	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No evidentes	Linfangitis carcinomatosa con cambios mínimos en el parénquima	
8	No	Grave	Sí	No	No	Crónica	Sí	Sí	No	No evidentes	DAD-p	
9	No	Leve (focal)	Sí (focal)	Sí	Focal	PMN	Sí	Sí	No	No evidentes	DAD-ex con focos de DAD-p y neumonía	
10	No	Grave	Sí	No	Sí	Crónica	Sí	No	No	No evidentes	DAD-p. Infección por <i>Pneumocystis</i>	Enfisema
11	Focal	Leve	Muy escasos	No	Sí (focal)	PMN focal	Focal	No	No	No evidentes	Cambios mínimos y focal AFOP	
12	Sí	Leve	Escasos	Sí	No	Crónica focal	No	No	No	No evidentes	Neumonía organizada con DAD-ex	
13	No	Grave	Sí	No	Focal	PMN focal	Sí	Sí	No	No evidentes	DAD-p	

AFOP: *acute fibrinous and organizing pneumonia* (neumonía organizada fibrinosa aguda); DAD: daño alveolar difuso; DAD-ex: fase exudativa; DAD-p: fase proliferativa; SRIF: *smoking-related interstitial fibrosis* (fibrosis pulmonar relacionada con el tabaco).



**Figura 1.** Paciente 4: A) AFOP. Presencia de fibrina en alveolos (H&E,  $\times 200$ ). Paciente 5: B) Neumonía organizada con pseudo-pólipo de tejido conectivo en el centro, y la presencia de macrófagos pigmentados en los alveolos adyacentes, correspondientes a hemosideróforos. Ausencia de reactividad en los neumocitos (H&E,  $\times 100$ ). Paciente 9: C) Presencia de microorganismos con morfología de *Pneumocystis jirovecii* (tinción de plata metenamina,  $\times 100$ ). Paciente 12: D) Presencia de membranas hialinas en las luces alveolares (H&E,  $\times 100$ ). Paciente 13: E) Se observa daño alveolar difuso en fase proliferativa con engrosamiento intersticial y reactividad neumocitaria (H&E,  $\times 100$ ).

Este estudio presenta datos de biopsias pulmonares percutáneas por neumonía COVID-19 publicado por primera vez en nuestro país, demostrándose que es una técnica segura y eficaz, como alternativa a la autopsia en aquellos casos que no se pueda realizar. Respecto a los hallazgos histológicos, se confirma que los hallazgos más frecuentes son el daño alveolar difuso en cualquier de sus fases evolutivas, junto con la aparición de patrones de neumonía organizada y AFOP, tal como se ha descrito previamente<sup>5</sup>. La biopsia pulmonar además sirvió para confirmar otras complicaciones clínico-radiológicas concomitantes con la infección por SARS-CoV-2.

Este estudio presenta el mayor número de pacientes de las series de biopsias *post mortem* publicadas. Sin embargo, tiene una serie de limitaciones. Primero, se ha incluido un número limitado de pacientes y de un único centro hospitalario. Segundo, a diferencia de la técnica de elección que es la autopsia, las muestras obtenidas del pulmón solo reflejan una pequeña área del pulmón, a diferencia de la información que puede obtenerse en una autopsia. Sin embargo, los hallazgos obtenidos son muy similares a los resultados obtenidos en las autopsias publicadas, lo que refuerza la fiabilidad de dicha técnica<sup>5</sup>.

En conclusión, la biopsia pulmonar *post mortem* mediante BAG es una medida eficaz y segura para el estudio histológico de la neumonía por COVID-19. En el contexto de una coordinación óptima de un equipo multidisciplinar, puede ser una alternativa en los casos en que se requiera muestras de tejido pulmonar y no se pueda realizar una autopsia.

## Financiación

Este trabajo ha sido financiado con la subvención SLT008/18/00176 y el apoyo del Departamento de Salud de la Generalitat de Catalunya, en la convocatoria de ayudas 2019-2021, en régimen competitivo, para la financiación de diferentes programas y acciones instrumentales incluido en el Plan Estratégico de Investigación e Innovación en Salud 2016-2020. También ha sido financiado por Fondos FEDER (PI19/01152), SEPAR, SOCAP, FUCAP e Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS). Este trabajo ha sido financiado con fondos de

mecenazgo ad hoc para la investigación del COVID-19, procedentes de donaciones de ciudadanos y organizaciones al Hospital Clinic de Barcelona-Fundació Clinic per a la recerca Biomedica (DN040703).

## Conflicto de intereses

Los autores no presentan ningún conflicto de intereses con el presente estudio.

## Agradecimientos

Los autores quieren agradecer a los respectivos profesionales sanitarios que han participado en el estudio y en atender a los pacientes que han ingresado por COVID-19.

## Anexo. Material adicional

Se puede consultar material adicional a este artículo en su versión electrónica disponible en doi:10.1016/j.arbres.2021.09.009.

## Bibliografía

- Borcuk AC. Pulmonary pathology of COVID-19: A review of autopsy studies. *Curr Opin Pulm Med.* 2021;27:184–92.
- Polak SB, van Gool IC, Cohen D, von der Thüsen JH, van Paassen J. A systematic review of pathological findings in COVID-19: A pathophysiological timeline and possible mechanisms of disease progression. *Mod Pathol* 33. 2020;2128–38.
- Sociedad Española de Anatomía Patológica. Procedimiento para el manejo de cadáveres de casos de COVID-19.2020. [acceso 1 Ago 2021]. Disponible en: [https://www.saludcastillayleon.es/es/sanidadmortuoria.ficheros/1615045-Manejo\\_cadaveres\\_26.05.2020COVID-19.pdf](https://www.saludcastillayleon.es/es/sanidadmortuoria.ficheros/1615045-Manejo_cadaveres_26.05.2020COVID-19.pdf).
- Sociedad Española de Anatomía Patológica. Actualización sobre el estudio autopsico en la crisis sanitaria provocada por el COVID-19. 2020;2507:1–9.
- Hariri LP, North CM, Shih AR, Israel RA, Maley JH, Villalba JA, et al. Lung Histopathology in Coronavirus Disease 2019 as Compared With Severe Acute Respiratory Syndrome and H1N1 Influenza: A Systematic Review. *Chest.* 2021;159:73–84.

Jacobo Sellarés<sup>a,f,\*</sup>, Carlos Guerrero<sup>b</sup>, Daniel Martínez<sup>c,f</sup>,  
Mariana Benegas<sup>d</sup>, Sandra Cuerpo<sup>a</sup>,  
Fernanda Hernández-González<sup>a</sup>, Alejandra Libreros<sup>b</sup>,  
Rudith Guzman<sup>b</sup>, Ángela Guirao<sup>b</sup>, Marc Boada<sup>b</sup>,  
David Sánchez-Lorente<sup>b</sup>, Núria Albacar<sup>a</sup>, Leandro Grandó<sup>b</sup>,  
Pablo Paglialunga<sup>b</sup>, Francisco Javier García<sup>e</sup>, Rosa Faner<sup>f</sup>,  
Alvar Agusti<sup>a,f</sup>, Oriol Sibila<sup>a,f</sup>, Marcelo Sanchez<sup>d</sup>,  
Laureano Molins<sup>b</sup> y José Ramírez<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Servicio de Neumología, Hospital Clínic de Barcelona, Universitat de Barcelona, Universitat de Vic (UVIC), Barcelona, España

<sup>b</sup> Servicio de Cirugía Torácica, Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, España

<sup>c</sup> Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clínic de Barcelona, Universitat de Barcelona, Barcelona, España

<sup>d</sup> Servicio de Radiología, Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, España

<sup>e</sup> Sección de Donación y Coordinación de Trasplantes, Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, España

<sup>f</sup> IDIBAPS-Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, España

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [sellares@clinic.cat](mailto:sellares@clinic.cat) (J. Sellarés).