



# Giornale di Medicina Militare

PERIODICO DEL MINISTERO DELLA DIFESA

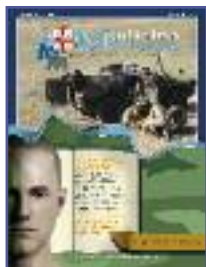


**INTERNATIONAL  
CONFERENCE:  
CIVIL MILITARY  
COOPERATION  
IN TRAUMA AND  
COMBAT TRAUMA  
SYSTEM EDUCATION  
AND TRAINING**

**September 26 - 27, 2013  
Nunziatella military school,  
Naples- Italy**

**ABSTRACTS BOOK**





# Sommario

- 5 Il Centro Studi e Ricerche di Sanità e Veterinaria dell'Esercito, una realtà unica in ambito militare. \* *Army Medical and Veterinary Research Centre, a unique reality in the military.*  
Mammana G.



- 23 Comparazione di efficacia tra levobupivacaina 0.5% e ropivacaina 0.75% per l'anestesia nella chirurgia della cataratta \*  
*Levobupivacaine 0,5% versus ropivacaine 0,75% for peribulbar anaesthesia in cataract surgery.*  
Fontana C.



- 31 Progettazione di nuovi farmaci mediante tecniche computazionali. \*  
*In silico techniques for drug design.*  
Spagnolo F.
- 49 Gestione del paziente con versamento pleurico maligno: toracentesi, drenaggio pleurico esterno con catetere di piccolo calibro e pleurodesi chimica. Caso clinico. \*  
*Management of a patient with malignant pleural effusion: thoracentesis, external drainage with a small diameter catheter and chemical pleurodesis. A case report.*  
Castracane R.E., Ferrentino G., Suriano R.

- 57 Utilizzo della NPWT in ferite da arma da fuoco e perdite di sostanza da ordigno esplosivo. \*  
*Use of NPWT in combat wounds and loss of substance by explosive device.*  
Campioni M.



## Rubriche

- 61 Un salto nel passato. Spunti dal Giornale di Medicina Militare di cento anni fa: "La Medaglia d'Argento al valor militare al Corpo sanitario militare e all'Associazione della Croce rossa italiana" e "Conferenze scientifiche degli Ospedali militari - Sommario degli argomenti trattati.
- 69 Infermieristica.
- Convegno "Civil Military Cooperation in Trauma and Combat Trauma System, education and training"**
- 75 Presentazione e Abstracts

\* Lavori tradotti interamente in inglese. - Articles entirely translate in english.



## Giornale di Medicina Militare

Periodico Medico-Scientifico del Ministero della Difesa

### Direttore responsabile

Col. Co.Sa.Me. Spe *Antonio Masetti*

### Presidente Comitato Scientifico

Ten. Gen. *Federico Marmo*

### Comitato Scientifico

Magg. Gen. *Francesco Tontoli*

Brig. Gen. *Giuseppe Vilardo*

Amm. Isp. Capo *Francesco Simonetti*

Gen. Div. *Domenico Ribatti*

Magg. Gen. *CRI Gabriele Lupini*

C.te s.v. C.M. SMOM Col. *Mario Fine*

Isp. Naz. II.VV. *CRI S.Illa Mila Peretti Brachetti*

Col. RTL me. *Angelo Giustini*

Dir. Cen. PS *Giovanni Cuomo*

### Referenti Scientifici

Cap. me. *Massimiliano Mascitelli*

Ten. Col. vet. *Mario Marchisio*

C.F. (SAN) *Vincenzo Aglieri*

Col. CSA rn *Claudio De Angelis*

Col. CC (me.) *Antonino Marella*

Ten. Col. me. *CRI Romano Tripodi*

Ten. RTL me. *GdF Angela Cristaldi*

Dir. Med. PS *Rosa Corretti*

### Redazione e Segreteria

*Francesca Amato*

*Mosè Masi*

### Collaboratori

Ten. Col. me. *Francesco Boccucci*

Ten. Col. CSA *Roberto Isabella*

La traduzione dei testi è stata curata

dal S.Ten. (Ris.Sel.) Dott.ssa *Sylvia Zawadzka*

### Direzione e Redazione

Via S. Stefano Rotondo, 4 - 00184 Roma

Tel.: 06/47353327 - 06/777039077

Fax: 06/77202850

@ e-mail: [gmedmil@igesan.difesa.it](mailto:gmedmil@igesan.difesa.it)

@ e-mail: [giornale.medmil@libero.it](mailto:giornale.medmil@libero.it)

### Amministrazione

STATO MAGGIORE DIFESA

Ufficio Amministrazione

Via XX Settembre, 11 - 00187 Roma

### Stampa

Edistampa Sud S.r.l.

Località Pezza, SNC

Dragoni 81010 Caserta (CE)

### Autorizzazione del Tribunale di Roma

al n.11687 del Registro della stampa il 27-7-67

Codice ISSN 0017-0364

Finito di stampare in maggio 2014

### Garanzia di riservatezza

I dati personali forniti per l'indirizzario vengono utilizzati esclusivamente per l'invio della pubblicazione e non vengono ceduti a terzi per nessun motivo.

(D. Lgs. 196/2003 - Codice in materia di protezione dei dati personali).

Il Giornale di Medicina Militare viene inviato a titolo gratuito agli Ufficiali Medici delle FF.AA. ed agli Organismi Centrali dei Servizi Sanitari dei Corpi Armati dello Stato ed assimilati.

## CONDIZIONI DI ABBONAMENTO

#### Italia:

Abbonamenti

€ 36,15

Fasc. singolo (annata in corso)

€ 5,16

Fasc. singolo (annate arretrate)

€ 7,75

#### Estero

€ 86,00 - \$ 125,20

#### Librerie

Sconto del 10% sull'importo annuo

Italia € 32,54

Estero € 77,40 - \$ 112,80

#### Servirsi, per i versamenti,

del c/c postale n. 27990001 intestato a:

Ministero Difesa - Stato Maggiore Difesa - Uff. Amministrazione

Giornale di Medicina Militare

Via XX Settembre, 11 - 00187 Roma.

## CAMBI DI INDIRIZZO

**Gli Ufficiali Medici delle FF.AA., gli Enti presenti nella lista di distribuzione ed i Sigg. Abbonati sono pregati di segnalare tempestivamente eventuali cambiamenti di indirizzo allo scopo di evitare disagio nella spedizione del Giornale.**

L'IVA sull'abbonamento di questo quadrimestrale è considerata nel prezzo di vendita ed è assolta dall'Editore ai sensi dell'art. 74, primo comma lettera C del DPR 26/10/1972 n. 633.

L'importo non è detraibile e pertanto non verrà rilasciata fattura.

# Norme per gli Autori

La collaborazione al Giornale di Medicina Militare è libera. Le opinioni espresse dagli Autori, così come eventuali errori di stampa non impegnano la responsabilità del periodico.

Gli elaborati dovranno pervenire su supporto elettronico (floppy disk, cd-rom, oppure come allegato e-mail) con due copie a stampa ed eventuali tabelle e figure, all'indirizzo:

**Redazione del Giornale di Medicina Militare - Via Santo Stefano Rotondo n. 4 - 00184 Roma - Italia - Telefono 06/777039377 - 06/47353327 - Fax 06/77202850;**

**e-mail: gmedmil@igesan.difesa.it**

**e-mail: giornale.medmil@libero.it**

Lo scopo di queste note è facilitare gli Autori nella presentazione del proprio lavoro e di ottimizzare le procedure di invio-revisione-pubblicazione.

L'accettazione è condizionata al parere del Comitato Scientifico, che non è tenuto a motivare la mancata pubblicazione.

Il Comitato Scientifico, ove lo ritenga necessario, potrà richiedere ai competenti organismi delle FF.AA. parere in merito all'opportunità di pubblicare o meno un articolo. Condizione preferenziale per la pubblicazione dei lavori è che almeno uno degli Autori sia un appartenente ai Servizi Sanitari di FF.AA., G.D.F., Polizia di Stato, VV.FF., od in alternativa alla C.R.I., allo S.M.O.M. o alla Protezione Civile.

Il Giornale accetta per la pubblicazione lavori scientifici, comunicazioni scientifiche/casi clinici/note brevi, editoriali (solo su invito) ed ogni altro contributo scientifico rilevante.

Tutti gli Autori sono responsabili del contenuto del testo e che il lavoro non sia stato pubblicato o simultaneamente inviato ad altre riviste per la pubblicazione.

Una volta accettati i lavori divengono di proprietà della Rivista e non possono essere pubblicati in tutto o in parte altrove senza il permesso dell'Editore.

I testi andranno salvati nei formati: DOC (Microsoft Word), RTF (Rich Text Format) o TXT.

I grafici, se generati in Microsoft Excel o simili, inviati completi della tabella dei dati che ha generato il grafico.

Le figure, preferibilmente inviate in originale o in formato digitale, nei formati JPG o TIFF con la risoluzione minima di 300 dpi, numerate progressivamente con numeri arabi e corredate da idonee didascalie. Il posizionamento approssimativo delle tabelle e delle figure va indicato a margine.

La pagina iniziale deve contenere:

- Titolo del lavoro in italiano e in inglese;
  - Il nome e cognome di ogni Autore;
  - Il nome e la sede dell'Ente di appartenenza degli Autori;
  - Il recapito, telefono, fax ed e-mail dell'Autore cui si deve indirizzare la corrispondenza;
  - Una immagine rappresentativa dell'argomento principale dell'elaborato.
- Per quanto attiene ai lavori scientifici, si richiede di strutturarli, preferibilmente, secondo il seguente ordine:

**Titolo:** in italiano ed in inglese.

**Riassunto:** compilato in italiano ed in inglese di circa 10 righe e strutturato in modo da presentare una visione complessiva del testo. Ove possibile deve presentare indicazioni circa lo scopo del lavoro, il tipo di studio, i materiali (pazienti) e metodi analitici applicati, i risultati e le conclusioni rilevanti. Non deve presentare abbreviazioni.

**Parole chiave:** in numero massimo di 6 in italiano ed in inglese. Le parole chiave dovranno essere necessariamente contenute nel testo e preferibilmente scelte dal Medical Subject index List dell'Index Medicus.

**Introduzione:** illustrare brevemente la natura e lo scopo del lavoro, con citazioni bibliografiche significative, senza includere dati e conclusioni.

**Materiali (pazienti) e Metodi:** descrivere in dettaglio i metodi di selezione dei partecipanti, le informazioni tecniche e le modalità di analisi statistica.

**Risultati:** Presentarli con chiarezza e concisione, senza commentarli.

**Discussione:** spiegare i risultati eventualmente confrontandoli con quelli di altri autori. Definire la loro importanza ai fini dell'applicazione nei diversi settori.

**Citazioni:** i riferimenti bibliografici dovranno essere segnalati nel testo, numerati progressivamente ed indicati tra parentesi.

**Bibliografia:** i riferimenti bibliografici dovranno essere limitati ad una stretta selezione. Solo i lavori citati nel testo possono essere elencati nella bibliografia. I lavori andranno numerati progressivamente nell'ordine con cui compariranno nel testo; gli Autori dei testi citati vanno totalmente riportati quando non superiori a 6, altrimenti citare i primi tre seguiti dall'abbreviazione: et al.. La bibliografia deve essere redatta

secondo il Vancouver Style adottato dal Giornale con le modalità previste dall'*International Committee of Medical Journal Editors*. Per gli esempi, consultare il sito: [http://www.nhl.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.htm](http://www.nhl.nih.gov/bsd/uniform_requirements.htm). Per le abbreviazioni si consiglia di uniformarsi alla *List of Journal Indexed dell'Index Medicus*, aggiornata annualmente.

**Tabelle e figure:** Ognuna delle copie dovrà essere completa di figure e tabelle. Le tabelle dovranno essere numerate progressivamente con numeri romani, dattiloscritte a doppia spaziatura su fogli separati con relativa intestazione.

**Note a fondo pagina:** per quanto possibile dovrebbero essere evitate. Se indispensabili, devono apparire in fondo alla rispettiva pagina, numerate in progressione.

**Inclusione tra gli Autori:** per essere designati Autori è necessario il possesso di alcuni requisiti. Ciascun Autore deve aver preso parte in modo sufficiente al lavoro da poter assumere pubblica responsabilità del suo contenuto. Il credito ad essere Autore deve essere basato solo sul fatto di aver dato un contributo sostanziale a:

- 1) concezione del lavoro e disegno, oppure analisi ed interpretazione dei dati;
- 2) stesura preliminare dell'articolo o sua revisione critica di importanti contenuti concettuali;
- 3) approvazione finale della versione da pubblicare.

Le condizioni 1, 2 e 3 devono essere TUTTE soddisfatte. La partecipazione solo alla raccolta dati o la supervisione generale del gruppo di ricerca non giustifica l'inserimento nel novero degli Autori.

**Autorizzazioni e riconoscimenti:** Le citazioni estese, i dati ed i materiali illustrativi ripresi da pubblicazioni precedenti debbono essere autorizzate dagli Autori e dalle case editrici, in conformità con le norme che regolano il copyright.

**Uniformità:** La redazione si riserva il diritto di apportare al testo minime modifiche di forma e di stile per uniformità redazionale.

È richiesto l'invio di un breve curriculum vitae ed i punti di contatto di tutti gli Autori e dell'Autore referente per l'elaborato (indirizzo, tel., fax, e-mail).

I lavori, le foto ed i supporti informatici rimarranno custoditi agli atti della Redazione, non restituiti anche se non pubblicati.



**Centro studi e ricerche di sanità e veterinaria dell'Esercito**

**Istituto superiore di sanità**



**Le offese biologiche  
alla luce delle nuove conoscenze sui genomi:  
dalla metagenomica all'era post-genomica**

**Presidente del congresso**  
Magg. Gen. Francesco TONTOLI

**Direttori del congresso**  
Prof. Giovanni REZZA  
Brig. Gen. Giacomo MAMMANA

**Roma, 27 giugno 2013**

**Aula del Centro studi e ricerche di sanità e veterinaria dell'Esercito**  
**Via Santo Stefano Rotondo, 4 - Roma**

***Relatori e Moderatori***

*Dott. Massimo ANCORA (Verano) - Dott. Fabrizio ANNIBALLI (Roma) - Dott. Markus ANTWIRPPEIN (München, Germania) - Dott.ssa Alessandra CARATTOLI (Roma) - Maggiore Nino D'AMORE (Roma) - Prof. Mats FORSMAN (Umeå, Svezia) - Colonnello Fabrizio LISTA (Roma) - Brigadier Generale Giacomo MAMMANA (Roma) - Prof. Cesare MONTECUCCO (Padova) - Prof. Giovanni REZZA (Roma) - Brigadier Generale Alfredo VECCIONE (Milano) - Colonnello Gilles VERGNAUD (Baynecq, Francia)*

# Il Centro Studi e Ricerche di Sanità e Veterinaria dell'Esercito, una realtà unica in ambito militare

Army Medical and Veterinary Research Centre, a unique reality in the military

Giacomo Mammana \*



Personale del Centro Studi e Ricerche di Sanità e Veterinaria

**Riassunto** - Ufficialmente istituito il 1° Febbraio 1960, allo scopo di accentrare in un unico organismo le attività tecnico-scientifiche nei settori di interesse della Forza Armata, il Centro Studi e Ricerche di Sanità e Veterinaria è una realtà unica nell'ambito della Sanità Militare. Da più di mezzo secolo è il riferimento non solo nella ricerca scientifica sanitaria militare, ma anche per l'applicazione delle più innovative scoperte in ambito sanitario militare e per fornire la preparazione di eccellenza richiesta agli operatori sanitari coinvolti in delicati compiti nei contesti Nazionali ed Internazionali, tra i quali i Teatri Operativi. Il Centro si inserisce nell'attuale scenario internazionale per l'elaborazione di sofisticati protocolli analitici per la difesa sanitaria attiva e passiva delle truppe e per provvedere elementi di analisi a livello tattico e strategico. La rapida evoluzione della ricerca scientifica e la plethora di informazioni conseguenti all'era post-genomica impongono al Centro di farsi pioniere in campi quali, ad esempio, la difesa da eventi NBCR.

**Parole chiave:** studio, ricerca, bioterrorismo, salute, alimenti, analisi.

**Summary** - Officially funded on February the 1st 1960, to centralise in one body the scientific and technical activities in the areas of interest of the Armed Forces, the Army Medical and Veterinary Research Centre is a unique reality of the Italian Military Health. For more than half a Century, the Centre is the reference not only in the academia, but also for the application of the most innovative discoveries in the field of military health care and to provide the preparation of excellence required by the professionals involved in delicate tasks in national and international contexts including overseas conditions. The Centre is part of the current international scenario for the development of sophisticated analytical protocols for the defence of active and passive health force protection and also to provide elements of analysis to tactical and strategic level. The rapid evolution of scientific research and the plethora of information resulting from post-genomic era impose to the Centre to be a pioneer in fields such as defence against CBRN conditions.

**Key words:** study, research, bioterrorism, health, food, analysis.

\* Gen. B., Centro Studi e Ricerche di Sanità e Veterinaria dell'Esercito, Roma.

## Introduzione

### Storia

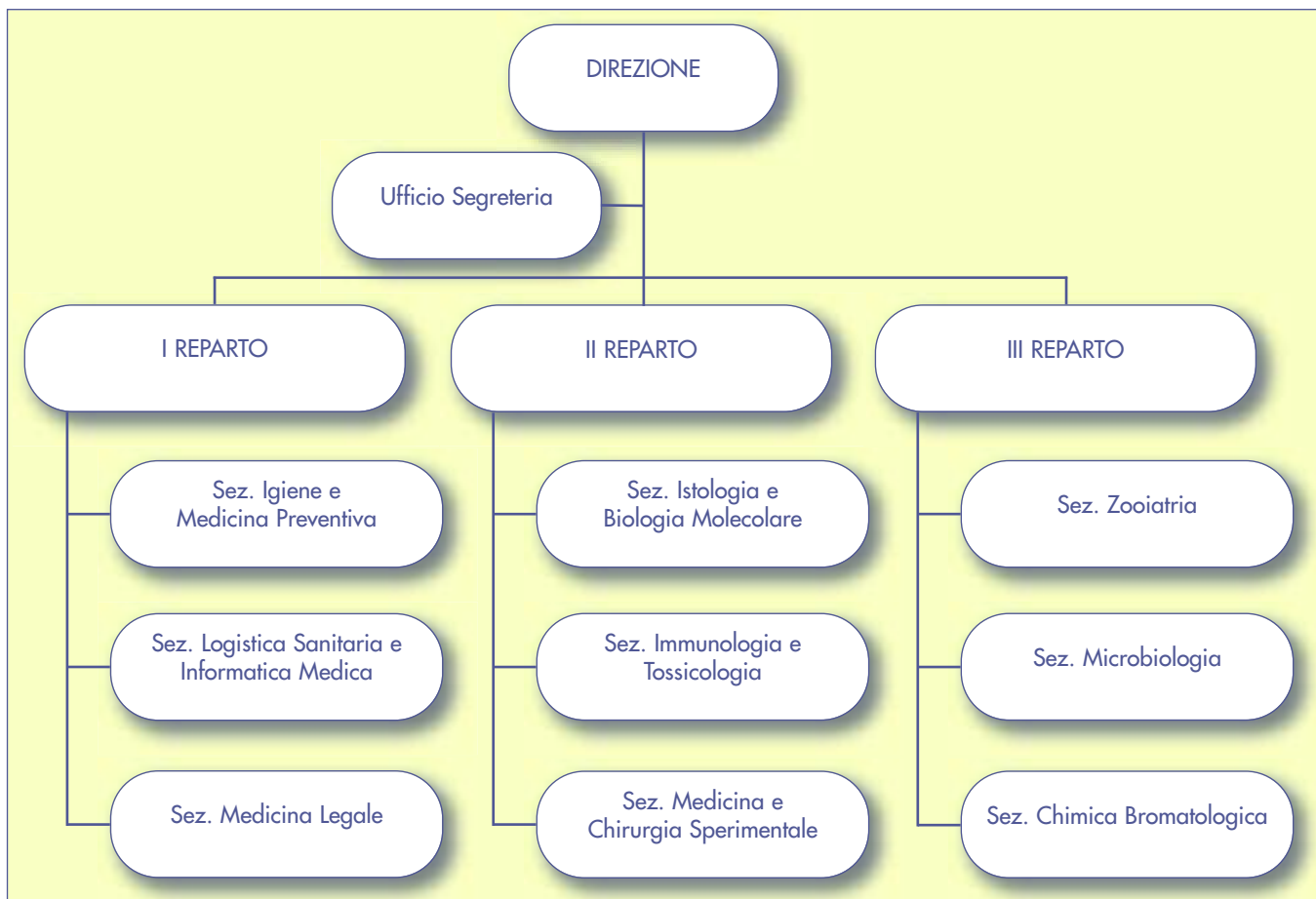
Con la circolare n. 2000-R/1526323, datata 20 Dicembre 1956, lo Stato Maggiore dell'Esercito disponeva che, con decorrenza retroattiva dal 1° Luglio 1956, l'Ospedale Militare di Roma assumesse la denominazione di "Ospedale Militare di Roma e Centro Studi della Sanità Militare". Successivamente, il 1° Febbraio 1960, veniva costituito il Centro Studi e Ricerche della Sanità Militare quale ente indipendente e sito nella sede di Roma, in un proprio edificio appositamente costruito, in Villa Fonseca, via S. Stefano Rotondo n. 4 (circolare SME n. 60-R/15263452 del 15 Gennaio

1960). Si costruirono, quindi, il Reparto di Radiobiologia, con l'annessa Sezione Ematologica ed i Laboratori di Biologia applicata, Microbiologico e Chimico-Bromatologico. Il nuovo Centro Studi e Ricerche della Sanità Militare veniva posto alle dipendenze della Direzione Generale della Sanità Militare del Policlinico Militare di Roma sotto il profilo tecnico e sotto quello amministrativo, rispettivamente.

L'attuale organizzazione del Centro si sviluppa in una Direzione, un Ufficio segreteria e tre Reparti costituiti di tre Sezioni (**Fig. 1**). Già dall'organigramma emerge la peculiare interoperabilità tra Reparti e Sezioni, dettata principalmente dal carattere interdisciplinare della ricerca in ambito sanitario e biomedico.

### Compiti

Il Centro Studi e Ricerche di Sanità e Veterinaria dell'Esercito fornisce consulenza scientifica e tecnica per il Dipartimento di Sanità e Veterinaria, per lo Stato Maggiore della Difesa e per le aree di Vertice, al fine di fornire elementi di analisi a livello tattico e strategico per mettere in atto sofisticate opere attive e passive di *health force protection* in ambito nazionale ed internazionale. I principali compiti del Centro si esplicano attraverso studi, ricerche, consulenze e formazione avanzata nelle applicazioni biomedicali e biotecnologiche per la difesa CBRN oltre allo studio di agenti patogeni inusuali (virus rari ed agenti di guerra biologica), biodosimetria e genetica



**Fig. 1** - Organigramma del Centro Studi e Ricerche di Sanità e Veterinaria.



umana. Tra gli studi condotti in ambito Forza Armata, rientra la valutazione costo/efficacia delle strategie vaccinali in atto, la monitorizzazione della prevalenza ed incidenza nella collettività militare di malattie trasmissibili e di patologie non infettive di rilevanza sociale. Le attività routinarie, svolte nei settori della chimica e della microbiologia delle acque, della chimica tossicologica, della microbiologia in ambito alimentare, consentono agli enti dell'Esercito, anche nei teatri operativi, di mantenere sotto controllo le risorse idriche, anche per la rilevazione di radioattività in matrici organiche ed inorganiche, ed il controllo del personale sul consumo di droghe d'abuso.

Dove il Centro raggiunge livelli di eccellenza internazionali è nell'attività di ricerca sui microorganismi potenzialmente in grado di essere utilizzati e/o manipolati per azioni di guerra biologica o di bioterrorismo, e sugli effetti genotossici di agenti fisici e chimici. Nella prima attività si distinguono vari livelli di studio: ricerca sperimentale di base, ricerca traslazionale applicata ed infine ricerca diagnostica e sviluppo di reagenti potenzialmente impiegabili nei teatri operativi. Il Centro è inserito all'interno di reti internazionali di laboratori omologhi, nel prestigioso ruolo di leadership delle reti di biodifesa dei Paesi europei in ambito EDA, il cui scopo consiste nella verifica dell'utilizzo degli agenti B nel contesto della *Biological and Toxin Weapon Convention* (BTWC) e la creazione di una capacità di identificazione forense a livello europeo. Ciò si identifica come unico ente della Difesa per la raccolta, manipolazione e studio delle principali minacce biologiche ed unica risorsa bioinformatica. Nella seconda attività, il Laboratorio di

biodosimetria opera per la ricerca e lo sviluppo delle metodologie che utilizzano marcatori biologici per valutare l'esposizione a radiazioni ionizzanti e non ionizzanti (radiazioni elettromagnetiche) e stima della dose assorbita. Vengono, inoltre, condotti studi, anche retrospettivi, di monitoraggio del personale militare e dei cani impiegati nei teatri operativi, per la rilevazione di potenziali rischi di esposizione ambientale ad agenti genotossici. Il Centro è inserito nella NATO, all'interno del quale svolge diverse attività tra le quali l'intercomparazione tra i laboratori partecipanti dei diversi Paesi in caso di emergenze Nucleari e Radiologiche.

Presso il Centro vengono inoltre svolti corsi addestrativi per il personale impiegato all'estero nei teatri operativi sulla rilevazione rapida campale di agenti biologici e sul controllo delle acque, oltre all'attività didattica a favore dei principali Atenei italiani per la preparazione di tesi sperimentali di laurea e di dottorato.

## Organizzazione

L'attuale organizzazione del Centro è divisa in tre Reparti costituiti da tre Sezioni. Di seguito viene riassunta la conformazione descrivendo sinteticamente le peculiarità.

### I Reparto

*Sezione di Igiene e Medicina Preventiva.* Monitorizza la prevalenza ed incidenza nella collettività militare di malattie trasmissibili e di patologie non infettive di rilevanza sociale, promuove l'informazione/educazione sanitaria per il personale militare sulle tematiche di prevenzione delle patologie infettive e delle

malattie sociali, supporta l'osservatorio epidemiologico in ambito Forza Armata. *Sezione di Logistica e Informatica Medica.* Identifica i vincoli ergonomici nella progettazione di nuovi mezzi ed apparecchiature destinati all'impiego operativo, propone nuovi modelli di organizzazione e gestione dei Servizi di medicina del lavoro ed igiene del lavoro in ambito militare, svolge indagini epidemiologiche, con sistemi informatizzati, finalizzati al miglioramento delle attività di supporto sanitario

*Sezione di Medicina Legale.* Si occupa dello studio delle direttive medico-legali relativamente alle principali patologie riscontrabili nella comunità militare, valuta le ripercussioni di leggi e regolamenti dello Stato possono avere sotto il profilo medico-legale definisce quali possono essere i riflessi della legislazione sanitaria nazionale ed internazionale sulle tematiche d'interesse specifico della Sanità Militare.

## II Reparto

Il II Reparto svolge studi, ricerche, consulenze e formazione avanzata nelle applicazioni biomedicali e biotecnologiche per la difesa CBRN oltre allo studio di agenti patogeni inusuali (virus rari ed agenti di guerra biologica), biodosimetria e genetica umana. La spiccata interdisciplinarietà delle materie di studio e ricerca svolte dal Reparto rende le Sezioni di cui è composto molto strettamente connesse e, pertanto, compiti e ricerche sono riassunti nello specifico paragrafo in cui sono descritti i progetti di ricerca in cui è coinvolto. Presso i laboratori del II Reparto sono condotti studi utilizzando le più innovative tecnologiche in ambito biotecnologico, tra cui due piattaforme di sequenziamento di DNA, Roche 454



ed Illumina. Oggi, al fine di supportare gli esperimenti di laboratorio e di analizzarne i risultati, è attivo l'unico progetto di bioinformatica della Forza Armata. La sinergia delle diverse competenze permette l'identificazione di agenti biologici mediante la sequenziazione di DNA/RNA, ed altre tecniche molecolari, ottimizzate proprio in questi laboratori per l'uso in ambiente ostile.

I ricercatori di questo Reparto sono coinvolti in progetti di Ricerca a livello internazionale non solo come *partners* delle attività, ma anche come *team leaders*.

Il II Reparto, inoltre, svolge attività didattica a vari livelli di specializzazione, mutuando moduli specifici per il corso per operatori di laboratorio biologico campale e BLS3 (fruttoristi: 7° rgt. Difesa NBC e Vigili del fuoco), preparazione di tesi di laurea magistrale, tutoraggio per dottorati di ricerca, specializzazione e master di II livello per studenti delle Università di Roma "La Sapienza", Roma "Tor Vergata", Roma TRE, Pisa ed Udine.

### III Reparto

Analogamente al II Reparto, anche il III Reparto è caratterizzato da una elevata interdisciplinarietà, pertanto si discutono i compiti e le attività in un corpo unico. I compiti principali risiedono nelle indagini analitiche, svolgendo:

- esami di *routine microbiologici* su campioni di acqua destinata al consumo umano in accordo a quanto previsto dal decreto legislativo n. 31/2001. I campioni pervengono da enti militari dislocati sul territorio nazionale;
- esami di *verifica microbiologici* su campioni di acqua destinata al

consumo umano in accordo a quanto previsto dal decreto legislativo n. 31/2001. I campioni pervengono dai seguenti teatri operativi: Afghanistan, Libano;

- esami sugli *alimenti* sospetti di episodi tossinfettivi ed esami in regime di controllo/autocontrollo su alimenti in accordo a quanto previsto dal Regolamento CE 852/2004. I campioni sono prelevati lungo la linea di distribuzione delle mense di enti militari.

Il Reparto è competente per fornire consulenze tecniche sugli aspetti igienico-sanitari legati alla potabilizzazione dell'acqua nei teatri operativi e sulle problematiche igienico sanitarie inerenti le reti di distribuzione dell'acqua nelle caserme sul territorio nazionale. Nell'ambito dell'attività di consulenza vengono tenuti contatti diretti con gli ufficiali medici presenti sia nei teatri operativi sia su territorio nazionale. Inoltre, l'attività di ricerca è svolta in collaborazione con l'Università Roma "Tre". Tra le ricerche in atto spiccano la sperimentazione sul sistema MBS (micro biological survey, metodo rapido per la rilevazione e la conta selettiva dei microrganismi nei prodotti alimentari di origine animale), sviluppo di metodiche analitiche per l'isolamento dai campioni di acqua di agenti patogeni.

Al fine di far fronte alle crescenti esigenze analitiche per la rilevazione di radioattività in matrici organiche ed inorganiche, è stato recentemente acquisito uno scintillatore liquido TRICARB 2910 della Perkin Elmer, con il quale è possibile rilevare il livello di radioattività (emissioni  $\beta$ ) dovuta alla presenza di trizio.

Il Reparto organizza annualmente corsi di qualificazione per Ufficiali e

Sottufficiali incaricati del controllo e del prelevamento delle acque. In particolare gli Ufficiali ricevono una formazione orientata al controllo della filiera di produzione dell'acqua nei teatri operativi ed alla gestione del rischio correlato al suo utilizzo. L'attività didattica è articolata in due moduli, uno teorico ed uno pratico tenuti entrambi presso i laboratori del Reparto. Il corso, pensato per i Sottufficiali, è orientato alla formazione teorica sugli aspetti legislativi e pratica per lo svolgimento dei prelievi da effettuare nei Teatri Operativi. Inoltre, presso il Reparto vengono svolte le attività didattiche del Corso Tecnico Applicativo per gli Ufficiali Veterinari e Farmacisti.

### Collaborazioni

Il Centro Studi e Ricerche vanta prestigiose collaborazioni con Università ed Istituti di Ricerca nazionali ed internazionali sia militari sia civili. In **tabella 1** sono elencate le collaborazioni più significative del Centro. I rapporti con questi Istituti di Ricerca prevedono non solo uno scambio di informazioni, ma una interazione dinamica tesa alla realizzazione di specifici progetti di ricerca, finanziati da organizzazioni internazionali tra cui EDA e NATO, finalizzati alla creazione di strumenti idonei alla realizzazione di procedure attive e passive di health force protection (**Tab. 2**):

- In campo militare, specificatamente connesse alle esigenze delle nostre truppe, dislocate in Patria o in Teatro Operativo;
- Connesse alla protezione e salvaguardia della Nazione, dovendoci, sempre più spesso, relazionare con minacce legate al bioterrorismo.



**Tab. 1 - Collaborazioni del Centro Studi e Ricerche di Sanità e Veterinaria**

Istituto Superiore di Sanità Roma
• Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate;
• Alimenti;
• Epidemiologia.
CNR - Istituto di Tecnologie Biomediche (Padova)
Centre d'Etude du Bouchet Parigi (F)
FOI Umea (SE)
IMB Monaco (D)
TNO Den Hague (NL)
FFI Oslo (NO)
Istituti Zooprofilattici Sperimentali
• LT Roma;
• PB Foggia;
• AM Teramo;
• LE Pavia.
Un. HOHENHEIM Stoccarda (D)
Un Paris Sud IX Orsay (F)
Facoltà di Agraria - Università di Milano
Facoltà di Scienze naturali (Roma, Bari, Padova)
Facoltà di Medicina (Genova, Pisa, Roma (I e II))

**Tab. 2 - Progetti di ricerca internazionali in corso**

LABGENMIL	Laboratorio Avanzato di Biodosimetria Genetica Militare
GREAM	Effetti genotossici dei campi elettromagnetici nelle applicazioni militari
EBLN	European Biodefence Laboratory Network
TRACE-MI	Toxicological Risk Assessment for Chemical Exposures of Military Interest

## Ricerche

Oltre ai compiti prettamente istituzionali elencati precedentemente, la consolidata esperienza del Centro in ambito scientifico ha permesso ai nostri ricercatori di vincere prestigiose competizioni per l'assegnazione di ingenti fondi per la ricerca. Attualmente sono in atto i seguenti: LABGENMIL, GREAM, NIB, TRACE-MI, EBLN, LAISC.

*LABGENMIL. Laboratorio Avanzato di Biodosimetria Genetica Militare.* Il progetto si prefigge di monitorare il personale militare ed i cani impiegati nel Teatro Operativo Afgano per valutare un potenziale rischio di esposizione ambientale ad agenti genotossici fisici (radiazioni) e/o chimici. Il Centro è l'ente militare promotore e realizzatore del progetto che si avvale del Centro Veterinario Militare di Grosseto per il

reclutamento dei soggetti e dei cani dello studio. L'ente civile che partecipa al progetto è l'Istituto Nazionale per la Ricerca sui Tumori di Genova - Unità di Cancerogenesi Ambientale. Il Responsabile scientifico è il Col. me. Florigio Lista, Capo del II Reparto del Centro. Nello specifico si tratta di un laboratorio militare che opera per lo sviluppo e la validazione delle metodologie che permettono di valutare la dose assorbita di



radiazioni ionizzanti, utilizzando determinati biomarcatori genetici. Queste specifiche competenze sviluppate dal laboratorio potranno, quindi, essere convertite in pronte ed efficienti disponibilità operative in caso di esposizione certa o presunta alle radiazioni ionizzanti. Il laboratorio può utilizzare le suddette metodologie non solo in caso di emergenza radiologica o nucleare ai fini del "triage" della popolazione esposta ma anche per la valutazione del rischio ambientale da agenti genotossici nei teatri operativi internazionali. Al momento si stanno studiando le condizioni dei cani e dei relativi accompagnatori militari impiegati nel Teatro Operativo Afgano, prima della partenza ed al successivo rientro dalla missione. I soggetti dello studio possono avere o meno una pregressa esperienza in Teatro Operativo. L'esigenza di sottoporre anche il cane allo studio deriva dalla constatazione che, avendo un ravvicinato contatto fisico con l'ambiente ed una maggiore sensibilità ad agenti genotossici rispetto all'uomo, costituisce un valido modello per la rilevazione di fattori di rischio ambientale. Dai soggetti interessati sono prelevati esclusivamente campioni di sangue periferico dai quali saranno allestite colture cellulari linfocitarie su cui vengono effettuati esami citogenetici quali l'analisi dei cromosomi di centrici ed il test dei micronuclei in cellule binucleate.

*GREAM. Effetti genotossici dei campi elettromagnetici nelle applicazioni militari.* Il rischio genotossico associato all'esposizione a radiazioni elettromagnetiche, soprattutto ad alta frequenza, resta a tutt'oggi argomento di controversie. La realizzazione del progetto GREAM è quindi opportuna come premessa per ulteriori studi tesi ad individuare condi-

zioni di rischio associate all'esposizione a radiazioni elettromagnetiche che possono presentarsi nella popolazione militare sia per condizioni professionali che ambientali. Questo studio risponde all'esigenza, sempre più pressante negli ultimi tempi, di individuare fattori di rischio per la salute dei militari impegnati in attività che prevedono l'utilizzo di radiazioni ionizzanti e non ionizzanti.

*NIB. Nuovi Inibitori del Botulino.* L'obiettivo del progetto è quello di valutare degli inibitori del terzo passaggio (traslocazione del dominio metalloproteasico L nel citoplasma) del meccanismo d'intossicazione cellulare delle BoNTs (neurotossine botuliniche), mediante nuovi saggi cellulari e mediante l'uso di tecniche biofisiche come il planar lipid bilayer, l'inside-out patch. Inoltre lo studio di una serie di inibitori dei processi di refolding delle proteine che avvengono dentro la cellula affiancato ai precedenti approcci dovrebbe fornire nuovi inibitori del botulismo. Gli esperimenti di biologia molecolare sono condotti presso il nostro Centro, mentre quelli di biologia cellulare, elettrofisiologia e modelli animali sono supervisionati dal Prof. Cesare Montecucco del Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Padova. Il coordinatore Scientifico è il Col. Florigio Lista.

*TRACE-MI. Toxicological Risk Assessment for Chemical Exposures of Military Interest (TRACE-MI).* L'obiettivo di questo progetto è di sviluppare adeguati strumenti per la gestione consapevole dei rischi alla salute dei militari esposti in modo significativo alle sostanze chimiche di interesse militare. La migliore valutazione dei rischi e la corretta informazione sono la base per la messa a punto di misure atte alla loro

riduzione (piani di risposta, protezione fisica, contromisure mediche). Il progetto TRACE-MI si propone di raggiungere questo obiettivo, colmando quelle lacune delle conoscenze nella catena di eventi. Lo scopo del progetto è limitato alle emissioni dai sistemi d'armi, compresi quindi il munizionamento, il fumo ed i prodotti di combustione. Tuttavia, si cercherà di fornire soluzioni generiche che saranno applicabili anche per le altre esposizioni a sostanze chimiche di interesse militare. Il progetto è a scala internazionale e vede come componenti la Spagna, Francia, Germania, Italia, Olanda, Norvegia, Portogallo e Svezia. La compagine Italiana è rappresentata oltre che dal nostro Centro, dal Centro Tecnico Logistico Inferforze NBC, che da anni si occupa dello studio delle sostanze chimiche connesse all'impiego militare, e dal Centro Antiveneni e Centro Nazionale di Informazione Tossicologica, Ospedale Istituto Scientifico di Pavia, IRCCS Fondazione Maugeri, punto di riferimento nazionale per la tossicologia umana. Coordinatore per il CSRSV il Col. Florigio Lista.

*EBLN. European Biodefence Laboratory Network (EBLN).* L'obiettivo è quello di preparare e sviluppare ulteriori strumenti per il confronto di agenti patogeni ed un sistema della loro tracciatura a scopi forensi su piattaforma dei laboratori per la biodifesa (progetto "Database B"). In particolare saranno costituiti sistemi di analisi, validazione e di controllo qualità del processo. Le attività comprendono lo sviluppo e la manutenzione delle collezioni di riferimento e database esistenti. Le precedenti attività di ricerca condotte su batteri sono estese a virus. Il lavoro tecnico comprende il sequenziamento



del genoma dei ceppi derivati dal “Database B” di riferimento, l’identificazione di variabili su singole posizioni nucleotidiche come impronta genetica per il BWA generi, la descrizione e raccolta delle sequenze di virus per la discriminazione dei singoli ceppi, la realizzazione nuovi dati provenienti da paesi emergenti e/o microrganismi atipici. Inoltre, il progetto si propone di individuare approcci fenotipici applicabili per ulteriore prova forense. EBLN si prefigge lo scopo di fornire strumenti robusti per rilevare, identificare e caratterizzare agenti biologici, che consentirà di aumentare la capacità di verificare l’uso intenzionale di agenti B. Il coordinatore scientifico per la componente italiana del progetto è il Col. Florigio Lista del nostro Centro.

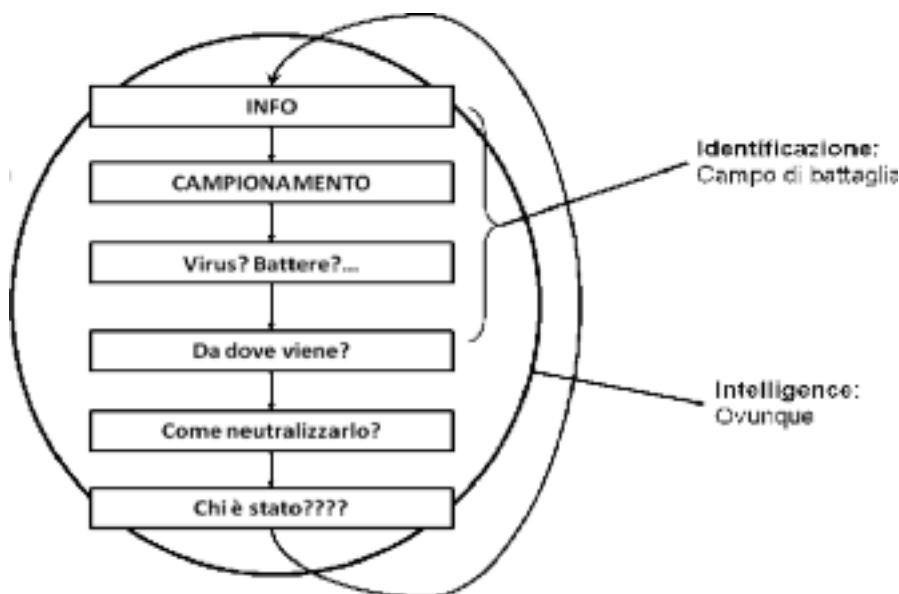
*LAISC. Laboratorio Agenti Inusuali Sanitario Campale (LAISC).* La maggior parte dei quadri sintomatologici derivanti da attacchi di guerra biologica o di bioterrorismo include quadri sindromici respiratori caratterizzati da tosse, malessere generale, dispnea e prostrazione generale accompagnata da febbre. Tale sintomatologia simil-influenzale può avere alla base diverse cause: virali, batteriche e protozoarie. Inoltre un’incombente pandemia influenzale causata dal ceppo H5N1 si manifesterà con gli stessi sintomi. Risulta quindi essenziale disporre in Teatro Operativo di uno strumento diagnostico e metodologie adeguate per gli agenti infettivi inusuali, come il virus dell’influenza aviaria, il vaiolo, l’antrace e i *flaviridae*, tanto rapide quanto accurate non solo per definire lo stato di salute delle persone colpite, ma anche per contribuire ad una valutazione complessiva dello scenario NBC a livello tattico e strategico. Ciò vale a maggior ragione in operazioni

fuori area, dove non si hanno a disposizione tutti i mezzi e gli strumenti disponibili in Patria. Con questo progetto di ricerca, si vuole realizzare la messa a punto di metodi di rivelazione rapida campale su: influenza aviaria (*H5N1*), *SARS*, *flavivirus* (virus dengue, west Nile, virus dell’encefalite giapponese, virus della febbre gialla), virus delle febbri emorragiche (*Hantavirus*, Congo Crimea, Ebola, Lassa, Marburg), *orthopoxvirus*, antrace, tularemia, peste, botulismo, brucellosi, febbre Q. Inoltre è prevista l’organizzazione di un laboratorio sanitario campale capace di caratterizzare infezioni inusuali naturali e/o deliberate in Teatro Operativo. Oltre all’aspetto di *concept project*, in questa attività, i nostri sforzi saranno volti a realizzare un metodo per la formazione continua del personale operante nel suddetto laboratorio. Questo progetto di ricerca vanta la collaborazione tra i massimi organismi operativi nel campo: Centro Studi e Ricerche di Sanità e Veterinaria, ISS (Dipartimento di Malattie Infettive, Immunomediate e Parassitarie, Dipartimento di Sanità Alimentare ed Animale), Università degli studi di Firenze, Università degli Studi di Roma “La Sapienza”, Università degli Studi di Roma “Tor Vergata”, Università degli Studi di Padova, ISZ del Veneto, Puglia, Abruzzo e Molise, Lazio, Piemonte, Sicilia e Sardegna, CETLI. Il comitato tecnico scientifico è così composto: Prof. Cesare Montecucco (Presidente, Università degli Studi di Padova), Brig. Gen. Giacomo Mammana (Vice Presidente, Direttore CSRSV), Dott. Giovanni Rezza (membro, Direttore del Dipartimento di Malattie Infettive Immunomediate e Parassitarie, presso l’Istituto Superiore di Sanità), Col. Florigio Lista (membro, CSRSV Capo II Reparto), Dott.ssa Federica Monaco (membro, Istituto Zoopro-

filattico Sperimentale Abruzzo e Molise) ed il Col. Umberto Lusena (membro e segretario, CSRSV Capo III Reparto).

## Innovazione

La spinta tecnologica che caratterizza queste ultime decadi ha permesso al Centro di acquisire le tecnologie più performanti. Uno dei compiti caratterizzanti del Centro è il supporto tecnico-scientifico ai reparti dispiegati in Teatro Operativo. Ciò ha influito notevolmente sulla filosofia dei Reparti rendendoli partecipi e precursori di progetti di campalizzazione di laboratori dedicati alla *health force protection* e di avviare sofisticati filoni di ricerca per lo studio dei meccanismi biologici alla base delle patologie già dall’interpretazione dei dati a disposizione sia dallo studio del DNA. In **figura 2** è rappresentato il ciclo delle attività in cui il Centro è competente e viene schematizza l’integrazione dei nostri servizi con le attività di analisi ed *intelligence*. Da qui è implicita la stretta connessione tra quanto da noi messo in opera e l’applicazione sul campo. Le nostre truppe, infatti, già dispongono di un sofisticato sistema di analisi per il controllo delle acque ad uso umano: il progetto *Arianna*, sviluppato presso la nostra sede, ormai è diventato uno standard. Il personale dedicato all’analisi delle acque, inoltre, è preparato dal nostro Centro mediante specifici corsi per gli Ufficiali analisti ed i Sottufficiali operatori. A questo progetto si è aggiunto un sofisticato sistema campalizzato di analisi di alimenti al momento in fase di validazione. In **figura 3** è riportato il sistema ideato per l’analisi degli



**Fig. 2** - Ciclo delle operazioni di studio per compiere una estesa analisi sull'identificazione di un patogeno, rimedi al patogeno e produzione di informazioni per la realizzazione di difesa attiva e passiva delle nostre truppe.



**Fig. 3** - MSB multitreader, sistema per l'analisi degli alimenti in ambito campale realizzato in collaborazione con l'Università di Roma "Tor Vergata".

alimenti sul campo di battaglia. Le caratteristiche portanti del sistema sono il minimo ingombro e la robustezza della strumentazione, l'utilizzo

di reagenti stabili e di semplice manipolazione e, di assoluta rilevanza, i campioni, una volta analizzati sono resi inerti da qualsiasi contaminante

e, di conseguenza, possono essere trattati alla stregua di altri rifiuti non pericolosi. Nel corso del 2013, è stato avviato un filone di ricerca per la rilevazione della radioattività di campioni provenienti da matrici organiche ed inorganiche. Queste analisi si articolano con le altre condotte su campioni ambientali e possono dare un supporto operativo in tempo reale - in caso di difesa passiva -, o proporre alternative su eventuali dispositivi di protezione già messi in atto. In **tabella 3** sono riportati gli ultimi strumenti acquisiti. Grazie alle capacità di *next generation sequencing*, implementate presso i laboratori del II Reparto, è possibile individuare con esattezza ed in tempo reale la natura di agenti biologici e, mediante tecniche bioinformatiche, elaborare analisi che consentono di risalire alla provenienza dell'agente biologico (**Figg. 4 e 5**). Anche questi metodi sofisticati si inseriscono all'interno dei progetti tesi a coinvolgere i nostri professionisti, anche sul campo, in modo da monitorare costantemente l'ambiente in cui operiamo ed offrire il massimo nella protezione sanitaria.

### Sfide

Le sfide poste al Centro sono molteplici. Certamente le sfide poste dalla comunità scientifica ci invitano all'innovazione ed a procedere verso una continua evoluzione tecnologica-applicativa. Il Centro vanta l'eccellenza del *know how* in ambiti che spaziano dalla chimica analitica all'analisi meta genomica, ed è in grado di contribuire sostanzialmente alle esigenze del soldato sul campo, oltre che di supportare con il rigore scien-

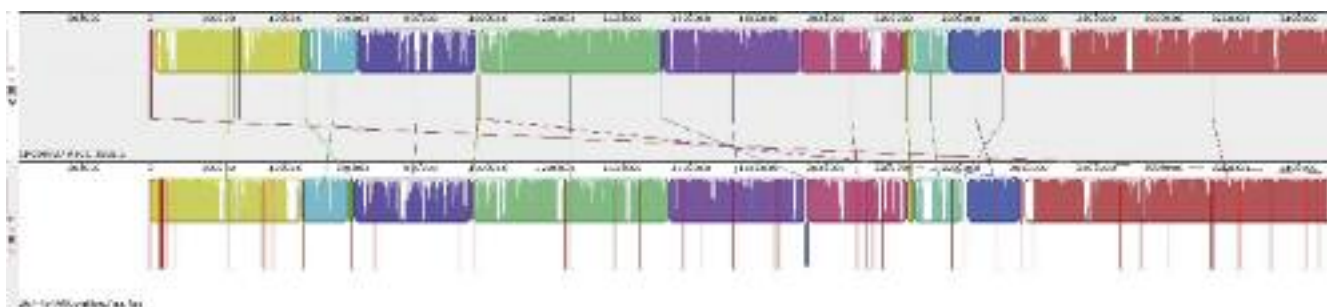
**Tab. 3 - Strumentazione di nuova acquisizione**

Scintillatore liquido TRICARB 2910, Perkin Elmer

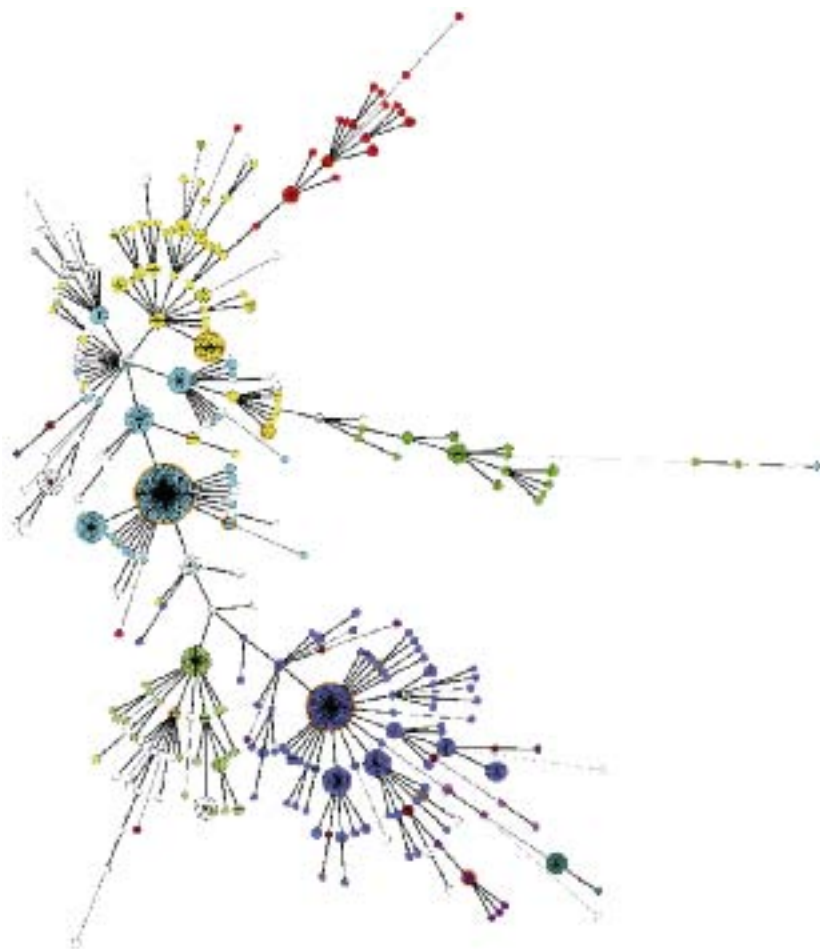
Assorbimento atomico AA280Z con atomizzatore GTA129 Varian

Cromatografia ionica: Cromatografo Dionex ics-3000

Analizzatore di mercurio Mercur della Analyticjena



**Fig. 4** - De novo sequencing di un campione di DNA di *C. Botulinum*. In alto genoma di riferimento, in basso genoma neo sequenziato. Immagine realizzata da Francesco Giordano, PhD.



**Fig. 5** - Filogenetica di *C. Botulinum*. Con questa indagine è possibile fornire elementi di indagine per l'attribuzione di colpa a seguito di attacco con agenti B.

tifico il personale sanitario delle Forze Armate e civile. Molto sentita è la necessità di applicare le più sofisticate tecniche diagnostiche per abbattere il rischio sanitario che la comunità militare corre anche in virtù della specifica connotazione della professione. Il Centro si prefigge l'ambizioso compito di realizzare soluzioni per le subdole minacce da parte di terroristi o dovuti alle guerre contemporanee; mettere a punto protocolli di protezione adeguata contro ostilità ambientali o militari; fornire informazioni per analizzare ogni specifico evento in chiave tattica e strategica come, ad esempio, l'attribuzione di colpa mediante tecniche di filogenetica a seguito di attacco da agenti biologici. Un elemento di forza del nostro Centro è la sinergia ed il lavoro di squadra che coinvolge tutti gli operatori, i quali condividono le specifiche competenze e si integrano a vicenda allo scopo di porsi obiettivi sempre più ambiziosi e di poter superare nuove sfide.



**Tab. 4 - Selezione delle pubblicazioni edite in seno al Centro Studi e Ricerche di Sanità e Veterinaria**

---

---

Malaria during a multinational military deployment: the comparative experience of the Italian, British and Australian Armed Forces in East Timor <i>Trans R Soc Trop Med &amp; Hyg</i> , 2002
Vaccination policies in the military: an insight on influenza. <i>Vaccine</i> , 2002
Molecular analysis of early postvaccine mumps-like disease in Italian military recruits <i>JAMA</i> , 2002
Incidence and risk factors of probable dengue virus infection among Italian troops during a multinational military deployment to East Timor. <i>Emerging Infectious Diseases</i> , 2003
Stable low levels of hepatitis C virus infection among Italian young males over the past decade <i>Dig Liver Dis.</i> 2006
Hepatitis A, Italy. <i>Emerg Infect Dis.</i> 2005
FISH approach to determine cat eye syndrome chromosome breakpoints of a patient with cat eye syndrome type II. <i>Eur J Med Genet.</i> 2005
Vaccination programmes in the Italian military. <i>Vaccine.</i> 2003
Genotyping of <i>Bacillus anthracis</i> strains based on automated capillary 23-loci MLVA. <i>BMC Microbiology</i> 2006
Optimization of high-resolution melting analysis for low-cost and rapid screening of allelic variants of <i>Bacillus anthracis</i> by multiple-locus variable-number tandem repeat analysis. <i>Clin Chem.</i> 2007
Fieldable genotyping of <i>Bacillus anthracis</i> and <i>Yersinia pestis</i> based on 25-loci Multi Locus VNTR Analysis. <i>BMC Microbiol.</i> 2008
Preliminary validation of real-time PCR assays for the identification of <i>Yersinia pestis</i> . <i>Clin Chem Lab Med.</i> 2008
Evidence of a humoral response to a novel protein WARF4 embedded in the West Nile virus NS4B gene encoded by an alternative open reading frame. Lab on a chip genotyping for <i>Brucella</i> spp. based on 15-loci Multi Locus VNTR Analysis. <i>BMC Microbiology</i>
A rapid allele variant discrimination method for <i>Yersinia pestis</i> strains based on High Resolution Melting Curve Analysis. <i>Diagn Microbiol Infect Dis.</i> 2009
SNR analysis: molecular investigation of an anthrax epidemic. <i>BMC. Vet Res.</i> 2010
Severe anthrax outbreaks in Italy in 2004: considerations on factors involved in the spread of infection. <i>New Microbiol.</i> 2010
A FRET based Melting Curve Analysis to detect nucleotide variations in HA receptor-binding site of H5N1 virus. <i>Molecular and Cellular Probes</i> 2010
Micronucleus test for radiation biodosimetry in mass casualty events: visual and automated scoring. <i>Radiation Measurements</i> 2011
High throughput genotyping for <i>Brucella</i> spp. based on 16-loci multi locus VNTR analysis. <i>BMC Microbiology</i> 2011
<i>Clostridium botulinum</i> serotype A, B and F strains genotyping by 15 loci MultiLocus VNTR Analysis (MLVA). <i>Journal of Clinical Microbiology</i> 2012
West Nile alternative open reading frame (WARF4) is produced in infected West Nile Virus (WNV) cells and induces humoral response in WNV infected individuals. <i>Virology Journal</i> 2012
Genotyping of <i>Bacillus anthracis</i> strains based on automated capillary 23-loci MLVA. <i>BMC Microbiology</i> 2006
Fieldable genotyping of <i>Bacillus anthracis</i> and <i>Yersinia pestis</i> based on 25-loci Multi Locus VNTR Analysis <i>BMC Microbiol.</i> 2008
Preliminary validation of real-time PCR assays for the identification of <i>Yersinia pestis</i> . <i>Clin Chem Lab Med.</i> 2008
Evidence of a humoral response to a novel protein WARF4 embedded in the West Nile virus NS4B gene encoded by an alternative open reading frame. <i>Int J Mol Med.</i> 2009
Lab on a chip genotyping for <i>Brucella</i> spp. based on 15-loci Multi Locus VNTR Analysis. <i>BMC Microbiology</i> 2011
A rapid allele variant discrimination method for <i>Yersinia pestis</i> strains based on High Resolution Melting Curve Analysis. <i>Diagn Microbiol Infect Dis.</i> 2009
A FRET based Melting Curve Analysis to detect nucleotide variations in HA receptor-binding site of H5N1 virus. <i>Molecular and Cellular Probes</i> 2010
Voce "bioterrorismo" per l'enciclopedia del terzo millennio. <i>TRECCANI</i> 2011

---





## Conclusioni

Le competenze tecnico-scientifiche del Centro Studi e Ricerche di Sanità e Veterinaria dell'Esercito rappresentano quanto di unico in termini di eccellenza a livello della Sanità Militare. L'elevata professionalità è dimostrata dalla quantità e qualità dei progetti di Ricerca sostenuti da istituzioni nazionali ed internazionali, le quali confermano l'importanza della ricerca in campo sanitario militare. Competenze specifiche e forte motivazione del personale, nonché la stringente sinergia sono gli elementi strategici che caratterizzano l'attività del Centro e permettono ad esso di distinguersi nel panorama scientifico nazionale ed internazionale per l'eccellenza

dei progetti di ricerca sviluppati. Sempre attento allo stato dell'arte scientifico contemporaneo ed alle esigenze dei nostri Reparti Operativi, il Centro è una realtà viva, in stato di aggiornamento continuo, teso al perfezionamento e al servizio. Molto potrebbe essere fatto al fine di convogliare le nuove generazioni di ricercatori e scienziati militari preparati e motivati, che possano contribuire allo studio ed alla ricerca in campo sanitario militare.

## Ringraziamenti

*Si ringraziano: il Dipartimento di sanità dell'Esercito, Il Segretariato Generale della Difesa, i partners scientifici*

*della European Defence Agency e NATO, per il supporto ricevuto nel promuovere le attività di studio e ricerca del Centro, e tutte le strutture Universitarie, Centri ed Istituti di Ricerca citati per la proficua collaborazione che ha permesso la realizzazione di numerosi lavori scientifici.*

*Scrivendo questo articolo ho faticato molto a riassumere le molteplici attività condotte in seno a questo Centro Studi e Ricerche. La qualità e quantità del lavoro sono l'espressione della passione di tutti i dipendenti in forza al Centro. Per questo motivo, ringrazio tutto il personale per il peculiare, meritorio impegno ed il raro senso del dovere che dimostrano quotidianamente.*



# Army Medical and Veterinary Research Centre, a unique reality in the military

Giacomo Mammana \*

## Introduction

### History

With circular no. 2000-R/1526323, dated December 20 1956, the Army ordered that, with retroactive effect from 1 July 1956, the Military Hospital of Rome took on the name “Military Hospital of Rome and the Study Centre of the Military Health”. Subsequently, on February 1, 1960, was established the “Centre for Studies and Research of the Military Health” as an independent site, in its own purpose-built building in Villa Fonseca, via S. Stefano Rotondo n. 4 (EMS circular no. 60-R/15263452 January 15, 1960). Therefore, it was built the Department of Radiobiology, with the attached Section Hematology and Laboratory of Applied Biology, Microbiology and Food Chemistry. The new Research & Development Centre of Military Health was placed in the employ of the General Direction of the Military Health of the Military Hospital of Rome under the technical and administrative guidelines.

The current organization of the Center develops in based on a Direction, a Secretarial office and three Departments consisting of three sections (**Fig. 1 - Army Medical and Veterinary Research Centre organization**). Already organization chart shows the peculiar interoperability between Departments and Sections, dictated mainly by the interdisciplinary nature of research in health and biomedicine.

## Tasks

The Army Medical and Veterinary Research Centre provides scientific and technical advice to the Department of Health and Veterinary Medicine, for the Joint Chiefs of Staff and the Summit, in order to provide elements of analysis at the tactical and strategic level in order to implement sophisticated active and passive force health protection protocols at national and international level. The main tasks of the Centre are conducted through studies, research, consulting and advanced training in the biomedical and biotechnological applications for CBRN Defence, especially for the study of unusual pathogens (viruses rare and biological warfare agents), biodosimetry and human genetics. Among the studies conducted for the Armed Forces, the Centre is competent on providing the evaluation of the cost / effectiveness of vaccination strategies in place, extensive monitoring of the prevalence and incidence in the military community of communicable diseases and non-infectious diseases of social importance. The routine activities undertaken in the fields of chemistry and microbiology of water, chemical toxicology, microbiology in the food, allow institutions of the Army, also in operational theaters, to keep under control water resources,

detection of radioactivity in organic and inorganic matrices, and control of the personal consumption of drugs of abuse. Where the Centre has reached levels of international excellence is in research on microorganisms can potentially be used and / or manipulated by actions of biological warfare or bioterrorism, in the evaluation of genotoxic effects of physical and chemical agents. In the first activity are distinguished various levels of study: basic experimental research, translational research, and finally applied research and development of diagnostic reagents potentially might be used in operational overseas. The Centre is embedded within international networks of laboratories counterparts in the prestigious leadership role of networks biodefense European countries in the field of EDA, whose purpose is to verify the use of agents B in the context of the Biological and Toxin Weapon Convention (BTWC) and the creation of a capacity of forensic identification at European level. This is identified as the single of Defense for the collection, handling and analysis of the main biological threats and unique bioinformatics resource. In the second activity, the biodosimetry laboratory works for the research and development of methods that use biological markers to assess exposure to ionizing and non-ionizing

\* Gen. B., Army Medical and Veterinary Research Centre, Roma.



radiation (electromagnetic radiation) and estimation of the absorbed dose. There are also conducted studies, retrospective monitoring, of military personnel and dogs used in operational overseas, for the detection of potential risks of environmental exposure to genotoxic agents. The Centre is inserted in NATO environment, where is involved in various activities including the intercomparison between the participating laboratories in the various countries in the event of nuclear and radiological emergencies. At the Center, instructional courses are held for personnel employed on the rapid detection of biological agents and the control of water, in addition to teaching in favor of the main Italian universities for the preparation of experimental thesis degree and doctoral programs.

Finally, the Centre is involved in leading an international network of research projects on topics high scientific and strategic importance (projects in the pipeline summarized in Table 1).

## Organization

The current organization of the Centre is divided into three departments of three sections, below is summarized briefly its conformation and peculiarities.

### I Department

*Section of Hygiene and Preventive Medicine.* Monitors the prevalence and incidence of transmittable diseases in the community military and non-infectious diseases of social importance and promotes information / health education for military personnel on issues of prevention of infectious diseases and

social ills, supports epidemiological observatory in the field Armed Forces.

*Section of Medical Informatics and Logistics.* Identifies the ergonomic constraints in the design of new vehicles and equipment intended for use operating introduces new models of organization and management of services occupational medicine and occupational hygiene in the military, carries out epidemiological investigations, with computerized systems, aimed at improving the activities to support health.

*Section of Legal Medicine.* It deals with the study of legal-medical guidelines for the main diseases encountered in the military community, assess the impact of laws and regulations of the State may have on medical-legal rules on which may be the reflection of the health care legislation on issues of national and international 'specific interest of the Military Health.

### II Department

The Second Department carries out studies, research, consulting and advanced training in the biomedical and biotechnological applications for CBRN Defence especially for the study of unusual pathogens (viruses rare and biological warfare agents), biodosimetry and human genetics. The strong interdisciplinary nature of the subjects of study and research activities of the Department Sections makes it is composed of very closely related tasks and research so they will be summarized in the specific paragraph describing the research projects in which it is involved. At the laboratories of the II Department studies are conducted using the most innovative technology in the field of biotechnology, including two platforms DNA sequencing, Roche

454 and Illumina. Today, in order to support laboratory experiments and analysis of the results, it has been implemented the only active project in bioinformatics of the Armed Forces. The synergy of the different skills allows the identification of biological agents through the sequencing of DNA / RNA, and other molecular techniques, optimized in these laboratories for use in hostile environment.

The researchers of this department are involved in research projects at international level not only as partners of activities, but also as team leaders.

The Second Department, in addition, has been teaching at various levels of specialization, borrowing specific modules for the course for operators of biological laboratory and pitched BLS3 (users: 7th Regiment . NBC Defence and Fire Department), preparation of thesis dissertation and tutoring for PhDs and masters level II for students of University of Rome "La Sapienza", Rome "Tor Vergata", Rome TRE, Pisa and Udine.

### III Department

Similarly to what has been said for the Second Department, the Third Department is characterized by a highly interdisciplinary, so we discuss the tasks and activities in a single body. The main tasks lie in the ability of analytical department, so there are carried out:

- Routine exams of microbiological water samples intended for human consumption in accordance with the provisions of the Italian Legislative Decree no. 31/2001. The samples are collected by the military throughout the country;
- Second level microbiological testing on samples of water intended for



human consumption in accordance with the provisions of the Italian Legislative Decree no. 31/2001. The samples received from overseas such as Afghanistan, Lebanon;

- Examinations on foods suspected infectious episodes and examinations under the control/self-control of food products in accordance with the provisions of UE Regulation 852/2004. Samples are taken along the military distribution line and canteens.

The Department is responsible for providing technical advice on sanitary aspects related to water purification in the overseas and all-around the country. Among the research in progress the MBS is a breakthrough in the field of food analysis (Micro Biological Surveys: rapid method for the selective detection and enumeration of microorganisms in foods of animal origin), moreover the Department is an excellence for the development of analytical methods for the isolation of pathogens from water samples.

Recently, the Department, in order to meet the growing analytical needs for the detection of radioactivity in organic and inorganic matrices, has acquired a liquid scintillator TRICARB 2910 Perkin-Elmer with which it is possible to detect the level of radioactivity (emissions) due to tritium presence.

The Department organizes qualification courses for Officers and Non-Commissioned Officers in charge of water control and sampling. In particular, the Officers receive training oriented to the control firstly water production chain in the overseas and subsequently the operation and risk management associated with its use.

## Collaborations

The Army Medical and Veterinary Research Centre boasts prestigious collaborations with national and international Universities and Research Institutes both military and civilian. **Table 1** lists the most significant collaborations of the Centre. The relationships with these research institutes, provide not only an exchange of information, but a dynamic interaction for the realization of specific research projects funded by international organizations such as NATO and EDA tools for the creation of procedures suitable for producing active and passive health force protection (**Table 2**):

- In the military, specifically relating to the needs of our troops, located in the homeland or Overseas;
- Connected to the protection and preservation of the Nation, needing to be ready to face the increasing bioterrorism threat.

## Research

In addition to the purely institutional tasks listed above, the consolidated experience in science of the Centre, has enabled our researchers to win prestigious competitions for the allocation of substantial funds for research. Currently underway are the following: LABGENMIL, GREAM, NIB, TRACE-MI, EBLN, LAISC.

*LABGENMIL. Military Advanced Biodosimetry Genetics Laboratory.* The study aims to observe military personnel and dogs deployed in the Afghan mission of operations in order to evaluate a potential risk of environmental exposure to genotoxic agents physical (radiation) and/or chemicals. The Centre is the mili-

tary entity promoter and implementer of the project and collaborate with the Center of Military Veterinary of Grosseto for the recruitment of subjects and dogs of the study. The civilian agency involved in the project is the National Institute for Cancer Research of Genoa - Unit of Environmental Carcinogenesis. The Scientific coordinator is Col. me. Florigio Lista, Head of Department II of the Centre. Specifically, it is a military laboratory that works for the development and validation of methods which allow to evaluate the absorbed dose of ionizing radiation, using specific genetic biomarkers. The specific scientific expertise developed by the laboratory can then be converted into ready availability and efficient operational in case of known or suspected exposure to ionizing radiation. The laboratory can use these methods not only in the event of a nuclear or radiological emergency for the purposes of "triage" of the exposed population, but also for the environmental risk assessment of genotoxic agents worldwide in any condition. At the moment, we are studying the conditions of the dogs and their companions soldiers employed in Afghanistan, before departure and subsequent return from the mission. The subjects of the study may or may not have a previous experience overseas. The need to monitor the dog stands to the fact that, having a close physical contact with the environment and a greater sensitivity to genotoxic agents in relation to man, is a valid model for the detection of environmental risk factors. The samples are collected from peripheral blood and then will be used to set up lymphocyte cell cultures to carry on investigations, such as cytogenetic analysis of chromosomes centric and the micronucleus test in binucleate cells.



*GREAM. Genotoxic effects of electromagnetic fields in military applications.* The genotoxic risk associated with the exposure to electromagnetic radiation, especially at high frequency, remains to this day subject of controversy due to the large development of EW. The realization of the project GREAM is therefore appropriate as a basis for further studies to identify risk conditions associated with exposure to electromagnetic radiation that may arise, in the military population, for both professional and environmental conditions. This study responds to the need more and more pressing in recent times, to identify risk factors for the health of soldiers engaged in activities that involve the use of ionizing and non-ionizing radiations.

*NIB. New Inhibitors of Botox.* The goal of the project is to evaluate inhibitors of the third passage (L domain translocation in the cytoplasm) of the cellular mechanism of intoxication of BoNTs (botulinum neurotoxins) by means of new cellular assays and by biophysical techniques such as planar lipid bilayer, the inside-out patch. Moreover, the study of a series of inhibitors of the process of protein refolding that occurs inside the cell flanked to previous approaches should provide new inhibitors of botulism. Molecular biology experiments are headed by Col. Florigio list of our Centre, while Prof. Cesare Montecucco (Department of Biomedical Sciences, University of Padua) supervises the experiments of cell biology, electrophysiology and animal models.

*TRACE-MI. Toxicological Risk Assessment for Chemical Exposures of Military Interest (TRACE- MI).* The goal of this project is to develop appropriate tools for the management of risk to the health of mili-

tary personnel exposed significantly to chemicals of military interest. The best risk assessment and accurate information are the basis for the development of measures to reduce chemical risk with the development of response plans, physical protection and medical countermeasures. The TRACE-MI project aims to achieve this goal, bridging the gaps of knowledge in the chain of events. The aim of the project is limited to emissions from weapons systems, including both the ammunition, smoke and combustion products. However, we will try to provide generic solutions that will also be applicable to other exposures to chemicals of military interest. The project is on an international scale where Spain, France, Germany, Italy, the Netherlands, Norway, Portugal and Sweden are joint. The Italian team is composed by our Centre, the Centre Technical Logistics NBC warfare (collaborating together for years, dealing with the study of chemicals related to the use by the military) the Poison Control Centre, the National Centre for Toxicological Information, Hospital Scientific Institute of Pavia, and the IRCCS Maugeri Foundation (national reference point for human toxicology). Coordinator for the CSRSV Col. Florigio Lista.

*EBLN. European Biodefence Laboratory Network (EBLN).* The goal of this EDA project is to prepare and develop further tools for the comparison of pathogens and a system of tracking them for forensic purposes by means of a platform of laboratories for biodefence (project "Database B"). In particular, there will be the set up of systems for analysis, validation and quality control of the analytical process. The activities include the development and maintenance of reference collections and databases. The previous research

conducted on bacteria are extended to viruses. The technical work includes the sequencing of the genome of the strains derived from the "Database B", identification of variables on individual nucleotide positions as a genetic fingerprint for BWA genes, the description and collection of virus sequences for discrimination of individual strains, the construction of new data from emerging and/or atypical microorganisms. In addition, the project aims to identify phenotypic approaches applicable for further forensic evidence. This project will provide robust tools to detect identify and characterize biological agents, which will increase the ability to verify the intentional use of B agents. The scientific coordinator for the Italian component of the project is Col. Florigio Lista of our Center.

*LAISC. Laboratorio Agenti Inusuali Sanitario Campale (LAISC).* Most of the symptom patterns resulting from attacks of bioterrorism or biowarfare include respiratory syndromes characterized by cough, malaise, dyspnea, and general prostration accompanied by fever. These symptoms influenza-like may have different underlying causes: viral, bacterial and protozoal. In addition, the looming pandemic influenza, caused by the H5N1 strain, will manifest with the same symptoms. It is therefore essential to have fast and accurate diagnostic tools and appropriate methodologies to detect unusual infectious agents (avian influenza virus, smallpox, anthrax and flaviridae) in order to not only define the state of health of the people affected, but also to contribute to an overall assessment of the scenario NBC in both tactical and strategic level. This is particularly true in operations conducted overseas,



where it is very difficult to find all disposals, means and tools available in the Fatherland. With this research project, we want to development methods for rapid detection of unusual pathogens like: Avian influenza (H5N1), SARS, flavivirus (dengue virus, West Nile, Japanese encephalitis virus, yellow fever virus), virus of hemorrhagic fever (Hantavirus, Crimean Congo, Ebola, Lassa, Marburg), orthopoxvirus, anthrax, tularemia, plague, botulism, brucellosis, Q fever. A field laboratory will be set up in order to characterize biological pathogens directly on site. In addition, in this activity, our efforts will be aimed to providing a method for the continuous training of personnel working in the LAISC. This research project has the cooperation among the biggest organizations operating in the field: Army Medical and Veterinary Research Centre, ISS (Department of Infectious, Parasitic and Immune-Mediated, Department of Animal Health and Food), Florence University, "La Sapienza" University; "Tor Vergata" University; Padua University; ISZ of Veneto, Puglia, Abruzzo e Molise, Lazio, Piemonte, Sicilia e Sardegna, CETLI. The scientific Committee is composed by Prof. Cesare MONTECUCCO (President, Padua University), Brig. Gen. Giacomo MAMMANA (Vice President, CSRSV Director), Dott. Giovanni REZZA (member, ISS Department of immune-mediated infectious and parasitic diseases Director), Col. Florigio LISTA (member, CSRSV Head Second Department), Dott.ssa Federica MONACO (member, Istituto Zooprofilattico Sperimentale Abruzzo e Molise) and Col. Umberto LUSENA (member and secretary, CSRSV Head Third Department).

## Innovation

The technological push that characterized recent decades has enabled the Centre to procure the most efficient technologies. One of the tasks that characterize the Centre is the technical and scientific support to units deployed in Operation Theatre. This has had a profound impact on the philosophy of involving them and Departments precursor's projects of field laboratories dedicated to health force protection and initiate sophisticated lines of research for the study of the biological mechanisms underlying pathologies already the interpretation of the available data. **Fig. 2** (*Cycle of operations to perform an extensive analysis study on the identification of an unknown pathogen in order to provide remedies and produce information for the realization of active and passive defence of our troops*) shows the cycle of activity in which the Centre is competent and is a schematic drawing of the integration of our services with the activities of analysis and intelligence. From here it is implied the close connection between what we put in and what is being implementing for the field. Our troops, in fact, already have a sophisticated official system of analysis for the water control, the project Arianna, developed at our Centre, and has now become a solid standard. Our Centre, by means of specific courses, also prepares the staff dedicated to the analysis of the water for Officers and NCOs. This project has added a sophisticated field system analysis of foods currently being validated. **Fig. 3** (*MSB multitreader, system for the analysis of foods in the pitched in collaboration with "Tor Vergata" University*) shows the system developed for the analysis

of foods on the battlefield. The load-bearing characteristics of the system are the minimum size and the robustness of the instrumentation, the use of reagents and stable and simple manipulation, of absolute importance, samples, when analyzed, are rendered inert by any contaminant and, accordingly to the strictest regulations, can be treated like other non-hazardous waste. In the course of 2013, it has been launched a line of research for the detection of radioactivity of samples from organic and inorganic matrices. These analysis are articulated with the other conducted on environmental samples and can give a real-time operational support - in the case of passive defence - or propose alternatives of any protection devices already put in place. In **table 3** the last acquired tools are reported. The avant-garde of the Centre takes all the advantages offered by the post-genomic era techniques. As we can see in **fig. 4** (*De novo sequencing of a sample of DNA of C. Botulinum. Top: reference genome, Down: newly sequenced genome. Image provided by Francesco Giordano, PhD*) and **fig. 5** (*C. Botulinum phylogenetic. With this survey we can provide elements of investigation for the attribution of blame as a result of attack by agents B*), the capabilities of next generation sequencing, implemented at the laboratory of the second Department, allow us, in real time, to pinpoint the nature of biological agents never identified before. Using bioinformatics techniques we are able to process complex analyzes that allow you to trace the origin of the biological agent, with the obvious repercussions strategic. As described above, these sophisticated methods are part of projects to engage



our professionals also on the field in order to constantly monitor the environment in which we operate and offer the ultimate in sanitary protection.

## Challenges

The challenges of the Centre are numerous, especially based on the meaning that we attach to the word “challenge”. Certainly, the challenges posed by the scientific community invite us to innovation and to move towards a continuous technological evolution - application that is naturally present in the DNA of everyone involved in study or research. The Centre is at the top of the expertise in fields ranging from analytical chemistry in meta-genomics and is able to contribute substantially to the needs of the soldier in the field as well as support with the scientific rigor of the medical personnel of the Armed Forces and civilian. It is deeply felt by all of us the need to apply the most sophisticated diagnostic techniques to break down the health risk that the military community also runs under the specific connotation of profession. The ambition is to create solutions for the devious threats that modern wars, or terrorists threats and - seen the real possibility of a CBRN event - put in place adequate protection against environmental or military hostilities. The analytical task is aimed to provide informa-

tion for each specific medical relevant event in key tactical and strategic environment, for example, the attribution of guilt by techniques of phylogenetic after a B agent attack. It is a duty of all researchers and scientists of the Centre to integrate their capacities based on a forced interdisciplinary modern science, for these reasons the Centre is a forerunner, in the Armed Forces, for the development of bioinformatics capabilities of excellence with the obvious benefits of this discipline.

The willingness and ability of the individual are unfortunately not able to overcome other challenges, such as, to name only the most common in this historical period, the shortage of funds.

## Conclusions


The technical and scientific expertise of the Army Medical and Veterinary Research Centre represent the terms of excellence in the Military Health. The high professionalism is demonstrated by the quantity and quality of research projects supported by national and international institutions, which confirmed the importance of research in the field of military health care. Specific expertise and strong motivation, as well as the stringent synergy are the strategic elements that characterize the activities of the Centre and allow it to stand out in national and interna-

tional scientific excellence of the research projects. Always attentive to the state of contemporary scientific and requirements of our operating departments, the Centre is a living reality, in a state of continuous updating, aimed at improvement and service. Much could (and should) be done in order to convey the new generations of researchers and scientists trained and motivated soldiers, who can contribute to the study and research in the field of military health care.

## Acknowledgments

Special acknowledgements to the Department of Health of the Army, the General Secretariat of Defense, the scientific partners of the European Defence Agency and NATO, for their support in promoting the study and research of the Center and to all cited Universities and Research Institutes for the fruitful collaboration that has allowed the creation of numerous scientific papers.

While writing this article I have struggled a lot to summarize the many activities carried out within this reality. The quality and quantity of work are an expression of the passion of all the employees at the center. For this reason, I thank all the staff for the peculiar, meritorious efforts and the rare sense of duty that they demonstrate every day.



# ESERCITO

Una risorsa per il Paese

[www.esercito.difesa.it](http://www.esercito.difesa.it)

## L'ESERCITO ITALIANO A EUROMA 2' DAL 19 AL 27 GENNAIO

**LA FORZA ARMATA  
INCONTRA I CITTADINI:**  
FORMAZIONE, TRADIZIONI,  
PROFESSIONALITÀ, VALORI,  
TECNOLOGIA, SPORT



**Cerimonia d'inaugurazione**  
Sabato 19 Gennaio ore 17:00

I reparti operativi impegnati nelle missioni d'oltremare, gli atleti militari, i medici, gli artificieri e i topografi.

E in più concerti, una parete attrezzata per l'arrampicata, esibizioni di arti marziali, i mezzi di difesa e tante altre iniziative.

È tutto



### EUROMA 2'

SHOPPING EXPERIENCE

quello che luccica

44700000 Pacifico 02 - Roma - tel. 06 5262101 - [www.euroma2.it](http://www.euroma2.it)

periscop

ESERCITO



7° REGGIMENTO  
Difesa NBC  
"Cromona"





# Comparazione di efficacia tra levobupivacaina 0.5% e ropivacaina 0.75% per l'anestesia nella chirurgia della cataratta

Levobupivacaine 0,5% versus ropivacaine 0,75% for peribulbar anaesthesia in cataract surgery

Costantino Fontana \*



**Riassunto - Introduzione e obiettivi:** La bassa tossicità cardiovascolare e neurologica della levobupivacaina ha condotto alla sua applicazione come anestetico locale in una vasta gamma di applicazioni specialistiche, incluso il blocco peribulbare per la chirurgia della cataratta. Lo scopo di questo studio consiste nel valutare l'efficacia della levobupivacaina 0.5% e paragonare la qualità del blocco a quella che si ottiene con la ropivacaina 0.75% nell'anestesia peribulbare. **Metodi:** sono stati esaminati 208 pazienti sottoposti a chirurgia della cataratta attraverso facoemulsificazione, suddivisi in due gruppi in base all'anestetico usato per il blocco peribulbare, levobupivacaina 0.5% o ropivacaina 0.75%, entrambi con l'aggiunta di ialuronidasi. Il blocco del nervo è stato ottenuto tramite un'iniezione di 6ml di miscela anestetica ugualmente distribuita tra le aree infero temporale e supero nasale. Il successo del blocco è stato valutato determinando il tempo di onset motorio e sensitivo, il punteggio di acinesia, il tempo di offset motorio e sensitivo e la soddisfazione di paziente e chirurgo dopo 24 ore. Sono stati calcolati la durata dell'intervento chirurgico e la pressione intraoculare prima del blocco, dopo il blocco e dopo l'intervento. **Risultati:** Rispetto alla ropivacaina, la levobupivacaina ha mostrato una significativa riduzione ( $P < 0.001$ ) nell'outset motorio e sensitivo medio. Anche il punteggio di acinesia ( $P < 0.01$ ) e l'offset motorio e sensitivo sono stati maggiori ( $P < 0.001$ ). La durata media dell'intervento e la soddisfazione del paziente o del chirurgo non hanno mostrato invece differenze significative nei due gruppi. **Conclusioni:** la levobupivacaina 0.5% ha migliori proprietà anestetiche della ropivacaina 0.75% ed è più adatta per il blocco peribulbare nella chirurgia della cataratta.

**Parole chiave:** chirurgia della cataratta, anestesia peribulbare, ropivacaina, levobupivacaina.

**Summary - Background and objective:** The low cardiovascular and neurological toxicity of levobupivacaine has led to its application as local anaesthetic in a wide variety of specialist applications including peribulbar block for cataract surgery. The aim of the present study is to evaluate the efficacy of levobupivacaine 0.5% and to compare the block quality with the ropivacaine 0.75% in peribulbar anaesthesia. **Methods:** We examined 208 patients subjected to cataract surgery by phacoemulsification. Patients were split into two groups according to the anaesthetic used for peribulbar block: levobupivacaine 0.5% or ropivacaine 0.75%, both with the addition of hyaluronidase. Nerve block was carried out by injection of 6mL of the anaesthetic mixture equally distributed between the inferotemporal and superonasal areas. The success of the block was evaluated by determining: time of motor and sensory onset, akinesia score, times of motor and sensory offset and satisfaction of the patient and surgeon after 24 h. Pre-block, postblock and postoperative intraocular pressure as well as the duration of surgical intervention were also taken into account. **Results:** Compared to ropivacaine, levobupivacaine showed a significant reduction ( $P < 0.001$ ) in the average motor and sensory onset. Both the akinesia score ( $P < 0.01$ ) and mean motor and sensory offset times were higher ( $P < 0.001$ ). Neither the average intervention times nor the satisfaction of the patient/surgeon showed any significant differences between the two groups. **Conclusions:** Levobupivacaine (0.5%) has better anaesthetic properties compared to the 0.75% ropivacaine and is well-suited for peribulbar block in cataract surgery.

**Keywords:** cataract surgery, peribulbar anaesthesia, ropivacaine, levobupivacaine.

\* Ten. Col. me. Assistente in Anestesia e Rianimazione - Dipartimento di Anestesia, Terapia Intensiva e Terapia del dolore, Policlinico Militare "Celio" - Roma.

## Introduzione

La levobupivacaina ha un profilo favorevole per quanto riguarda la tossicità cardiovascolare e neurologica (1,2). Per questo motivo l'uso della levobupivacaina come anestetico locale è divenuto più diffuso in diversi campi specialistici, inclusa la chirurgia oftalmica(1). L'anestesia regionale con blocco peribulbare è una delle tecniche d'elezione per molti pazienti che si sottopongono a chirurgia della cataratta. In questo lavoro abbiamo paragonato e valutato l'efficacia della levobupivacaina 0.5% e della ropivacaina 0.75% per l'anestesia peribulbare nella chirurgia della cataratta. Data l'assenza di studi sull'equivalenza per l'anestesia peribulbare tra questi due anestetici locali, i dati sul rapporto di potenza dei due anestetici locali sono stati presi dai risultati ottenuti in studi su somministrazioni epidurali conosciuti e rilevanti (3-5). La ialuronidasi è stata aggiunta in entrambi i casi. La rapidità dell'onset motorio e sensitivo, l'efficacia, la qualità e la durata del blocco sono state valutate allo scopo di fornire un valido confronto tra questi due anestetici.

## Metodi

E' stato svolto uno studio randomizzato in doppio cieco su 208 pazienti (108 femmine, 100 maschi; ASA I-IV) sottoposti a chirurgia correttiva della cataratta tramite facoemulsificazione nel periodo compreso tra Marzo e Giugno 2005. L'età media della coorte di pazienti era 68 anni. Sono stati considerati criteri di esclusione il deficit di coagulazione congenita o acquisita, l'allergia agli anestetici amidici o alla ialuronidasi, i pazienti con un solo occhio e il glau-

coma. I pazienti sono stati suddivisi in due gruppi utilizzando una tabella di numeri casuali; un gruppo ha ricevuto levobupivacaina 0.5% (30 mg, 104 pazienti), l'altro ha ricevuto ropivacaina 0,75% (45 mg, 104 pazienti). Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico locale e tutti i pazienti arruolati hanno firmato un consenso informato. Dopo



Figura 1



**Iniezione**

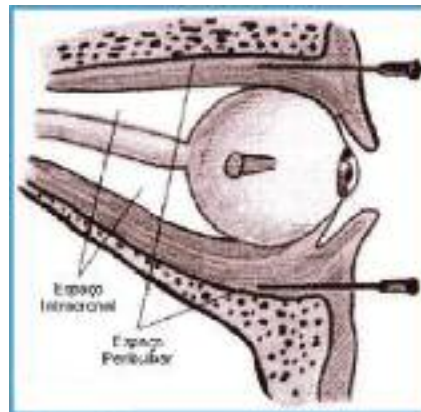
**Massaggio**

Anestesia peribulbare - Iniezione intorno all'occhio, che viene massaggiato per diffondere l'anestetico.

aver trovato un accesso venoso e senza premedicazione, tutte le miscele anestetiche che contenevano 50 IU mL<sup>-1</sup> di ialuronidasi sono state iniettate in cieco sempre dallo stesso anestesista. Anche l'intervento chirurgico è stato effettuato sempre dallo stesso chirurgo, che non conosceva il tipo di anestetico utilizzato. Evitando l'istillazione di alcune gocce di oxybuprocaina o lidocaina, l'anestesia peribulbare è stata praticata iniettando 6 mL di miscela anestetica equamente distribuita tra le aree infero temporale e supero nasale con un ago 27-G di 19 mm di lunghezza. L'iniezione infero temporale è stata effettuata a 3 mm dal canto laterale, con l'ago inclinato a 60° posteriormente rispetto al piano cutaneo; l'iniezione supero nasale

è stata effettuata a 3 mm dal canto mediale, con l'ago inserito posteriormente e perpendicolarmente. Alla fine della procedura è stata applicata all'occhio una pressione di 30 mmHg per 6 minuti, rimossa ogni 2 minuti per misurare l'efficacia del blocco. Sono stati valutati i seguenti parametri: il tempo di onset motorio e sensitivo, il punteggio di acinesia, (da 0 a 12), la pressione basale intraoculare, misurata tramite la tonometria di Schiotz (TMB), misurata in posizione supina 2 ore prima dell'anestesia, la pressione intraoculare 4 minuti dopo l'anestesia e prima dell'intervento (TM1), la pressione intraoculare dopo l'intervento (TM2), la durata dell'intervento (misurata dall'applicazione del distanziatore palpebrale

fino alla sua rimozione), l'offset motorio e sensitivo, la soddisfazione del paziente e del chirurgo (da 0 a 10), e la soddisfazione del paziente dopo 24 ore (da 0 a 10), contattando tutti i pazienti per telefono. L'efficacia del blocco è stata valutata tramite l'istillazione di gocce di soluzione fisiologica sulla congiuntiva e sulla cornea e calcolata come segue: =0, sensibilità normale; 1, il paziente non avverte l'istillazione della soluzione fisiologica, ma riferisce una sensazione al pinzamento; 2 totale assenza di sensazione. La valutazione del blocco motorio è stata effettuata ogni 2 minuti dopo il blocco usando un punteggio di acinesia da 0 a 12 in un modo simile a quello descritto da Brahma e colleghi (6). Ad ogni movimento potenziale è stato dato un punteggio da 0 a 2 (0, movimento normale; 1, movimento parziale; 2, nessun movimento): aprire e chiudere, guardare su e giù, a destra e sinistra. In ogni caso l'intervento non è iniziato prima del tempo minimo (6 minuti) per la valutazione del blocco. L'assenza di sensibilità all'istillazione congiuntivale di soluzione fisiologica (onset sensitivo) e un punteggio di acinesia di almeno 8 (onset motorio) sono stati considerati sufficienti per l'intervento. Le valutazioni motorie e sensitive sono state effettuate sempre nella stessa maniera e ogni ora dopo l'intervento da un osservatore addestrato, in cieco rispetto al tipo di anestetico ricevuto dal paziente. Il recupero completo della sensibilità e un movimento normale dell'occhio e della palpebra sono stati definiti come tempi di offset motorio e sensitivo. La pulsossimetria (S O ), l'elettrocardiogramma (ECG) e la pressione del sangue non invasiva (NIBP) sono state continuamente monitorate durante l'intervento.



Dodici casi sono stati esclusi dall'analisi statistica (4 nel gruppo della levobupivacaina e otto nel gruppo della ropivacaina) poiché è stata necessaria un'ulteriore iniezione (2mL) di miscela anestetica per ottenere l'anestesia necessaria per iniziare l'intervento. Così 196 pazienti sono stati inclusi nell'analisi finale (100 con levobupivacaina e 96 con ropivacaina).

L'analisi statistica è stata effettuata con il software SPSS 12.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Sono state considerate variabili indipendenti il punteggio medio di acinesia, l'onset e l'offset motorio e sensitivo. Per queste variabili sono stati calcolati i valori mediani, poi paragonati con l'U-test. La durata dell'intervento e il punteggio di soddisfazione del chirurgo sono stati valutati usando il t-test per comparare i due gruppi di trattamento. L'effetto dei due anestetici sulla pressione oculare è

stato misurato con un tonometro e analizzato secondo l'ANOVA con misure ripetute. Lo stesso modello è stato utilizzato per valutare le differenze tra i due gruppi in termini di punteggio di soddisfazione espresso dai pazienti al termine dell'intervento e dopo 24 ore. Con il solo scopo di completare la comparazione in questione e per rispondere ad una specifica richiesta del chirurgo, è stata calcolata anche la r di Pearson per misurare l'ipotetica relazione tra la pressione intraoculare e la durata dell'intervento.

## Risultati

La qualità del blocco anestetico, valutata tramite la rapidità dell'onset motorio e sensitivo, è stata migliore con la somministrazione di levobupivacaina piuttosto che con la ropivacaina (**Tab.1**). I valori mediani dei tempi di onset motorio e sensitivo sono stati più alti nel gruppo trattato con ropivacaina (rispettivamente 6 e 5 minuti) che nel gruppo trattato con levobupivacaina (rispettivamente 4 e 3 minuti). Il blocco sensitivo e motorio dei pazienti trattati con levobupivacaina è iniziato approssimativamente 2 minuti prima di quello dei pazienti trattati con ropivacaina. Questa differenza tra i due gruppi è risultata statisticamente significativa (U-test,  $P < 0.001$ ). Allo stesso modo, anche i punteggi di acinesia (6 minuti dopo il blocco) dei due gruppi sono stati coerenti con le altre misurazioni, così sono stati ottenuti un valore medio di 10 per il gruppo della levobupivacaina e un valore di 9 per il gruppo della ropivacaina. La differenza è stata statisticamente significativa ( $P < 0.01$ ; U-test). In

particolare, sebbene il valore minimo del punteggio di acinesia sia stato 8 per entrambi i gruppi, nel gruppo della levobupivacaina è stato misurato un valore massimo di 11, mentre il massimo valore del gruppo della ropivacaina è stato 10. La differenza tra i due gruppi trattati era maggiore alla fine del blocco. Infatti i valori mediani dei tempi di offset motorio e sensitivi sono stati maggiori per il gruppo della levobupivacaina (189 e 540 min) rispetto al gruppo della ropivacaina (140 e 380 min,  $P < 0.001$ , U-test). Come misurato dalla tonometria, non c'erano differenze nella pressione intraoculare nei due gruppi trattati prima o dopo la somministrazione di miscela anestetica precedente l'intervento (**Tab. 2**).

Alla fine dell'intervento abbiamo osservato un naturale ripristino della pressione intraoculare verso valori di base; ciò è stato più rapido per i pazienti trattati con levobupivacaina (15,9 mmHg) paragonati a quelli trattati con ropivacaina (16,9 mmHg). La differenza tra i due gruppi è risultata statisticamente significativa ( $F_{1,194} = 36.129$ ;  $P < 0.001$ ), ma non clinicamente rilevante. Inoltre la durata media dell'intervento chirurgico è stata inferiore nei pazienti a cui è stata somministrata levobupivacaina, rispetto alla ropivacaina (rispettivamente 14 e 16 min;  $P < 0.001$ ). Non ci sono state differenze nella soddisfazione media né dei pazienti né del chirurgo (**Tab. 3**).

Alle 24 ore successive all'intervento c'è stata una tendenza ad una maggiore soddisfazione nei pazienti trattati con levobupivacaina rispetto ai pazienti trattati con ropivacaina (rispettivamente 9,6 contro 8), sebbene questo non sia statisticamente significativo. Infine, non sono stati osservati effetti collaterali in nessuno dei due gruppi di pazienti.

**Tab. 1 - Statistica descrittiva per la qualità del blocco peribulbare**

	levobupivacaina	Ropivacaina
Scala di acinesia * (6 min dopo il blocco)	10 (1-8)	9 (10-8)
Onset motorio **	3 (5-2)	5 (7-3)
Offset motorio **	189 (209-183)	140 (146-135)
Onset sensitivo **	4 (6-2)	6 (8-4)
Offset sensitivo **	540 (537-544)	360 (377-384)

I dati sono mediane (valore massimo-minimo). I tempi of onset and of offset sono espressi in minuti. La comparazione tra i valori mediani dei gruppi trattati con levobupivacaina e ropivacaina è stata statisticamente significativa per tutti i parametri (\*  $P < 0.01$ , \*\*  $P < 0.001$ , U-test).

**Tab. 2 - Pressione intraoculare (mmHg), in posizione supina (media  $\pm$  deviazione standard)**

	2 h prima dell'anestesia	4 min dopo l'anestesia	Alla fine dell'intervento
Levobupivacaina	15.1 $\pm$ 1.1	18.6 $\pm$ 1.5	15.9 $\pm$ 0.8
Ropivacaina	14.7 $\pm$ 1.6	18.1 $\pm$ 1.6	16.9 $\pm$ 1.5

\*  $P < 0.01$ , test posthoc di Tukey

**Tab. 3 - Punteggi di soddisfazione media alla fine dell'intervento e del paziente dopo 24 ore.**

Soddisfazione	levobupivacaina	Ropivacaina
Chirurgo	9.6	9.8
Paziente	9.8	9.0
Paziente dopo 24 h	9.6	8.0

## Discussione

I risultati del presente studio permettono molte interessanti considerazioni. Anzitutto entrambi gli anestetici sembrano fornire efficaci alternative per il blocco peribulbare nella chirurgia della cataratta. La qualità del blocco, la

sua durata, e la soddisfazione di paziente e chirurgo sono particolarmente adatte per questo tipo di intervento, confermando i precedenti studi (7-9). Bisognerebbe notare che nei risultati precedentemente pubblicati sulla levobupivacaina si utilizzava una concentrazione allo 0,75% (10-12) e non

allo 0,5% come nel presente studio. Considerato che la bassa quantità di ialuronidasi ( $50 \text{ IU mL}^{-1}$ ) aggiunta agli anestetici serve solo a migliorare la qualità del blocco in entrambi i gruppi, (13), rappresentando il costituente più largamente utilizzato nei precedenti studi comparativi (7-16), le differenze tra levobupivacaina e ropivacaina sono senz'altro significative.

Per soddisfare la richiesta del chirurgo di ottenere un'acinesia totale (14-15), è stata utilizzata la tecnica delle due iniezioni, che ha permesso una distribuzione uguale di anestetico nei poli oculari superiore ed inferiore; in tal modo si è ottenuto un blocco con un volume di anestetico totale relativamente basso (6mL).

Con lo stesso volume e la stessa tecnica utilizzata, la levobupivacaina 0.5% ha mostrato alcune importanti differenze di efficacia rispetto alla ropivacaina 0.75%: i tempi di onset sensitivo e motorio sono stati significativamente inferiori e sia i tempi di offset, sia i punteggi di acinesia sono stati maggiori. Queste proprietà, nel nostro studio, sono state apprezzate sia dal chirurgo che dai pazienti per un precoce controllo di dolore post-operatorio. Sarebbe difficile paragonare i valori del presente studio con quelli degli studi precedenti a causa delle differenze nei metodi (11, 12). I valori più bassi di tonometria osservati nel gruppo della levobupivacaina alla fine dell'intervento non sono clinicamente rilevanti e non sono correlati alla durata dell'intervento e alla soddisfazione del chirurgo.

La diplopia e la ptosi sono descritte come complicanze del blocco peribulbare anche se in una bassa percentuale di casi (17, 18). Questi effetti collaterali non sono stati osservati nel nostro studio e questo potrebbe essere messo

in relazione con il basso volume di anestetico e con la tecnica delle due iniezioni utilizzata.

I dati del presente studio forniscono un'importante conferma clinica che la levobupivacaina 0.5% è adatta al blocco peribulbare e mostra proprietà migliori rispetto alla ropivacaina 0.75%. Non sono emerse considerazioni relative alla sicurezza o alla tollerabilità neppure nei pazienti più anziani con un elevato rischio anestetico.

## Bibliografia

- Foster RH, Markham A.:**  
*Levobupivacaine: a review of its pharmacology and use as a local anaesthetic.*  
Drugs 2000; 59 : 551-579.
- Huang YF, Pryor ME, Mather LE et al.:**  
*Cardiovascular and central nervous system effects of intravenous levobupivacaine and bupivacaine in sheep.*  
Anesth Analg 1998; 86: 797-804.
- Lyons G, Columb M, Wilson RC, Johnson RV.:**  
*Epidural pain relief in labour: potencies of levobupivacaine and racemic bupivacaine.*  
Br J Anaesth 1998; 81: 893-901.
- Camorcia M, Capogna G.:**  
*Epidural levobupivacaine, ropivacaine and bupivacaine in combination with sufentanil in early labour: a randomized trial.*  
Eur J Anaesthesiol 2003; 20(8): 636-639.
- Lyons G, Columb M, Wilson RC, Johnson RV.:**  
*Epidural pain relief in labour: potencies of levobupivacaine and racemic bupivacaine.*  
Br J Anaesth 1995; 8 1: 899-90 1.
- Brahrna AK, Pemberton CJ, Ayeko M, Morgan LH.:**  
*Single medial injection peribulbar anaesthesia using prilocaine.*  
Anaesthesia 1994; 49: 1003-1005.
- Woodward DK, Leung ATS, Tse MWI, Law RWK, Lam DSC, Ngan Kee WD.:**  
*Peribulbar anaesthesia with 1% ropivacaine and hyaluronidase 300 IU ml<sup>-1</sup>: comparison with 0.5% bupivacaine 2% lidocaine and hyaluronidase 50 IU ml<sup>-1</sup>.*  
Br J Anaesth 1000; 85: 618-620.
- Nicholson G, Sutton B, Hall GM.:**  
*Comparison of 1% ropivacaine with 0.75% bupivacaine and lidocaine for peribulbar anaesthesia.*  
Br J Anaesth 3000; 54(1): 89-9 1.
- Mc Lure HA, Rubin AP.:**  
*Comparison of 0.7 5 % levobupivacaine with 0.75% racemic bupivacaine for peribulbar anaesthesia.*  
Anesthesia 1998; 5 3: 1060-1 064.
- Lai F, Succon B, Niclilson G.:**  
*Comparison of L-bupivacaine 0.75% and lidocaine 2% with bupivacaine 0.75% and lidocaine 2% for peribulbar anaesthesia.*  
Br.J.Anaesth 2001; 90(4): 5 12-5 14.
- Birt DJ, Curnmings GC.:**  
*The efficacy and safety of 0.75 % levobupivacaine vs. 0.75 % bupivacaine for peribulbar anaesthesia. Eye 2003; 17(2): 200-206. Dempsey GA, Barrett PJ, Kirby JI. Hyaluronidase and peribulbar block.*  
Br. J. Anaesth 1997; 78: 671-674.
- Allman KG, Mc Fadyen JG, Armstrong J, Sturrock GD, Willson JH.:**  
*Comparison of articaine and bupivacaine and lidocaine for single medial canthus peribulbar anaesthesia.*  
Br J Anesth 2001; 87: 584-587.  
13. *Huba T, Ala-Kokko I, Salomaki T, Alabunta S. Clinical efficacy and pharmacokinetics of 1% ropivacaine and 0.75 % bupivacaine in peribulbar anaesthesia for cataract surgery.*  
Anaesthesia 1998; 54: 137-141.
- Rubin AP.:**  
*Complications of local anaesthesia for ophthalmic surgery.*  
Br J Anaesth 1995; 75: 93-96.
- Gomez-Arnau JI, Yangiela J, Gonzalez A et al.:**  
*Anaesthesia related diplopia after cataract surgery.*  
Br J Anaesth 2003; 90(2): 189-193.



# Levobupivacaine 0,5% versus ropivacaine 0,75% for peribulbar anaesthesia in cataract surgery

Costantino Fontana \*

## Introduction

Levobupivacaine, has a positive profile related to cardiovascular and neurological toxicities (1,2). Given this, the use of levobupivacaine as a local anaesthetic has become more widespread in various specialist fields including ophthalmic surgery (1). Regional anaesthesia with peribulbar block is one of the chosen techniques for many patients subjected to cataract surgery. In the present report, we compare and evaluate the efficacy of levobupivacaine 0.5% & ropivacaine 0.75% for peribulbar anaesthesia in cataract surgery. Considering the absence of equipotency studies related to peribulbar anaesthesia, the data on the potency relation among of these two local anaesthetics have been extracted from known and relevant epidural studies (3-5) Hyaluronidase was added to both cases. The rapidity of the motor and sensory onset, the efficacy, the duration and the quality of the block were evaluated in order to provide a valid comparison of these two anaesthetics.

## Methods

A randomized, double-blind study was carried out in 208 patients (108 females, 100 males; ASA I-IV) under-

going corrective cataract surgery by phacoemulsification during the period from March to June 2005. The average age of the patient cohort was 68 yr. The exclusion criteria were congenital or acquired coagulation deficits, allergy to an amide anaesthetic or to hyaluronidase, patients with a single eye and glaucoma. Patients were split into two groups using a random number table to receive either levobupivacaine 0.5% (30 mg, 104 patients) or ropivacaine 0.75% (45 mg, 104 patients). The study was approved by the local Ethics Committee and a informed written consent was signed by all day cases patients. After intravenous access was established and with no premedication, all anaesthetic mixtures containing 50IU mL<sup>-1</sup> hyaluronidase were injected in a blinded fashion always by the same anaesthetist. The surgery was also performed by the same surgeon who was not aware about the anaesthetic mixtures used. Avoiding instillation of any drops of oxybuprocaine or lidocaine, peribulbar anaesthesia was carried out by injecting 6mL of anaesthetic mixture equally distributed between the inferotemporal and superonasal areas with a 27-G needle 19 mm in length. The inferotemporal injection was performed 3 mm to the lateral canthus and the needle was angled at 60° posteriorly in respect to

the cutaneous plane; the superonasal injection was performed 3 mm to the medial canthus and the needle was posteriorly and perpendicularly inserted. At the end of the procedure, pressure (30mmHg) was applied to the eye for 6 min and removed every 2 min to measure the effectiveness of the block. The following parameters were taken into account: onset time, motor and sensory, akinesia score (from 0 to 12), basal intraocular pressure by Schiotz tonometry (TMB) measured in the supine position 2 h before anaesthesia, intraocular pressure 4 min after anaesthesia before intervention (TM1), intraocular pressure at the end of surgery (TM2), duration of surgery (measured from eyelid retractor application to its removal), motor and sensory offset, satisfaction of both patients and surgeon (from 0 to 10) and patient satisfaction after 24 h (from 0 to 10) contacting all the patients by phone. Effectiveness of the block was assessed by instillation of drops of physiological solution on the conjunctiva and cornea and scored as follows: 0, normal sensitivity; 1, patient unaware of instillation of the physiological solution, but reported sensation to forceps; 2, total absence of sensation. Evaluation of motor block was performed every 2 min after the block using an akinesia score

\* Lt. Doctor Anaesthesia Assistant - Department of Anaesthesia, Intensive Care and Pain Treatments, Military General Hospital "Celio" - Roma.

from 0 to 12 in a similar manner to that described by Brahma and colleagues (6). Each potential movement was given from 0 to 2 points (0, normal movement; 1, partial movement; 2, no movement): opening and closing, looking up and down, right and left. In any case, surgery did not begin before the minimal time (6 min) for the evaluation of the block. The absence of sensation on conjunctival instillation of physiological solution (sensory onset) and an akinesia score of at least 8 (motor onset) were considered sufficient for surgery. Motor and sensory evaluations were performed always in the same manner and every hour post-surgery by a trained observer who was blinded as to which anaesthetic the patient had received. The recovery of complete sensation and of normal eye and eyelid movement were defined as motor and sensation offset times. The surgeon agreed with the instillation of saline solution and forceps application on the operated eye. Pulse oximetry (SP02), electrocardiogram (ECG) and noninvasive blood pressure (NIBP) were continuously monitored during intervention. Twelve cases were excluded from the statistical analysis (four in the levobupivacaine group and eight in the ropivacaine group) as an additional injection (2 mL) of the anaesthetic mixture was required to obtain the anaesthesia needed to begin surgery. Thus, 196 patients were included in the final analysis (100 levobupivacaine and 96 ropivacaine). Statistical analysis was performed with SPSS 12.0 software (SPSS Inc., Chicago, EL, USA). The akinetic mean score, motor and sensory onsets and offsets were considered as independent variables. For these variables we calculated the median values and compared them with the U-test. Surgical time and satisfaction score of the

surgeon were evaluated using a t-test to compare the two treatment groups. The effect of the two anaesthetics on intraocular pressure was measured with a tonometer and analysed according to ANOVA for repeated measures. The same model was used to evaluate the differences between the two groups in terms of the satisfaction opinion score declared by patients at the end of the surgery and after 24 h. With the only purpose to complete the comparison in question and to comply with a specific surgeon request, a Pearson's r was also calculated to measure the hypothetical relation between the intraocular pressure and the duration of the surgery.

## Results

The quality of the anaesthetic block, evaluated by the rapidity of the sensory and motor onset, was better with the administration of levobupivacaine than of ropivacaine (**Table 1**). The median values of the sensory and motor onset times were higher in the ropivacaine-treated group (6 and 5 min, respecti-

vely) than in the levobupivacaine-treated group (4 and 3 min, respectively). The sensory and motor block of the levobupivacaine-treated patients began approximately 2min in before the ropivacaine-treated patients. This margin between the two groups was also statistically significant (U-test,  $P < 0.001$ ). Likewise, also the akinesia scores (6 min after block) of the two groups were coherent with the other measures so we obtained a median value of 10 for the levobupivacaine group and a median value of 9 for the ropivacaine group. The difference was statistically significant ( $P < 0.01$ ; U-test). In particular, although the minimum value of the akinetic score was 8 for both group, in the levobupivacaine one we measured a maximum value of 11, while the maximum value of the ropivacaine treated group was 10. The gap between the two treated groups was larger at the end of the block. In fact, the median values of the sensory and motor offset times were greater for the levobupivacaine group (189 and 540 min) with respect to ropivacaine (140 and 380 min,  $P < 0.001$ , U-test). As measured by tonometer

**Table 1 - Descriptive statistics for the quality of the block**

	Levobupivacaine	Ropivacaine
Akinetic Score * (6 min after block)	10 (11-8)	9 (10-8)
Motor Onset**	3 (5-2)	5 (7-3)
Motor Offset **	189 (209-183)	140 (146-135)
Sensory Onset **	4 (6-2)	6 (8-4)
Sensory Offset **	540 (537-544)	360 (377-384)

Data are median (maximum- minimum). Times of onset and offset are in minutes. The comparison between the median values of the levobupivacaine and ropivacaine treated group was statistically significant for all parameters. (\*  $P < 0.01$ , \*\* $P < 0.001$ , U-test).

metry there was no difference in intraocular pressure in the two treatment groups before or after administration of anaesthetic prior to surgery (**Table 2**). At the end of surgery, we observed a natural recovery of the intraocular pressure towards baseline values, this was more rapid for the patients treated with levobupivacaine (15.9 mmHg) compared to those treated with ropivacaine (16.9 mmHg). The difference between the two groups was statistically significant ( $F_{1,194} = 36.129$ ;  $P < 0.001$ ), but not clinically relevant. In addition the average duration of surgical intervention was less in patients administered levobupivacaine in respect to ropivacaine (14 vs. 16 min, respectively;  $P < 0.001$ ). There were no differences in the average satisfaction of either patients or surgeons (**Table 3**). At 24 h following intervention, there was a trend towards better satisfaction in patients administered levobupivacaine compared to ropivacaine (9.6 vs. 8.0, respectively), although this was not statistically significant. Lastly, no adverse effects were observed in either group of patients.

## Discussion

The results of the present study permit several interesting considerations. First, both anaesthetic mixtures appear to provide efficacious alternatives for peribulbar block in cataract surgery. As confirmation of previous reports (7-9), the quality of the block, its duration, and patient/surgeon satisfaction are particularly suited for this type of intervention.. It should be noted that in the previously published results the utilized concentration of levobupivacaine was 0.75% (10-12) and not 0.5% as used in the present study. Considering that the low quantity of hyaluronidase (50IU/mL<sup>-1</sup>) added to

**Table 2 - Intraocular pressure (mmHg), in supine position (mean  $\pm$  standard deviation)**

	2 h before anaesthesia	4 min after anaesthesia	End surgery
Levobupivacaine	15.1 $\pm$ 1.1	18.6 $\pm$ 1.5	15.9 $\pm$ 0.8
Ropivacaine	14.7 $\pm$ 1.6	18.1 $\pm$ 1.6	16.9 $\pm$ 1.5

\* $P < 0.01$ , test posthoc di Tukey

**Table 3 - Mean satisfaction scores at the end of surgery and by patient after 24 h**

Satisfaction	Levobupivacaine	Ropivacaine
Surgeon	9.6	9.8
Patient	9.8	9.0
Patient after 24 h	9.6	8.0

the anaesthetic mixtures was useful to improve the quality of the block in both groups (131, representing the most widely used constituent in previous comparative studies (7-16), the differences between levobupivacaine and ropivacaine are nonetheless significant.

In order to respond to the surgeon request of total akinesia (14,15), we used the two injection technique which permitted an equal distribution of anaesthetic into upper and lower ocular poles; in this way we obtained a block with a relative total low volume (6 mL) of anaesthetic. At the same volume and technique used, levobupivacaine 0.5% showed some important difference of efficacy with respect to ropivacaine 0.75%: the sensory and motor onset times were significantly less and both the offset times and akinesia scores were higher. These qualities, in our study, were appreciated by both surgeon and patients for an important early postoperative pain and discomfort control. Due to the diffe-

rences in methods (11,12) would be difficult to compare the values in the present study with the previous one. The lower tonometry values observed in the levobupivacaine group at the end of the surgery are not clinically relevant and not related with surgery duration and surgeon satisfaction.

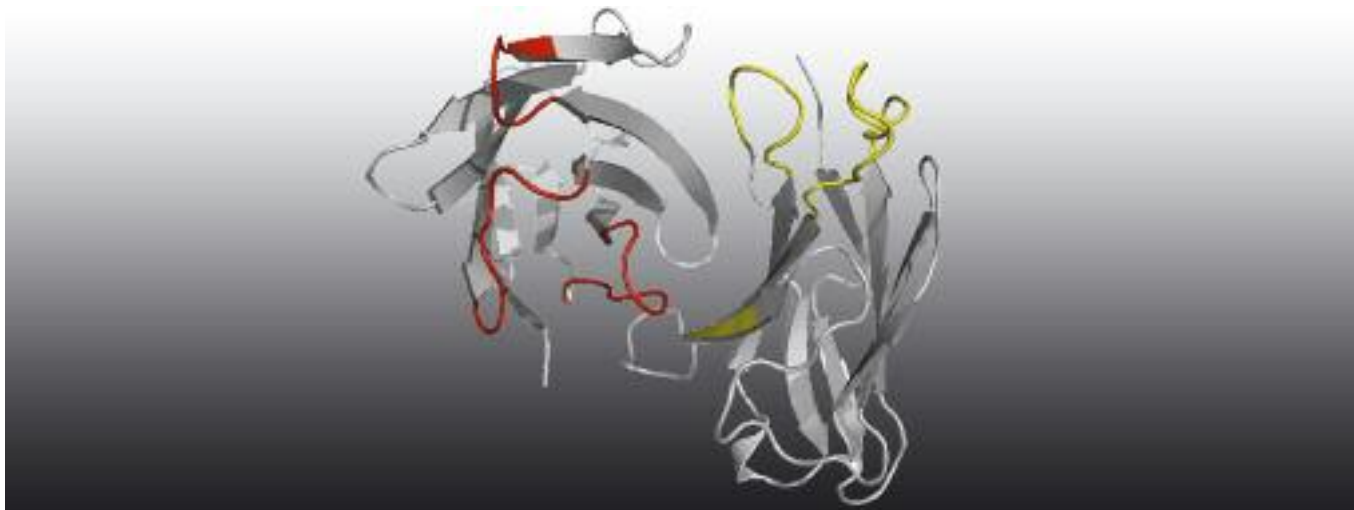
Diplopia and ptosis are described as postoperative complications of peribulbar block even if in a low rate (17,18). These side-effects were not observed in this study and this could possibly be related to the low volume of anaesthetic and the two injections technique employed. The present study data provide important clinical confirmation that levobupivacaine 0.5% is suitable for peribulbar block and shows some better qualities if compared with the ropivacaine 0.75% furnishing a more powerful block at lower doses. No safety or tolerability considerations were raised even in elderly patients with elevated anaesthetic risk.



# Progettazione di nuovi farmaci mediante tecniche computazionali

## In silico techniques for drug design

Ferdinando Spagnolo \*



**Fig. 1** - Anticorpo monoclonale anti VEGFR-1 progettato con metodologie di homology modeling. (*Monoclonal antibody against VEGFR-1 designed with homology modeling methodologies*) Immagine F. Spagnolo.

**Riassunto** - L'uso di strumenti computazionali per la progettazione dei farmaci è diventato quotidiano ed assolutamente necessario al fine di ottimizzare tutti i passaggi che portano alla realizzazione di un nuovo farmaco. Infatti, le tecnologie computazionali consentono di costruire simulazioni capaci di integrare tutte le informazioni ottenute con le tecniche sperimentali tradizionali ed ottenere modelli virtuali assolutamente aderenti ai fenomeni chimici, fisici e biologici coinvolti nell'interazione farmaco-recettore. Oltre agli evidenti vantaggi connessi con il risparmio di tempo e materie prime, gli esperimenti condotti *in silico* consentono una riproducibilità e precisione assolute, abbattendo il rischio connesso con la manipolazione di reagenti potenzialmente dannosi all'ambiente. La virtualizzazione consente molteplici operazioni che vanno dalla visualizzazione di molecole alla simulazione di reazioni chimiche che avvengono nell'organismo vivente nei siti d'azione dei farmaci. Pertanto il *drug design* consente una maggiore esplorazione dello spazio chimico che permette di guidare gli scienziati nel disegno, progettazione e caratterizzazione di nuovi farmaci o trovare nuovi impieghi farmaceutici di molecole già note. Di seguito verranno descritti alcuni successi e metodi computazionali nello sviluppo di nuovi farmaci.

**Parole chiave:** dinamica molecolare, progettazione farmaci, docking, calcoli *ab initio*.

**Summary** - The use of computational tools for drug design become daily and necessary in order to optimize all of the steps that lead to the realization of a new drug. In fact, the computational technologies allow the generation of simulations that can integrate all the information obtained with the experimental techniques and traditional virtual models get absolutely adhering to the chemical phenomena, physical and biological factors involved in the drug-receptor interaction. In addition to the obvious benefits associated with time-row-material-saving, in silico experiments allow better reproducibility and pinpoint accuracy, reducing the risk associated with the handling of reagents potentially harmful to the environment. Virtualization allows multiple operations ranging from visualization of molecules to the simulation of chemical reactions that occur in the living organism in the sites of action of drugs. Therefore, the drug design allows for greater exploration of the chemical space that can guide scientists in design, design and characterization of new drugs or find new uses of pharmaceutical molecules already known. Below are some of the successes and computational methods in the development of new drugs.

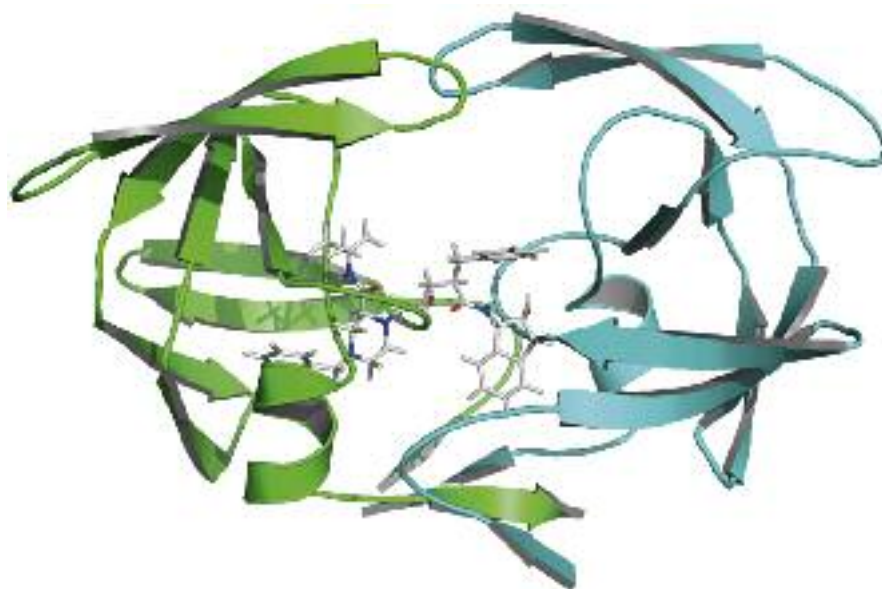
**Key words:** drug design, molecular dynamics, docking, *ab initio* calculations.

\* Cap. sa. (farm.) Centro Studi e Ricerche di Sanità e Veterinaria dell'Esercito, Roma.

Scuola di Dottorato Scienze Biomediche e Biotecnologiche – Bioinformatica - Università di Udine.

## Introduzione

Già i primi calcolatori costruiti negli anni '40 vennero utilizzati per la descrizione di sistemi atomici e molecolari. Nell'ultimo ventennio del XX secolo le tecniche computazionali hanno raggiunto la piena maturità nell'applicazione dei sistemi chimici, fisici, biologici e chimico-farmaceutici. In questi anni i metodi IT (*Information Technology*) hanno affiancato le tecniche tradizionali utilizzate in laboratorio sia nella progettazione di nuovi farmaci, sia nell'ottimizzazione di farmaci già esistenti. Tra i successi, ormai diventati classici esempi di farmaci progettati con l'ausilio di tecniche *in silico*, possiamo citare la Norfloxacinina (1), capostipite dei fluorochinoloni, progettato negli anni '80, una delle più importanti famiglie di antibatterici che vede, tra gli altri, la Ciprofloxacina uno dei più importanti derivati. Pochi anni più tardi, nel 1994, veniva progettato l'Indinavir, inibitore di un enzima chiave per la vitalità del virus dell'immunodeficienza acquisita di tipo I (HIV-I), rappresentato con il suo recettore, HIV-1 polimerasi, in **figura 2**, e nel 1997 un suo derivato di seconda generazione, il Nelfinavir (1997) (2), utilizzando il *docking*, una delle tecniche computazionali più avveniristiche dell'epoca. Oramai, nello scenario della chimica farmaceutica, non esiste oggi esempio di farmaco già sviluppato, od in corso di sviluppo, che non abbia risentito, in almeno una fase del suo percorso, dell'influenza di almeno una metodologia computazionale. La razionalizzazione dei costi e l'ottimizzazione del processo di sviluppo che caratterizzano le tecniche chimico-farmaceutico-computazionali, offrono certa-



**Fig. 2** - Visualizzazione 3D delle strutture HSG1.pdb ed indinavir.

La struttura HSG1 è il modello tridimensionale dell'HIV-1 polimerasi. In figura, il dimerico è rappresentato in cartoon azzurro, catena A, e verde, catena B. Il sito attivo dell'enzima è posto all'interfaccia del dimerico. In questo modello l'indinavir si posiziona nel sito attivo inibendo irreversibilmente il dimerico. *Immagine F. Spagnolo*

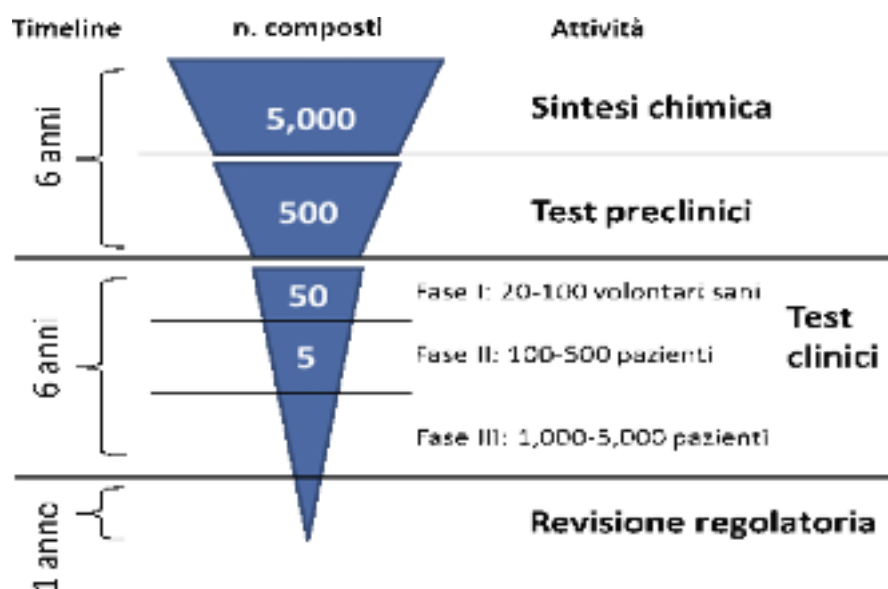
mente preziosi contributi per lo sviluppo di farmaci "orfani" ossia quei farmaci utili alla cura di patologie molto rare che, dato il basso impatto economico, non sono al centro degli interessi di ricerca e sviluppo dell'industria farmaceutica. Le prestazioni dei moderni calcolatori e l'accessibilità delle risorse informatiche hanno permesso, tra l'altro, di avviare progetti *no-profit* su scala internazionale per lo sviluppo di nuovi farmaci contro la malaria, tubercolosi, leishmaniosi ed AIDS (e.g. progetto fight AIDS@home (3) e GO Fight Against Malaria (4)...). I limiti principali del *computational aided drug design* (CADD) risiedono nell'intrinseca difficoltà di elaborare modelli matematici sufficientemente completi per rappresentare in maniera integrale i sistemi biologici complessi alla base della fisiologia cellulare.

## Razionale del drug design

La scoperta e lo sviluppo di nuovi farmaci è un intenso sforzo interdisciplinare. Generalmente la scoperta di nuovi farmaci è raffigurata come un processo lineare, consecutivo, che inizia con la scoperta del bersaglio biologico e del composto *lead* (molecola dotata di una specifica grossolana attività biologica e che può essere ulteriormente modificata al fine di modularne gli effetti biologici). L'ottimizzazione del *lead* procede fino alla fase pre-clinica *in vitro* ed *in vivo* per determinare se i composti elaborati soddisfano una serie di criteri pre-impostati per l'avvio dello sviluppo clinico. L'esigenza dell'ottimizzazione delle risorse per lo sviluppo di un nuovo farmaco è implicita quando si analizzano i costi, i tempi e la richiesta del farmaco risolutivo per una patologia specifica. Infatti il numero di anni per

portare un farmaco dalla scoperta al mercato è di circa 12-14 anni ed hanno un costo indicativo compreso tra \$ 1,2 e \$ 1,4 miliardi di dollari (5) (**Fig. 3**).

Tradizionalmente, i farmaci venivano scoperti sintetizzando composti in processi *multi-step* dove i principi attivi venivano testati su sistemi biologici selezionati, prima *in vitro*, successivamente *in vivo*, per selezionare ulteriormente i candidati *lead* più promettenti per le loro proprietà farmacocinetiche, metabolismo e tossicità potenziale. Un tale processo di sviluppo è caratterizzato da alti tassi di abbandono con insuccessi attribuibili a scarsa farmacocinetica, mancanza di efficacia, tossicità animale, effetti indesiderati nell'uomo e vari fattori commerciali. Oggi, il processo di scoperta di nuovi farmaci è stato rivoluzionato con l'avvento della genomica, proteomica, bioinformatica e tecnologie altamente efficienti quali, la chimica combinatoriale, *high throughput screening* (HTS), screening virtuale, progettazione *de novo*, ADMET (Assorbimento, Distribuzione, Metabolismo, Eliminazione, Trasformazione) screening *in vitro* ed *in silico*. I metodi *virtuali* possono aiutare ad identificare i bersagli del principio attivo oltre che descriverne le proprietà chimico-fisiche. Gli strumenti comuni a tutti i metodi computazionali sono sistemi di gestione dei dati (database ottimizzati), calcolo scientifico ad alte prestazioni (High Performance Computing - HPC) ed internet. L'accesso ad una inimmaginabile quantità di informazioni e la trasformazione dei dati biologici complessi in forma matematica consente la scoperta di nuovi farmaci. L'uso di tecniche sperimentali complementari all'informatica aumenta la probabilità di successo in molte fasi del processo di scoperta del farmaco, dall'identificazione di nuovi recettori, e delu-



**Fig. 3** - Fasi dello sviluppo di un nuovo farmaco: dei 5,000 composti candidati a diventare farmaco, mediamente, solo uno è immesso in commercio. L'utilità del drug design si percepisce già nello studio preliminare dei composti candidati *lead* in modo che solo per una frazione delle centinaia di migliaia di composti venga proposta una sintesi, continua poi conferendo strumenti analitici per l'analisi dei risultati dei test preclinici e, oggi, anche clinici.

cidazione riguardo le loro funzioni, alla scoperta e sviluppo di *leads* con le proprietà desiderate. I ruoli principali del calcolo scientifico nella scoperta di un principio attivo sono:

- 1 Screening virtuale e progettazione *de novo*;
- 2 Previsione *in silico* ADME / T;
- 3 Caratterizzazione dell'interazione recettore/ligando.

Con queste premesse, uno dei principi cardine per il moderno *computational drug design*, rimane, in ogni caso, il modello chiave-serratura (6), elaborato poi come modello dell'adattamento indotto (7). La biologia molecolare, nell'era della proteomica, ha fornito decine di migliaia di strutture (serrature) mediante tecniche cristallografiche e microscopiche che, con l'introduzione dei metodi NMR e bioinformatici permettono l'identificazione e l'analisi di siti attivi, proponendone eventuali

conformer, suggerendone potenziali ligandi farmacologicamente attivi (chiavi). La struttura risolta di un complesso ligando-recettore fornisce una visione dettagliata delle interazioni tra il ligando e lo stesso recettore. Lo studio minuzioso di un composto con le caratteristiche *drug like* consente di proporre modifiche strutturali capaci di modulare la formazione del complesso ligando-recettore del composto modificandone l'ADME.

Un composto *drug like* (o *druggable*) contiene gruppi funzionali e/o possiede proprietà chimico-fisiche in linea con la maggior parte dei farmaci noti. Strutture *lead*, quindi, sono ligandi che tipicamente presentano un'affinità di legame sub-ottimale rispetto a quella desiderata. Generalmente, un composto *lead*, rispetto al farmaco da questo generato, presenta una minor complessità strutturale, peso molecolare inferiore, minor

numero di anelli e legami ruotabili, inferiore idrofobia (espressa come logP e LogD), infine hanno polarizzabilità inferiore. Infine, da un punto di vista pratico, al fine di considerare l'ulteriore sviluppo del processo dell'ottimizzazione della biodisponibilità e sicurezza, i composti *leads* dovrebbero possedere le seguenti proprietà:

- 1 Caratteristiche chimiche relativamente semplici (ottimizzazione chimica combinatoriale);
- 2 Appartenenza ad una classe RSA (relazione struttura-attività) ben conosciuta;
- 3 Situazione brevettuale favorevole;
- 4 Buona ADME.

In *figura 4* ed in *figura 5* sono riportati i metodi computazionali di procedure CADD.

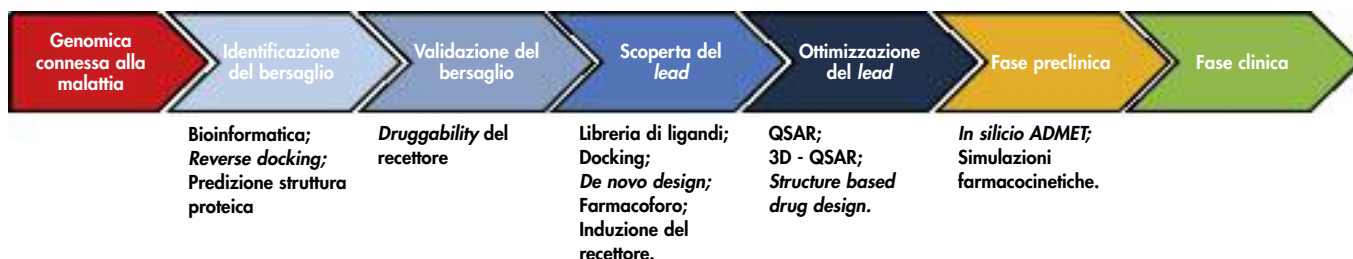
### Esempi storici

Zanamivir e gli inibitori delle proteasi HIV sono un paio di classi esempi di CADD.

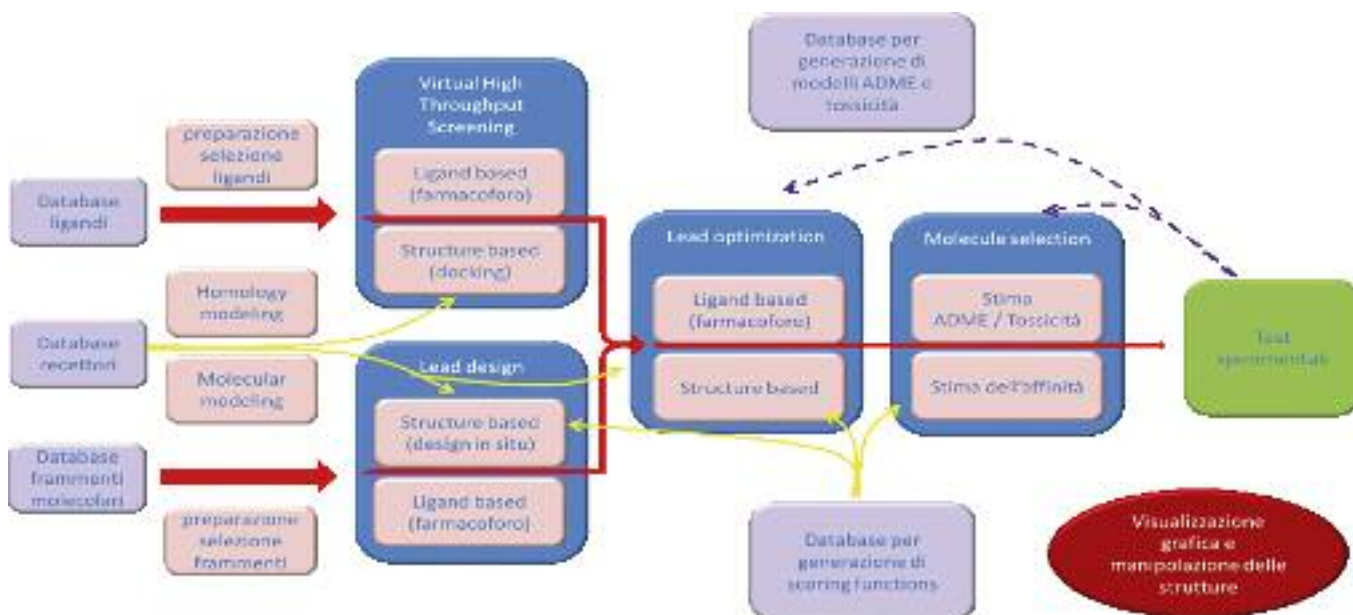
#### Zanamivir.

Lo zanamivir (8) fu sviluppato nell'ambito di una collaborazione internazionale. Nel 1983, la struttura tridimensionale dell'enzima neuraminidasi venne risolta mediante cristallografia a raggi X, strutture pdb 1NNA ed 1NNB (9) rappresentate in

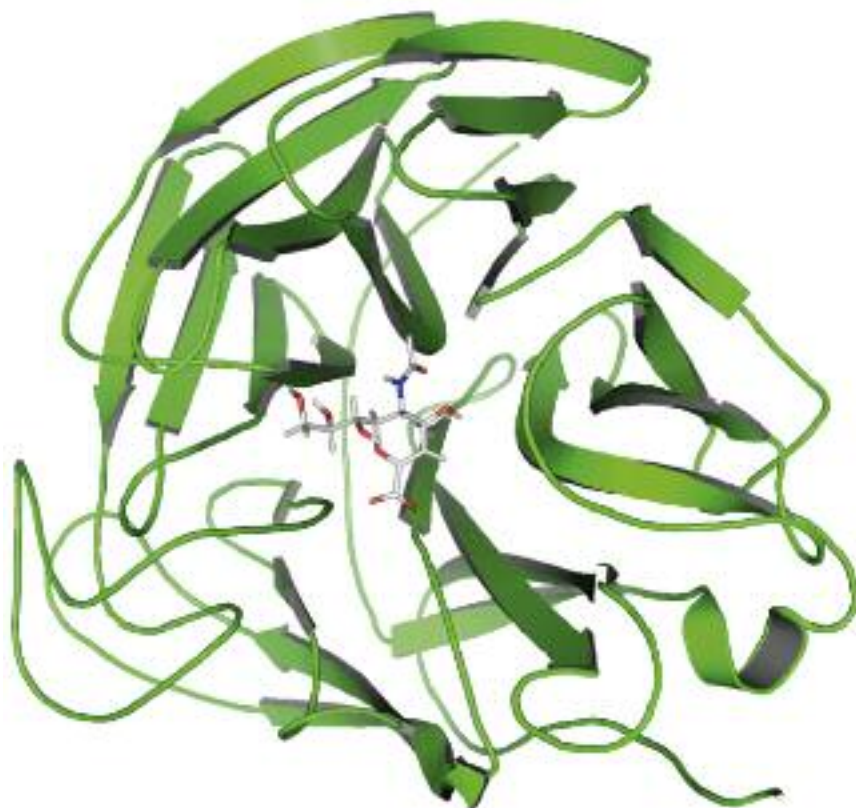
*figura 6*. Come sappiamo, la neuraminidasi è un potenziale bersaglio contro il virus dell'influenza in quanto rappresenta un punto critico nel ciclo vitale del virus: al termine della replicazione all'interno della cellula ospite, questo enzima permette ai virioni di fuoriuscire dalla cellula rompendo il legame tra l'emoagglutinina virale e l'acido sialico presente sulla superficie della cellula ospite. Venne poi scoperto che il sito attivo dell'enzima è estremamente conservato in tutti i ceppi virali, umani ed animali, mentre lo *scaffold* presenta macroscopiche differenze strutturali; essendo già noto un inibitore sintetico della neuroaminidasi, analogo dell'acido sialico, ed essendo stata risolta la strut-



*Fig. 4* - Fasi della scoperta di nuovi farmaci e relazione delle tecniche informatiche strutturali.



*Fig. 5* - Attività connesse con il drug design.

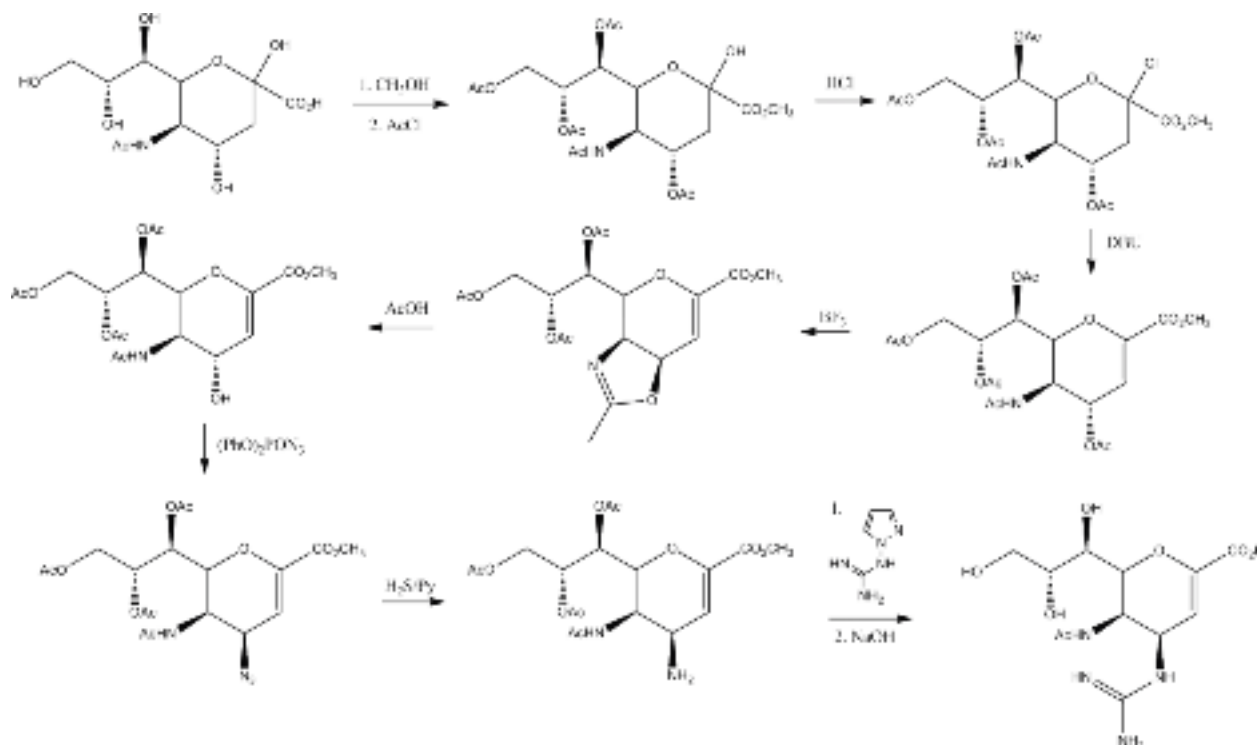


**Fig. 6** - Complesso di neuraminidasi ed acido 2-deossi 2,3-deidro-N-acetil neuramminico.  
Immagine F. Spagnolo.

tura tridimensionale del suo complesso con la neuraminidasi, i ricercatori riuscirono a disegnare *in silico* un *lead* che a seguito di CADD permisero la realizzazione di un primo potenziale inibitore guanidino simile che, anche se difficilmente sintetizzabile, aveva una cinetica di complessazione molto favorevole (inibizione a concentrazioni nano molar, sintesi descritta in **figura 7**). Lo Zanamivir fu brevettato dalla GlaxoSmithKline Inc. nel 1990 ed autorizzato al commercio dalla FDA nel 1999. Successivamente, con metodiche analoghe, un'altra *major* farmaceutica, Roche, brevettò l'oseltamivir (10), altro importante inibitore della neuroaminidasi.

*Inibitori della proteasi HIV (2).*

In analogia con quanto detto per zanamivir e oseltamivir, lo sviluppo degli inibitori della proteasi HIV iniziò durante la fine degli anni '80. Ritonavir (Norvir) è uno dei primi esempi in cui venne applicata la genomica per il *drug design*. Quando fu pubblicata la



**Fig. 7** - Schema sintetico della sintesi dello zanamivir (1).



sequenza del genoma dell'HIV a metà anni '80, vennero identificate specifiche sequenze nucleotidiche indicative della codifica per enzimi proteasici. Kempf et. Al scoprirono successivamente che la proteasi è composta da un dimero formato da due metà perfettamente identiche alla cui interfaccia è allocato il sito attivo – dettaglio rilevante svelato *in silico* prima che la struttura tridimensionale fosse risolta – con simmetria C2 (la rotazione di 180 gradi attorno all'asse centrale porta ad una struttura identica). Con questi dati, Kempf creò un modello computazionale del sito attivo proteasico e disegnò potenziali inibitori *in silico*. Partendo da un substrato noto fu generata facilmente una nuova famiglia di composti dotati di una marcata attività inibente. L'uso congiunto delle strutture tridimensionali di proteasi HIV man mano risolte, e della grafica, gli inibitori della HIV proteasi furono ottimizzati virtualmente anche in termini di biodisponibilità. Il primo composto con sufficiente biodisponibilità orale è il ritonavir (1991), approvato dall'FDA a tempo di record (72 giorni, anno 1996). Il tempo richiesto per lo sviluppo di questa classe di farmaci fu circa la metà di quello richiesto per lo sviluppo con metodologie classiche – 8 anni –. Saquinavir e nelfinavir sono altri inibitori realizzati negli stessi anni. Gli inibitori delle proteasi HIV sono un passo miliare nella rivoluzione del *drug design* e della terapia anti HIV.

Dallo Zanamivir i metodi utilizzati per il *drug design* si sono evoluti fondamentalmente in due direzioni: *Virtual Screening* la prima, *fragment based design* la seconda. Di seguito vengono descritte le filosofie alla base delle due metodologie.

### *Virtual screening*

Le procedure di *virtual screening* necessitano di un modello 3D del recettore su cui si voglia disegnare un farmaco. I modelli 3D possono provenire da strutture risolte sperimentalmente (cristallografia raggi X, NMR, microscopia...) o virtuali (*homology modelling*). La filosofia del *virtual screening* si basa sul test di affinità tra ligando e recettore su una libreria di molecole potenzialmente attive. Ogni ligando pertanto interagisce virtualmente con il recettore ed il computer determina un punteggio di questa interazione tenendo conto di parametri geometrici ed elettrostatici. Nonostante si debba per forza ricorrere a punteggi "approssimati", al giorno d'oggi è possibile stimare in maniera corrispondente alla realtà sistemi complessi, anche grazie all'uso di modelli quantomeccanici.

#### *Procedure computazionali su recettori sperimentalmente noti*

Il *docking* molecolare è il metodo preferibile per lo studio dell'interazione ligando-recettore quando la struttura di quest'ultimo è nota. Il *docking* è un algoritmo di calcolo che indica di come un ligando interagisce con un recettore e produce una stima dell'intensità di legame. In un algoritmo di *docking* sono perseguiti due obiettivi principali, il primo, la predizione delle pose del ligando (conformazione della struttura e topologia di interazione), il secondo, la corretta classifica di interazione ligando-recettore. Mentre il primo obiettivo ha da tempo trovato soluzioni robuste, il secondo presenta dei limiti connessi con la tipologia di approssimazioni adottate nella ricerca della soluzione ottimale per la descrizione del sistema specifico. Inoltre, il *docking*

consente di tener conto anche dell'induzione reciproca di ligando-recettore, infatti, quasi tutti i programmi consentono di tener conto della flessibilità degli amminoacidi presenti nei siti attivi. Per trattare la flessibilità del ligando e del sito attivo si sono sviluppate tre principali categorie di algoritmi: metodi sistematici (sono considerate sistematicamente tutte le conformazioni del sistema in esame), stocastici (metodi Monte Carlo, algoritmi genetici) e simulazioni (dinamica molecolare e minimizzazione dell'energia). Esistono decine di programmi per il *docking* (11, 12, 13, 14, 15, 16). I metodi per calcolare il legame ligando-recettore devono tuttavia sottostare al compromesso di ottimizzare velocità ed accuratezza di calcolo mediante approssimazioni o stratagemmi informatici. Infatti, se ipotizzassimo che la stima dell'affinità di legame tra un ligando ed un recettore servisse un giorno, testare un milione di composti sullo stesso recettore richiederebbe anni. Tra gli stratagemmi messi a punto, nel 2000, Arthur J. Olson, PhD, professore di biologia molecolare e direttore del laboratorio di grafica molecolare de "The Scripps Research Institute", avviò il progetto FightAids@Home che utilizza un sistema di calcolo a matrice via internet per effettuare *Virtual Screening* da remoto su personal computers di volontari. Il progetto può essere riassunto in questi termini: 500,000 volontari installarono una specie di salva schermo che si attivava, e lanciava calcoli del programma Auto Dock, nei momenti di standby del pc, in sei mesi, degli oltre 2,000 ligandi che vennero testati su centinaia di strutture proteiche di HIV, alcune decine sono in fase avanzata di studio. Oltre all'enorme risparmio di risorse computazionali, questo progetto fu pionieristico per

quanto concerne i dati statistici raccolti che sono serviti per identificare sottocategorie di proteine mutanti, infatti fu possibile definire le caratteristiche comuni che devono possedere non solo gli inibitori retro virali, ma anche inibitori del recettore delle citochine (antitumorali) oppure antibiotici diretti al ribosoma. I composti candidate per i test in laboratorio sono passati in esame da un operatore che li seleziona e li studia ulteriormente mediante simulazioni dinamiche del complesso ligando/recettore.

#### *Procedure computazionali su recettori virtuali*

##### *QSAR*

Nel caso in cui la struttura recettoriale non fosse nota, i chimici computazionali utilizzano metodi definiti *ligand-based*: sovrappongono una serie di ligandi con attività nota contro il bersaglio e confrontano le loro caratteristiche strutturali e chimiche. Uno dei modelli più comuni per il ligand-based è il farmacoforico dove gruppi funzionali caratteristici (e.g. donatori di legame idrogeno, cariche elettrostatiche...) sono usati per generare una impronta per selezionare virtualmente altri composti simili. In questo caso, ci si riferisce ad un modello chiave-serratura adattato alla ricerca di una vera e propria impronta tridimensionale e pseudo complementare al sito di interazione con il recettore. Infatti, le superfici di ligando e del recettore si comportano come il calco ed il suo stampo, con in più l'interazione elettrostatica. Ne consegue che un principio attivo potrebbe legare diversi recettori anche dotati di attività diverse tra loro. La generazione di un modello farmacoforico *ligand-based* avviene in due stadi, per prima cosa viene campionato lo spazio conformazionale di ogni

ligando, in seconda battuta sono allineati i ligandi nelle varie conformazioni per definire quali caratteristiche chimiche sono comuni ed essenziali. Esistono due tipi di modelli farmacoforici: nel primo tipo la relazione struttura attività quantitativa tridimensionale (QSAR-3D) tiene conto dei dati sperimentali di relazione struttura-attività di un set molto vasto di molecole (non necessariamente di dimostrata attività biologica), nel secondo tipo sono considerati una selezione di principi attivi. Con i modelli farmacoforici è possibile determinare qualitativamente le potenze dei composti testati. I punti determinanti per il modelling farmacoforico sono la definizione e posizionamento dei descrittori farmacoforici e le tecniche di allineamento utilizzate dall'algoritmo. I modelli QSAR sono più performanti in termini di tempo di esecuzione del calcolo, pertanto sono preferibili quando il problema che viene posto al ricercatore è rappresentato da un database molto grande. I risultati ottenuti generalmente consistono in una clusterizzazione di potenziali ligandi nuovi e di diversa tipologia chimica, ciò consente al chimico farmaceutico di includere un nuovo spazio chimico nella fase di ricerca. Un modello farmacoforico tridimensionale può essere proposto anche considerando la struttura del recettore preso in considerazione. In questo caso viene studiata la forma ed il volume del recettore considerandolo "stampo" in negativo per lo sviluppo del rispettivo ligando. Il 3D QSAR consente pertanto di effettuare una prima selezione tra milioni di composti di cui sono più facilmente predicibili le proprietà chimico-fisiche, il che consente di proporre un profilo ADMET. Un esempio pratico sulla significatività

degli approcci di modellazione QSAR è l'identificazione una nuova classe di inibitori dell'istone-deacetilasi tra 9,5 milioni molecole presenti nei database ZINC, World Drug Index, le librerie Synergy ASINEX, e altre banche dati commerciali (17, 18, 19, 20).

#### *Homology modeling*

Quando non è proprio disponibile una struttura risolta del recettore su cui sviluppare il farmaco, ma è nota la sequenza amminoacidica – o nucleotidica del gene che la codifica – la modellazione per omologia (noto anche come modellazione comparativa) è un approccio utile per spiegare dati sperimentali, sviluppare ipotesi oppure effettuare Structure-Based Drug Design (SBDD). Nella modellazione per omologia viene costruito un modello a risoluzione atomica della proteina bersaglio partendo da sequenze amminoacidica sperimentali note correlate omologhe che vengono utilizzate come stampo (21, 22, 23). Il concetto si basa sull'esperienza che sequenze simili portano a strutture simili e verosimilmente discendono da un antenato comune (una famiglia di proteine), pertanto hanno sequenze amminoacidiche e strutture 3D simili. Poiché la determinazione sperimentale della struttura delle proteine è ancora un processo difficile e costoso, metodi di modellazione di omologia forniscono modelli adeguatamente affidabili rapidamente. Tipicamente, la modellazione per omologia delle proteine comprende le seguenti quattro fasi (21, 22, 23): identificazione di una o più note strutture sperimentali di una proteina correlata che può servire come modello, allineamento delle sequenze di proteine bersaglio e



stampo, costruzione del modello per il target ed infine la raffinazione / validazione / valutazione dei modelli ottenuti. L'intervento umano è in genere necessario per verificare la presenza di errori che possono essere stati introdotti nel corso, ad esempio, l'allineamento di sequenza o la robustezza dei modelli. FASTA (24) e BLAST (25) sono i metodi di ricerca in database più semplici per individuare i modelli per la modellazione omologia. Strumenti più avanzati includono PSI-BLAST (26) e FFAs (27). La qualità di un modello ottenuto per omologia è generalmente correlata con quella della struttura di riferimento e la procedura di allineamento. Quando sono presenti lacune (indels) tra struttura di riferimento e modello, la modellazione per omologia può essere soggetta a errori, inoltre, la qualità del modello, tende a diminuire se la risoluzione della proteina modello è scarsa, tuttavia, dal momento che la regione funzionale della proteina, come il sito attivo, è altamente conservata, i modelli ottenuti per omologia sono significativamente rappresentativi del recettore studiato (28). Un modello omologo ragionevole può essere quantificato, per esempio, da una trama Ramachandran, in cui viene mostrata la distribuzione di angoli di legame del *backbone* proteico e dalla distribuzione dei residui amminoacidici idrofili e lipofili. Per valutare la qualità relativa dei modelli omologi esistono numerosi esperimenti di *benchmarking* su larga scala della predizione di strutture proteiche (CASP) (29). Un modello ottenuto per omologia può essere utilizzato per la valutazione di *drug-gability* ed esperimenti di mutagenesi, ma deve essere applicato con cautela per sviluppo di farmaci (30, 31, 32).

### **Fragment based drug design**

La filosofia di questo approccio di *drug design* si ispira ai famosi mattoncini "Lego". In un laboratorio, è normale che i ricercatori creino le proprie librerie di composti o frammenti che rappresentano unità funzionali facilmente assemblabili tra loro. Per ogni composto della libreria sono raccolti dati sperimentali ottenuti secondo varie metodologie (cristallografia ad alta efficienza, NMR o spettrofotometria di massa) per descrivere la conformazione 3D della struttura considerata. Successivamente, con l'ausilio di tecniche computazionali, i frammenti sono trasformati in potenti farmaci a seguito dell'aggiunta di gruppi funzionali o piccole modificazioni. Questo approccio trae il massimo rendimento con l'accoppiamento alle tecniche della chimica combinatoriale. Il vantaggio più evidente sta nella semplificazione del sistema complesso che permette l'esplorazione sistematica dello spazio chimico con un numero limitato di frammenti (e.g. l'esplorazione di 10 frammenti nelle tre dimensioni x, y, z, permette di esplorare 1,000 possibili combinazioni). Uno dei pionieri dei metodi *Fragment Based* è Sir. Tom Blundell della cattedra di biochimica dell'Università di Cambridge. Nel 1999 avviò uno studio sistematico per la valutazione di nuovi inibitori di chinasi a scopo antitumorale. Il connubio tra la cristallografia a raggi X ad alta efficienza e tecniche computazionali, permisero la scoperta di un altro farmaco innovativo: il glivec (33) un inibitore del BCR-ABL, chinasi perennemente attivato e coinvolto nella leucemia cronica mielogena. Dal momento che circa il 20% dei pazienti sono resistenti al farmaco, i ricercatori della SGX clonarono, espressero, purificarono e cristallizzarono una proteina resistente al

glivec. Lo screening dei frammenti della loro libreria contro questa struttura permise l'individuazione di un primo *lead* attivo già a concentrazioni micro molar e, dopo soli tre mesi, grazie alle successive modifiche suggerite dall'analisi computazionale, fu isolato un composto in grado di inibire la BCR-AB a concentrazioni nano molar.

### **Obiettivi "Complicati"**

Lo studio dell'interazione ligando-recettore *tout-courts*, per quanto indaginoso possa essere, valuta due "oggetti" finiti e di facile individuazione. Quando questi però sono inseriti in un ambiente biologico più completo, quale può essere il doppio strato fosfolipidico delle membrane cellulari, il grado di complessità aumenta enormemente in quanto non si può considerare solo il sito attivo del recettore, ma bisogna simulare anche eventuali interazioni non solo con la membrana stessa, ma anche con altre proteine. Oltre alla difficoltà computazionale del problema, si aggiunge la complicazione sperimentale della risoluzione delle strutture recettoriali. Un dato significativo della sfida posta alla ricerca è rappresentato dalla proporzione dei farmaci sul mercato che ha come bersaglio recettori accoppiati a proteine G: 1 su 4!

### **Trasformazione di composti chimici in farmaci**

I composti che sono stati identificati con metodi computazionali come possibili principi attivi sono ben lungi dall'essere considerati farmaci. Per essere un farmaco un composto chimico deve essere biodisponibile e sicuro. Proprio



queste due caratteristiche portano a derive nella formulazione della struttura chimica finale e, pertanto, molto si è fatto per valutare *in silico* la biodisponibilità e disponibilità. I modelli matematici per la predizione di questi requisiti sono ormai abbastanza maturi e possono simulare con una buona approssimazione gli effetti biologici di un composto nel nostro organismo. Rispetto la famosa regola dei 5 che ha formulato Lipinsky per descrivere le caratteristiche chimico-fisiche minime di un farmaco, i computer sono oggi in grado di fornire indicatori sufficientemente rigorosi per determinare l'ADME *in silico*, ossia la dose assorbita dal corpo, la distribuzione negli organi, il metabolismo e l'escrezione di una molecola. Con sufficiente potenza di calcolo, gli scienziati possono anche testare virtualmente un composto candidato a diventare farmaco su tutto l'insieme delle strutture risolte e, mediante metodi di *homology modelling*, anche su recettori virtuali, per essere avere l'indicazione che il *lead* attraversi le giuste membrane, non reagisca con recettori indesiderati e che abbia l'attività voluta sul proprio bersaglio. In questi termini potrebbe sembrare che il computer abbia ormai sostituito radicalmente il banco di laboratorio. Il chimico farmaceutico continua ad essere indispensabile per il valore aggiunto derivante dall'intuizione, o senso chimico, che lo contraddistingue da un calcolatore.

## Strumenti virtuali per procedure CADD

### Database chimici

La quantità di informazioni generate dalla "meta-omica" ha reso necessaria la standardizzazione e razionalizzazione dei dati in possesso dalla comunità

scientifica, inclusa l'industria. Questi database possono raccogliere insieme di strutture, come ad esempio dei campioni di screening disponibili in commercio, oppure fornire dati aggiuntivi come la bioattività dei composti e dei loro target proteici. In Tabella 6 è riportata una selezione di alcuni dei più noti database di composti utilizzati per la scoperta di nuovi farmaci. Il mantenimento di queste raccolte è possibile grazie alla creazione di software chemoinformatica utilizzare la correttezza delle informazioni riportate (34).

### Dinamica molecolare

La dinamica molecolare è molto utile per comprendere il comportamento delle proteine o altre macromolecole biologiche. Grazie all'enorme aumento di potenza di calcolo e algoritmi migliorati, con i metodi di dinamica molecolare si possono simulare le dinamiche di sistemi complessi di grande dimensioni anche in ambienti di solvente esplicito (35). Nonostante l'ampio uso di simulazioni di dinamica molecolare nello sviluppo di farmaci, la messa a punto di una simulazione di dinamica molecolare può essere difficile: spesso non esistono parametri adeguati per il calcolo, come ad esempio nel caso dei composti metallorganici. Infine, visto il tempo richiesto dalle simulazioni, non è possibile effettuare dei calcoli sistematici su grossi database, pertanto, con la dinamica molecolare è possibile rifinire i risultati già ottenuti tramite le altre metodologie sopra descritte.

### Programmi di meccanica quantistica

Gli approcci già descritti sono caratterizzati dalle approssimazioni necessarie per la trattazione dei sistemi secondo la meccanica molecolare, la più importante, è la descrizione di

atomi e molecole come sfere e molle, governati dalle leggi della meccanica classica e non come nuclei tenuti insieme da orbitali elettronici governati dalle leggi della meccanica quantistica, come sono realmente. Attualmente, con l'aumento delle prestazioni dei calcolatori ed il miglioramento di algoritmi e *software*, i problemi biologici possono essere affrontati con metodi quantomeccanici (36, 37, 38). I metodi quantomeccanici possono essere utilizzati per modellare molecole instabili, come i radicali, o per fornire stime di energie di attivazione per le reazioni chimiche, comprese quelle enzimatiche. Le applicazioni quantomeccaniche tipiche nella progettazione di farmaci includono: l'ottimizzare di ligandi e complessi recettore-ligando (39), costruzione di modelli QSAR.

### Programmi per il calcolo di ADMET

I programmi per il calcolo di ADMET sono molto importanti nello sviluppo di un nuovo farmaco al fine di ridurre il fallimento in fase avanzata e minimizzare i costi (40) (41). Numerose proprietà ADMET sono interdipendenti fra loro, quindi è necessario ottimizzarle contemporaneamente durante lo sviluppo di un farmaco. L'ottimizzazione ADMET multiparametrica è, probabilmente, la fase meno attraente ma può fare la differenza costosa tra successo e fallimento. Molti programmi usano modelli statistici per calcolare i descrittori ADMET. La qualità dei modelli dipende molto dalla giusta combinazione di tecniche statistiche, descrittori molecolari, metodo di validazione, e soprattutto per la qualità e l'ampiezza dei dati sperimentali utilizzati per derivarli (42).



### Programmi di visualizzazione molecolare

Ligandi e recettori possono essere visualizzati ed analizzati mediante programmi di modellistica più o meno complessi. generare grafica per pubblicazioni o relazioni. Per la generazione di immagini di alta qualità o anche animazioni per presentazioni e pubblicazioni, i cinque programmi ampiamente utilizzati sono Chimera, Jmol, PyMOL, SwissPdbViewer e VMD sono inclusi nella. L'uso di questi *software* non è limitato alla visualizzazione molecolare in quanto sono altamente estensibili per l'analisi di strutture molecolari e dati correlati, tra cui mappe di densità elettroniche, assemblaggi supramolecolari, allineamenti di sequenza, analisi di docking e dinamiche molecolari.

### Conclusioni

La produttività dell'industria farmaceutica è diminuita moltissimo negli ultimi dieci anni. Anche se questo è probabilmente dovuto a molti fattori, in particolare, gli standard di sicurezza e l'enorme costo e tempo delle sperimentazioni cliniche. La domanda evidente che ci si può porre è legata al vero contributo del *computational drug design*, visto che i suoi costi, in ogni caso, non sono irrilevanti e, per di più non esiste un programma che sia affidabile per tutti i sistemi studiati (l'utilizzo di metodologie di docking è stato vincente per la progettazione degli inibitori delle proteasi HIV ma deludente in altri ambiti). È certo che l'utilizzo del Computer Aided Drug Design ha avuto un grandissimo impatto nella chimica farmaceutica specie per la possibilità di virtualizzare e, a volte predire, fenomeni biologici difficilmente riproducibili in laboratorio. Un esempio

di ciò la serie di farmaci emergenti per l'epatite C. Il virus dell'epatite C fu scoperto nel 1989 ed è caratterizzato da una difficile coltivazione, inoltre, le informazioni strutturali dei bersagli molecolari (polimerasi e proteasi HCV) vennero risolte molto più tardi (metà anni '90). Grazie alle tecniche computazionali, in breve tempo la RNA polimerasi (43) è stata individuata come il bersaglio ideale per lo sviluppo di nuovi inibitori, al punto di diventare essa stessa un modello per testare gli algoritmi ed architetture informatiche più all'avanguardia.

### Bibliografia

- 1 A. I. T. S. a. S. K. i. C. H. a. T. F. H. Chuman:**  
*Classical and Three-Dimensional QSAR in Agrochemistry.*  
ACS Symposium Series 606, p. 171, 1995.
- 2 Scheiget J., Zamboni R., Bernstein M. A. e Roy B.:**  
*A syntheses of 4-a-guanidino-2-deoxy-2,3-didehydro n-acetylneuraminic acid.*  
Organic Letters, vol. 27, n. 6, p. 637-644, 12 1995.
- 3 Online. Available:**  
<http://fightaidsathome.scripps.edu/fightaidsatbome.scripps.edu>.  
The Scripps Institute.
- 4 <http://www.worldcommunitygrid.org/research/gfam/overview.do>**
- 5 P. L.:**  
*Il ruolo di AIFA nella Ricerca Clinica.*  
2012.
- 6 F. E.:**  
*Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme.*  
Ber. Dt. Chem. Ges., vol. 27, pp. 2985-2993, 1894.
- 7 K. D. E.:**  
*Application of a Theory of Enzyme Specificity to Protein Synthesis.*  
Proc. Natl. Acad. Sci., vol. 44, n. 2, pp. 98-104, 1958.
- 8 V. G. R. P. S. C. F. D. F. L. F. S. Gehlhaar DK:**  
*Molecular recognition of the inhibitor AG-1343 by HIV-1 protease: conformationally flexible docking by evolutionary programming.*  
Chem Biol, vol. 2, n. 5, pp. 17-24, 1995.
- 9 P. C. M. B. Y. S. C. L. W. A. G. Bossart-Whitaker:**  
*Three-dimensional structure of influenza A N9 neuraminidase and its complex with the inhibitor 2-deoxy 2,3-dehydro-N-acetyl neuraminic acid.*  
J.Mol.Biol., vol. 232, pp. 1069-1083, 1993.
- 10 M. Karpf e R. Trussardi:**  
*New, Azide-Free Transformation of Epoxides into 1,2-Diamino Compounds: Synthesis of the Anti-Influenza Neuraminidase Inhibitor Osetamivir Phosphate (Tamiflu).*  
Journal of Organic Chemistry, vol. 66, n. 6, p. 2044-2051, 02 4 2001.
- 11 G. D. H. R. Morris GM.:**  
*Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function.*  
J Comput Chem, vol. 19, n. 14, p. 1639-1662, 1998.
- 12 B. S. M. S. Lang PT.:**  
*DOCK 6: combining techniques to model RNA-small molecule complexes.*  
RNA, vol. 15, n. 6, p. 1219-1230, 2009.
- 13 R. M. L. T. Kramer B.:**  
*Evaluation of the FLEXX incremental construction algorithm for protein-ligand docking.*  
Proteins, vol. 37, n. 2, p. 228-241, 1999.
- 14 A. H. N. A. G. J. B. F. Mcgann MR.**  
*Gaussian docking functions.*  
Biopolymers, vol. 68, n. 1, p. 76-90, 2003.
- 15 B. J. M. R. Friesner RA.:**  
*Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1 Method and assessment of docking accuracy.*  
J Med Chem, vol. 47, n. 7, p. 1739-1749, 2004.
- 16 C. J. H. M. M. C. T. R. Verdonk ML.:**  
*Improved protein-ligand docking using GOLD.*  
Proteins, vol. 52, n. 4, p. 609-623, 2003.

- 17 P. R. S. J. L. M. Sprouds DG.:**  
*QSAR in the pharmaceutical research setting: QSAR models for broad, large problems.*  
Curr Top Med Chem, vol. 10, n. 6, p. 619–637, 2010.
- 18 C. RD.:**  
*Prospective ligand- and target-based 3D QSAR: state of the art 2008.*  
Curr Top Med Chem, vol. 9, n. 9, p. 791–810, 2009.
- 19 G. A. Tropsha A.:**  
*Predictive QSAR modeling workflow, model applicability domains, and virtual screening.*  
Curr Pharm Des, vol. 13, n. 34, p. 3494–3504, 2007.
- 20 W. X. H. X. Tang H.:**  
*Novel inhibitors of human histone deacetylase (HDAC) identified by QSAR modeling of known inhibitors, virtual screening, and experimental validation.*  
J Chem Inf Model., vol. 49, n. 2, p. 461–476, 2009.
- 21 P. S. Cavasotto CN.:**  
*Homology modeling in drug discovery: current trends and applications.*  
Drug Discov Today, vol. 14, n. 13-14, p. 676–683, 2009.
- 22 G. M. F. M. Kairys V.:**  
*Using protein homology models for structure-based studies: approaches to model refinement.*  
ScientificWorldJournal, vol. 6, p. 1542–1554, 2006.
- 23 S. T. Kopp J.**  
*Automated protein structure homology modeling: a progress report.*  
Pharmacogenomics, vol. 5, n. 4, p. 405–416, 2004.
- 24 Online. Available:**  
<http://fasta.bioch.virginia.edu>.  
*University of Virginia.*
- 25 «Online. Available:**  
<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>.  
*The National Center for Biotechnology Information.*
- 26 Online. Available:**  
[www.ebi.ac.uk/Tools/sss/psiblast](http://www.ebi.ac.uk/Tools/sss/psiblast).  
*European Bioinformatics Institute.*
- 27 Online. Available:**  
<http://ffas.ljcrf.edu/ffas-cgi/cgi/ffas.pl>.
- 28 S. A. Baker D.**  
*Protein structure prediction and structural genomics.*  
Science, vol. 294, n. 5540, p. 93–96, 2001.
- 29 P. J. J. R. F. K. Moul J.**  
*A large-scale experiment to assess protein structure prediction methods.*  
Proteins, vol. 23, n. 3, p. ii–v, 1995.
- 30 P. S. Cavasotto CN.**  
*Homology modeling in drug discovery: current trends and applications.*  
Drug Discov Today, vol. 14, n. 13, p. 676–683, 2009.
- 31 G. M. F. M. Kairys V.:**  
*Using protein homology models for structure-based studies: approaches to model refinement.*  
Scientific World Journal, vol. 6, p. 1542–1554, 2006.
- 32 S. T. Kopp J.:**  
*Automated protein structure homology modeling: a progress report.*  
Pharmacogenomics, vol. 5, n. 4, p. 405–416, 2004.
- 33 «[http://www.innovation.org/index.cfm/StoriesofInnovation/InnovatorStories/The\\_Story\\_of\\_Gleevec](http://www.innovation.org/index.cfm/StoriesofInnovation/InnovatorStories/The_Story_of_Gleevec),»  
**Online.****
- 34 I. W. N. M. Sitzmann M.:**  
*Tautomerism in large databases.*  
J Comput Aided Mol Des, vol. 24, n. 6-7, p. 521–551, 2010.
- 35 L.-L. K. D. R. S. D. Klepeis JL.:**  
*Long-timescale molecular dynamics simulations of protein structure and function.*  
Curr Opin Struct Biol, vol. 19, n. 2, p. 120–127, 2009.
- 36 R. K. M. K. J. Peters MB.:**  
*Quantum mechanics in structure-based drug design.*  
Curr Opin Drug Discov Devel, vol. 9, n. 3, p. 370–379, 2006.
- 37 P. M. W. B. Raha K.:**  
*The role of quantum mechanics in structure-based drug design.*  
Drug Discov Today, vol. 12, n. 17-18, p. 725–731, 2007.
- 38 C. P. R. M. Cavalli A.:**  
*Target-related applications of first principles quantum chemical methods in drug design.*  
Chem Rev, vol. 106, n. 9, p. 3497–3519, 2006.
- 39 N. M. Liao C.:**  
*Tautomerism and magnesium chelation of HIV-1 integrase inhibitors: a theoretical study.*  
ChemMedChem, vol. 5, n. 7, p. 1053–1066, 2010.
- 40 H. T. R. A. Wang J.:**  
*Annu Rep Comput Chem.*  
Chapter 5 Recent advances on in silico ADME modeling, vol. 5, 2009, p. 101–127.
- 41 H. A. H. S. Gleeson MP.:**  
*In-silico ADME models: a general assessment of their utility in drug discovery applications.*  
Curr Top Med Chem, vol. 11, n. 4, p. 358–381, 2011.
- 42 E. WJ.:**  
*Chapter 29. Computational models for ADME.*  
Annu Rep Med Chem, 2007, p. 449–467.
- 43 I. V. F. J. B. N. K.-B. R. K. M. C. N. I. F. T. Iwona E. Weidlich.:**  
*Inhibitors for the hepatitis C virus RNA polymerase explored by SAR with advanced machine learning methods.*  
Bioorganic & Medicinal Chemistry, vol. 21, n. 11, pp. 3127–3137, 1 06 2013.



# In silico techniques for drug design

Ferdinando Spagnolo \*

## Introduction

The first computers were built in the 40s for the description of atomic and molecular systems in the field of the military. In the last two decades of the twentieth century computational techniques have reached full maturity in the application of chemical systems, physical, biological and chemical-pharmaceutical. In recent years Information Technology (IT) supported the traditional techniques used in the laboratory and in the design of new drugs, both in the discovery or optimization of existing ones. Among the successes of drugs designed with the aid of in silico techniques, we can cite the Norfloxacin (1), forefather of the fluoroquinolones, designed in the 80s, one of the most important families of antibacterials that sees, among others, Ciprofloxacin one of the most important derivatives. Few years later, in 1994, was designed to Indinavir, inhibitor of a key enzyme for the vitality of the acquired immunodeficiency virus type I (HIV-I), represented with its receptor, HIV-1 polymerase, (**Fig. 2** - 3D visualization of the structures HSG1.pdb and indinavir. HSG1 is the three-dimensional model of HIV-1 polymerase. In the figure, the dimer is shown in blue cartoon, chain A, and green, chain B. The active site of the enzyme is placed at the interface of the dimer. In this model, the indinavir is positioned in the active site irreversibly

*inhibiting the dimer. Picture F. Spagnolo.); in 1997 a derivative of the second generation, Nelfinavir (1997) (2), was designed using docking, one of the most futuristic computational techniques of the time. By now, in the scenario of medicinal chemistry, there is no example of drug, developed or under development, which has not been influenced by at least one computational methodology. The cost rationalization and optimization of the process of development that characterize the chemical-pharmaceutical and computational techniques, certainly offer valuable contributions to the development of orphan drugs or those drugs useful for the treatment of diseases that are very rare, given the low impact statement, are not central to the interests of research and development in the pharmaceutical industry. The performance of modern computers and accessibility of computing resources have allowed, among other things, to start non-profit projects on an international scale for the development of new drugs against malaria, tuberculosis, leishmaniasis and AIDS (eg. fight AIDS project @ home (3) and GO Fight Against Malaria (4) ...). The main limitations of computational aided drug design (CADD) reside in the inherent difficulty of developing mathematical models to represent sufficiently complete in its entirety complex biological systems at the base of cell physiology.*

## The rational drug design

The discovery and development of new drugs is an intense interdisciplinary effort. Generally, the discovery of new drugs is depicted as a linear process, in succession, beginning with the discovery of the biological target and the lead compound (molecule with a specific coarse biological activity and which can be further modified in order to modulate the biological effects). The optimization of the lead proceeds until the pre-clinical phase, in vitro and in vivo, to determine whether the compounds elaborated meet a series of pre-set criteria for the initiation of clinical development. The need for optimization of resources for the development of a new drug is implicit when analyzing the cost, time, and the demand for curative drug for a specific disease. In fact, the number of years to bring a drug from discovery to market takes about 12-14 years and have an approximate cost of between \$ 1.2 and \$ 1.4 billion. (5) dollars (**Fig. 3** - Phases of the development of a new drug compounds. Out of 5,000 drug candidates, on average, only one is released in the market. The usefulness of the drug design can already be seen in the preliminary study of lead candidate compounds so that only a fraction of the hundreds of thousands of compounds are proposed to be short, then continues giving analytical tools for the analysis of the results of preclinical testing and, nowadays also trials).

\* Cpt. (pharm.) Army Health and Veterinary Center of Study and Research, Roma. PhD. in Biomedical and Biotechnology – Bioinformatics – University of Udine.

Traditionally, drugs were discovered by synthesizing compounds in multi-step processes where the active compounds were tested on selected biological systems, first in vitro, then in vivo, to further select the most promising lead candidates for their pharmacokinetic properties, metabolism and potential toxicity. Such a development process is characterized by high rates of failures attributable to poor pharmacokinetics, lack of efficacy, animal toxicity, side effects in humans and various commercial factors. Today, the process of drug discovery has been revolutionized with the advent of genomics, proteomics, bioinformatics and high-efficiency technologies such as, combinatorial chemistry, high throughput screening (HTS), virtual screening, de novo design, ADMET (Absorption, Distribution, Metabolism, Elimination, Transformation) in vitro and in silico screening. Virtual methods can help to identify the targets of the active principle over that describe the physical-chemical properties. The tools common to all computational methods are management systems (database optimized), high-performance scientific computing (High Performance Computing - HPC) and the Internet. Access to an unimaginable amount of information and the processing of complex biological data in a mathematical form allows the discovery of new drugs. The use of complementary experimental techniques to information increases the likelihood of success in many stages of the drug discovery process, from the identification of new receptors, and elucidation regarding their functions, to the discovery and development of leads with the desired properties. The main roles of scientific computing in the discovery of an active compound are:

- 1 Virtual Screening and de novo design;
- 2 In silico ADME / T prevision;
- 3 Characterization of receptor / ligand interaction.

With this in mind, one of the key principles for the modern computational drug design, remains, in any case, the key-lock model (6), then developed as a model of adaptation induced (7). Molecular biology, in the era of proteomics, has provided tens of thousands of structures (locks) by crystallographic and microscopic techniques that, with the introduction of the methods NMR and bioinformatics tools allowed the identification and analysis of active sites, proposing any conformers, suggesting potential pharmacologically active ligands (keys). The resolved structure of a ligand-receptor complex provides a detailed view of the interactions between the ligand and the receptor. The detailed study of a compound with drug-like characteristics allows to propose structural changes are able to modulate the formation of the ligand-receptor complex consists of modifying the ADME.

A drug-like compound (or drug-gable) contains functional groups and / or possesses chemical and physical properties in line with most of the known drugs. Lead structures, therefore, are ligands that typically have a binding affinity than the desired sub-optimal. Generally a lead compound, than the drug generated by this, presents a low structural complexity, low molecular weight, few rings and rotatable bonds, low hydrophobicity (expressed as logP and logd), finally has low polarizability. From a practical point of view, in order to consider the further development of the process of optimizing the bioavailability and

safety, the lead compounds should possess the following properties:

- 1 Chemical characterization relatively simple (optimization by means of combinatorial chemistry);
  - 2 Well known RSA class;
  - 3 Favorable patent situation;
- Good ADME.

**Figure 4** (*Stages of drug discovery and structural relationship of information technology*) and **Figure 5** (*Attività connesse con il drug design*) show the methods of computational procedures CADD.

## Historical examples

Zanamivir and HIV protease inhibitors are a couple of examples of CADD classes.

### *Zanamivir*

Zanamivir (8) was developed as part of an international collaboration. In 1983, the three dimensional structure of the enzyme neuraminidase was resolved by X-ray crystallography, pdb structures 1NNA and 1NNB (9) represented in **figure 6** (*Neuraminidase acid 2-deoxy 2,3-dehydro-N-acetyl neuraminic acid. complex. Image F. Spagnolo*). As we know, the neuraminidase is a potential target against influenza virus where it represents a critical point in the life cycle of the virus. During the replication within the host cell, this enzyme allows virions to escape from the cell by breaking the bond between the viral hemagglutinin and sialic acid on the surface of the host cell. It was later discovered that the active site of the enzyme is highly conserved in all strains, human and animal, while the scaffold presents macroscopic structural differences. Since it was already known a synthetic



inhibitor of neuraminidase, an analogue of sialic acid, and the three-dimensional structure of its complex with the neuraminidase was resolved, the researchers were able to draw in silico a lead that following CADD allowed the realization of a first potential inhibitor guanidino similar that, although hardly synthesized, it had a very favorable kinetics of complexation (inhibition to nano molar concentrations, the synthesis described in **figure 7 - Zanamivir synthetic path (1)**). The Zanamivir was patented in 1990 by GlaxoSmithKline Inc. and licensed to trade by the FDA in 1999. Then, by similar methods, another major pharmaceutical Roche, patented oseltamivir (10), another important neuraminidase inhibitor.

#### *HIV protease inhibitors (2)*

In analogy with what it was said for zanamivir and oseltamivir, the development of HIV protease inhibitors began during the late '80s. Ritonavir (Norvir) is one of the first examples in which it was applied genomics for drug design. When it was published the genome sequence of HIV in the mid 80s, were identified indicative of specific nucleotide sequences coding for enzymes protease. Kempf et. Al subsequently discovered that the protease is a dimer composed of two monomers perfectly identical holding at the interface the active site - relevant detail revealed in silico before the three-dimensional structure was solved - with C2. With these data, Kempf created a computational model of the active site and drew potential protease inhibitors in silico. Starting from a known substrate was easily generated a new family of compounds with a marked inhibitory activity. The joint use of three-dimensional structures of

HIV protease gradually resolved, and graphics, inhibitors of HIV protease were virtually optimized eventually in terms of bioavailability. The first compound with adequate oral bioavailability is ritonavir (1991), approved by the FDA in record time (72 days, year 1996). The time required for the development of this class of drugs was approximately half of that required for development with classical methodologies - 8 years -. Other inhibitors saquinavir and nelfinavir are made in the same years. The HIV protease inhibitors are a landmark step in the revolution of drug design and anti-HIV therapy.

From zanamivir the methods used for drug design have evolved in two basic directions: Virtual Screening the first, fragment based design the second. The philosophies behind the two methodologies are below presented.

#### *Virtual screening*

The procedures of virtual screening require a 3D model of the receptor on which design a drug. The 3D models can be structures solved experimentally (X-ray crystallography, NMR, microscopy...) or virtual (homology modeling). The philosophy of the virtual screening is based on the affinity between ligand and receptor on a library of potentially active molecules. Therefore each ligand interacts with the receptor and virtually the computer determines a score for this interaction taking into account the geometric parameters and electrostatic. Although it must necessarily resort to scores "approximate", nowadays it is possible to describe complex systems, also thanks to the use of models quantomechanical.

#### *Computational procedures of experimentally known receptors*

Molecular docking is the preferable method to study ligand-receptor interaction when the structure of the latter is known. Docking is a calculation algorithm that indicates how a ligand interacts with a receptor and produces an estimate of the intensity of binding. In a docking algorithm are pursued two main objectives, the first, the prediction of the poses of the ligand (conformation of the structure and topology of interaction), the second, a classification of ligand-receptor interaction. While the first objective has robust solutions, the second has limitations associated with the type of approximations made in the search of the optimal solution for the description of the specific system. In addition, docking allows to also take into account mutual induction of ligand-receptor interaction, in fact, almost all of the programs allow you to take into account the flexibility of the amino acids present in the active sites. To treat the flexibility of the ligand and the active site three major classes of algorithms were developed: systematic methods (are systematically considered all the conformations of the system under consideration), stochastic (Monte Carlo methods, genetic algorithms) and simulations (molecular dynamics and minimization energy). There are dozens of programs for docking (11, 12, 13, 14, 15, 16). The methods to calculate the ligand-receptor are, however, subject to compromise to optimize speed and accuracy of calculation by computing approximations or gimmicks. In fact, if we assumed that the estimation of the affinity of binding between a ligand and a receptor would serve a day, test a billion compounds on the same

receptor would require years. Among the tricks developed in 2000, Arthur J. Olson, PhD, professor of molecular biology and director of the laboratory of molecular graphics of “The Scripps Research Institute”, started the project *fightaids @ Home* using a computing system matrix via the Internet for Virtual Screening remotely on personal computers of volunteers. The project can be summarized as follows: 500,000 volunteers settled a kind of screen saver that is activated, and threw calculations of Auto Dock, in times of standby pc, in six months, more than 2,000 of the ligands were tested on hundreds of protein structures of HIV, a few dozen are at an advanced stage of study. In addition to the enormous savings of computational resources, this project was pioneering with regard to the statistical data collected that were used to identify sub-classes of mutant proteins, it was possible to define the common characteristics that need to possess not only retroviral inhibitors but also inhibitors of the cytokine receptor (anti-cancer) or direct antibiotics to the ribosome. The candidate compounds for testing in the laboratory have passed under review by an operator who selects them and study them further through simulations of the dynamics of the ligand / receptor complex.

#### *Computational procedures for virtual receptors*

##### *QSAR*

In the case where the structure of the receptor is not known, computational methods are defined as ligand-based and proceed in evaluating the overlap of a series of ligands with known activity against the target and comparing their structural and chemical features. One of the most common

model for ligand-based is pharmacophore where is the characteristic functional groups (e.g. hydrogen bond donor, electrostatic ...) are used to generate a footprint to select virtually other similar compounds. In this case, it refers to a model-key lock adapted to search for a true three-dimensional footprint and a pseudo complementary to the site of interaction with the receptor. Indeed, the surfaces of ligand and receptor behave as the cast and its mold, with more in the electrostatic interaction. It follows that an active substance may also bind different receptors with different activities. The generation of a ligand-based pharmacophore model occurs in two stages, first is conformational space sampling of each ligand, secondly ligands are aligned in various conformations to define which chemical characteristics are common and essential. There are two types of pharmacophoric models: in the first type the three-dimensional quantitative structure-activity relationship (3D-QSAR) takes into account the experimental data of structure-activity relationship of a set of very large molecules (not necessarily of demonstrated biological activity), in the second type a selection of the active compounds are considered. With pharmacophoric models is possible to determine qualitatively the powers of the tested compounds. The key points for the pharmacophore modeling is the definition and positioning of the pharmacophoric descriptors and alignment techniques used by the algorithm. QSAR models are more efficient in terms of execution time of the calculation, therefore, are preferable when the problem of the researcher is represented by a very large database. The results obtained generally consist of a clustering of potential ligands new and diffe-

rent type of chemistry, this allows the medicinal chemist to include a new chemical space in the research phase. A three-dimensional pharmacophore model can be proposed also considering the structure of the receptor. In this case, the shape and the volume of the receptor are studied considering “mould” in the negative for the development of the respective ligand. The 3D QSAR therefore allows to perform a first selection among millions of compounds which are more easily predictable the physical-chemical properties, which allows to propose a ADMET profile. A practical example on the significance of the QSAR modeling approaches is the identification of a new class of histone deacetylase inhibitors dell'iston-between 9.5 million molecules in the ZINC database, World Drug Index, libraries Synergy ASINEX, and other commercial databases (17, 18, 19, 20).

#### *Homology modeling*

When it is not available a resolved receptor, but it is known the amino acid sequence - or nucleotide of the gene encoding - the homology modeling (also known as comparative modeling) is a useful approach to explain experimental data and to develop hypotheses or make Structure-Based Drug Design (SBDD). In homology modelling procedures a model is built at atomic resolution of the target protein starting from amino acid sequences homologous related experimental notes that are used as a mould (21, 22, 23). The principle is based on the concept that similar sequences are likely descended from a common ancestor (a family of proteins), and therefore have similar amino acid sequences and 3D structures. Because the experimental determination of protein structure is still a difficult and



expensive process, homology modelling methods adequately provide reliable models quickly. Typically, the homology modelling of proteins comprises the following four steps: identification of one or more notes experimental structures of a related protein that can serve as a model, alignment of the sequences proteins and target moulding, construction of the model for the target, and finally the refining / validation / evaluation of the models obtained (21) (22) (23). Human intervention is generally necessary to verify the presence of errors that may have been introduced in the course of the alignment of the sequence or the robustness of the models. FASTA (24) and BLAST (25) are bioinformatics tools to locate the templates for homology modelling, more advanced tools include PSI-BLAST (26) and FFAs (27). The quality of a model obtained by homology is generally correlated with the reference structure and the alignment procedure. When gaps are present between the reference structure and the model, homology modelling may be subject to errors, in addition, the quality of the model, tends to decrease if the resolution of the model protein is poor, however, since the region functional protein, such as the active site, is highly conserved, the patterns obtained for homology are significantly representative of the receptor studied (28). A reasonable model counterpart can be quantified, for example, by a Ramachandran plot, which displays the distribution of bond angles of the protein backbone and the distribution of hydrophilic and lipophilic amino acid residues. To assess the relative quality of the model there are numerous experiments on large-scale benchmarking of protein structure prediction (CASP) (29). A model obtained by homology can be used for

the evaluation of druggability and mutagenesis experiments, but must be applied with caution for drug development (30, 31, 32).

### **Fragment based drug design**

The philosophy of this approach to drug design is inspired by the famous bricks “Lego”. In a laboratory, it is normal that the researchers create their own libraries of compounds or fragments that represent functional units, which can easily be assembled together. For each compound in the library are collected experimental data obtained according to various methodologies (high throughput crystallography, NMR or mass spectrophotometry) to describe the 3D conformation of the structure considered. Subsequently, with the aid of computational techniques, the fragments are turned into powerful drugs following the addition of functional groups or small modifications. This approach takes full performance by coupling the techniques of combinatorial chemistry. The most obvious advantage lies in the simplification of the complex system that allows the systematic exploration of the chemical space with a limited number of fragments (eg the exploration of 10 fragments in the three dimensions x, y, z, allows to explore 1,000 possible combinations). One of the pioneers of the methods is Fragment Based Sir. Tom Blundell professor of biochemistry at the University of Cambridge. In 1999 he began a systematic study for the evaluation of new inhibitors of kinases in cancer. The combination of the X-ray crystallography high efficiency and computational techniques, enabled the discovery of another new drug: the imatinib (33) an inhibitor of the BCR-ABL kinase permanently activated and involved in chronic myelogenous leukemia. Since about 20%

of patients are resistant to the drug, researchers at the SGX cloned, expressed, purified and crystallized a protein resistant to imatinib. The screening of fragments of their library against this structure allowed the identification of a first lead active already at micro molar concentrations and, after only three months, by successive changes suggested computational analysis, it was isolated a compound capable of inhibiting the BCR-AB at nano molar concentrations.

### **Objectives “complicated”**

When ligand and receptor are placed in a biological environment more complete, like may be the phospholipid bilayer of the cell membranes, the degree of complexity increases enormously as one cannot consider only the active site of the receptor, but it must also simulate any interactions not only with the membrane itself, but also with other proteins. In addition to the computational difficulty of the problem, it adds the complication of the experimental resolution of the receptor structures. A significant challenge of the research is the proportion of the drugs on the market that target G protein-coupled receptors: 1 out of 4!

### **Conversion of chemical compounds into drugs**

The compounds that have been identified by computational methods as possible active compounds are far from being considered drugs. A chemical compound to be considered drug must be bioavailable and safely. Just these two drift the formulation of the final



chemical structure and, therefore, much has been done to evaluate *in silico* the bioavailability and availability. The mathematical models for the prediction of these requirements are now mature enough and can simulate with a good approximation of the biological effects of a compound in the body. Compared with the famous Lipinsky rule of 5 to describe the minimum physical-chemical characteristics of a drug, computers today are able to provide sufficiently stringent indicators to determine the *in silico* ADME, the dose absorbed by the body, the distribution organs, metabolism and excretion of a molecule. With enough computing power, scientists can also test virtually a candidate compound to become drug on the whole set of resolved structures and, by homology modelling methods, virtual receptors can be tested to get an indication for phenomena like membrane crossing, receptor interaction, activity on the target. In these terms, it seems that the computer has now replaced radically the laboratory bench. The medicinal chemist continues to be indispensable for the value added of intuition, or chemical sense, which distinguishes it from a computer.

## Virtual instrument procedures for CADD

### Chemical database

The amount of information generated by the meta-omics has necessitated the standardization and rationalization of the data held by the scientific community, including industry. These databases collect sets of structures, such as screening of samples of commercially available compounds and provide additional data such as the bioactivity of leads and their protein targets. Maintaining these

collections is possible thanks to the creation of software chemoinformatics use the accuracy of the information (34).

### Molecular dynamics

Molecular dynamics is very useful to understand the behaviour of proteins or other biological macromolecules. Thanks to the enormous increase in computing power and improved algorithms, molecular dynamics methods can simulate the complex systems of large size even in explicit solvent environments (35). Despite the extensive use of molecular dynamics simulations in drug development, a molecular dynamics simulation can be difficult: there are often no suitable parameters for the calculations, such as in the case of organometallic compounds. Finally, given the time required by the simulations, it is not possible to carry out systematic calculations on large databases, therefore, molecular dynamics can refine the results already achieved by other methods described above.

### Quantum mechanics programs

The above-described approaches are characterized by the necessary approximations for the description of systems according to the molecular mechanics. The most important approximation is the description of atoms and molecules as balls and springs governed by the laws of classical mechanics and not as nuclei held together by electron orbitals governed by the laws of quantum mechanics, as they really are. Currently, with the increased performance of computers and the improvement of algorithms and software, biological problems can be tackled by quantum mechanical methods (36) (37) (38). Quantum mechanical methods can be used to model unstable molecules, such as radi-

cals, or to provide estimates of activation energies for chemical reactions, including enzymatic. The typical quantum applications in the design of drugs include: optimization of ligand and receptor-ligand complexes (39), construction of QSAR models.

### Calculation of ADMET programs

The programs for calculation of ADME are very important in the development of a new drug in order to reduce the failure occurring in advanced stage and minimize costs (40) (41). Numerous ADMET properties are interdependent, so it is necessary to optimize simultaneously during the development of a drug. The multiparametric ADMET optimization is probably the phase less attractive but can make the difference between success and failure. Many programs use statistical models to calculate ADMET descriptors. The quality of models depends greatly on the right combination of statistical techniques, molecular descriptors, method validation, and especially for the quality and range of the experimental data used to derive them (42).

### Molecular visualization

Ligands and receptors can be displayed and analyzed by modeling software. The generation of high-quality images or animations for presentations and publications purposes, the five widely used programs are Chimera, Jmol, PyMOL, VMD and SwissPdb-Viewer. The use of these software is not limited to molecular visualization as they are highly extensible for the analysis of molecular structures and related data, including electron densities maps, supra-molecular assemblies, sequence alignments, docking and molecular dynamics analysis.



## Conclusions

The productivity of the pharmaceutical industry has declined greatly in the last ten years. Although this is probably due to many factors, in particular, the safety standards and the enormous time and cost of clinical trials. The obvious question that we can ask is related to the true contribution of computational drug design, since its costs, however, are not trivial, and no program is reliable

for all systems studied (the use of methods of docking has been winning for the design of HIV protease inhibitors but disappointing in other areas). It is certain that the use of Computer Aided Drug Design has had a huge impact in the pharmaceutical chemical species for the ability to virtualize and sometimes predict, biological phenomena are difficult to reproduce in the laboratory. An example of this series of emerging agents for hepatitis C. The hepatitis C

virus was discovered in 1989 and is characterized by a difficult cultivation, in addition, the structural information of molecular targets (HCV polymerase and protease) were resolved much later (mid-90s). Due to computational techniques in a short time, the RNA polymerase (43) has been identified as the ideal target for the development of new inhibitors, to the point of becoming itself a model to test the algorithms and the most advanced computer architectures.

---

# Gestione del paziente con versamento pleurico maligno: toracentesi, drenaggio pleurico esterno con catetere di piccolo calibro e pleurodesi chimica. Caso clinico

Management of a patient with malignant pleural effusion: thoracentesis, external drainage with a small diameter catheter and chemical pleurodesis. A case report

Rocco Enzo Castracane\*

Giuseppe Ferrentino°

Riccardo Suriano •



**Riassunto** - Il versamento pleurico maligno è indice di malattia neoplastica polmonare avanzata e costituisce la maggiore indicazione all'effettuazione della pleurodesi chimica.

Si descrive la gestione di un paziente affetto da microcitoma polmonare con versamento pleurico trattato con toracentesi, posizionamento di drenaggio pleurico di catetere venoso di piccolo calibro e pleurodesi chimica con metilprednisolone acetato.

Questa metodica che viene indirizzata ad un paziente con malattia neoplastica avanzata ancora suscettibile di trattamenti specifici o nell'ambito della palliazione dei sintomi, dimostra un vantaggio in termini di miglioramento della qualità di vita e riduzione dei rischi connessi ad eventuali procedure maggiormente invasive.

**Parole chiave:** versamento pleurico maligno, pleurodesi chimica.

**Summary** - Malignant pleural effusion is a sign of advanced lung cancer and is the largest indication in performing a chemical pleurodesis procedure.

In this case report we describe the management of a patient with small cell lung cancer with pleural effusion treated with thoracentesis, insertion of a small diameter catheter through the chest wall and performance of chemical pleurodesis with methylprednisolone acetate.

In our opinion this method is indicated in patients with advanced neoplastic disease still susceptible to treatment or as part of palliation of symptoms. In the case reported it demonstrates an advantage in terms of improving quality of life and reducing the risks associated with more invasive procedures.

**Key words:** malignant pleural effusion, chemical pleurodesis.

\* Col. Co. Sa. me, Capo Reparto Oncologia Medica – Policlinico Militare di Roma

° Cap. Co. Sa. me, Assistente di Reparto Oncologia Medica – Policlinico Militare di Roma

• C.M.C.S. Infermiere Professionale, Reparto Oncologia Medica – Policlinico Militare di Roma

## Introduzione

Il versamento pleurico è definito come l'accumulo di liquido all'interno della cavità pleurica causato da patologia polmonare, pleurica o extrapolmonare. La presenza di versamento pleurico nei pazienti affetti da neoplasia polmonare in genere è indice di malattia avanzata o diffusa e come tale può ridurre i margini di trattamento e l'aspettativa di vita (1).

Il versamento pleurico maligno costituisce la maggiore indicazione all'effettuazione della pleurodesi chimica (2).

In letteratura scientifica sono descritte diverse tecniche per la corretta gestione del versamento pleurico maligno. Tra queste, presso il Nostro Reparto si è scelto di trattare tale patologia mediante toracentesi, posizionamento di drenaggio pleurico di piccolo calibro utilizzando un catetere venoso (tipo PICC prodotto dalla ditta COOK) e successiva pleurodesi chimica mediante instillazione di agente sclerosante attraverso il catetere di drenaggio.

## Caso clinico

Uomo di 58 anni giunto alla nostra osservazione nell'ottobre 2013 con diagnosi istologicamente confermata di microcitoma polmonare destro, già trattato con chemioterapia di 1<sup>a</sup> linea e radioterapia locale. L'anamnesi patologica remota era significativa per diabete mellito tipo II ed ipertensione arteriosa. Il paziente, pur in condizioni generali discrete, presentava dispnea anche per sforzi di lieve entità da circa una settimana con livelli di saturazione dell'ossigeno di circa 90%, ECOG Performance

Status = 1 ed esami ematochimici di routine nei limiti della norma.

Una radiografia del torace mostrava un massivo versamento pleurico destro (**Fig. 1**), per cui si decideva, in previsione di un'ulteriore linea di chemioterapia, di effettuare una toracentesi evacuativa con contestuale posizionamento di drenaggio pleurico con catetere venoso di piccolo calibro.

Previa acquisizione di consenso informato ed in anestesia locale ottenuta mediante Mepivacaina 2%, si è proceduto all'effettuazione di toracentesi con evacuazione di 2500 ml di liquido sierematico in modo lento e controllato per ridurre al minimo i possibili rischi per il paziente ed in particolare l'edema



**Fig. 1** - Versamento pleurico massivo destro.

polmonare da riespansione (3); al termine della procedura, seguendo la tecnica di Seldinger, è stato posizionato un drenaggio pleurico utilizzando un catetere venoso tipo PICC calibro 4 F (**Fig. 2**). Terminata la procedura ed effet-



**Fig. 2** - Posizionamento del drenaggio pleurico mediante catetere venoso tipo PICC calibro 4 F.

tuata la medicazione, il paziente è stato inviato a controllo radiografico del torace che evidenziava una diminuzione del versamento (**Fig. 3**). In seconda giornata il paziente veniva sottoposto ad evacuazione di ulteriori 750 ml di liquido pleurico sieroso-ematico. Nei giorni successivi abbiamo effettuato ulteriori toracentesi evacuative fino alla quasi completa scomparsa liquido pleurico. Successivamente abbiamo sottoposto il paziente ad instillazione intrapleurica di metilprednisolone acetato a dosaggio crescente (80 mg giorno 1 – 160 mg giorno 2 -180 mg giorno 3) in modo da ottenere una pleurodesi chimica (4). Dopo ciascuna instillazione il paziente veniva invitato a mantenere la posizione supina ed a effettuare variazioni della posizione per favorire l'uniforme distribuzione del farmaco all'interno della cavità.

In terza e quarta e giornata dopo l'instillazione del farmaco, venivano aspirati rispettivamente 250 e 120 ml di liquido pleurico sieroso-ematico. In quinta giornata venivano aspirati 480 ml di liquido pleurico di colore più chiaro rispetto a i giorni precedenti ed il paziente veniva inviato a controllo radiografico del torace che mostrava ulteriore miglioramento del quadro polmonare (**Fig. 4**).

In sesta giornata è stato previsto riposo per il paziente. In settima ed ottava giornata venivano aspirati rispettivamente 200 e 110 ml di liquido sieroso-ematico di colore più chiaro rispetto alle precedenti evacuazioni; l'ultima somministrazione di metilprednisolone acetato 80 mg veniva quindi effettuata in ottava giornata.

Il catetere pleurico veniva rimosso in nona giornata dopo aver constatato l'assenza di aspirazione di liquido pleurico; per tutta la permanenza del catetere in sede è stata somministrata al paziente terapia antibiotica.



**Fig. 3** - Riduzione del versamento pleurico destro dopo toracentesi e posizionamento del drenaggio pleurico.



**Fig. 4** - Il controllo radiografico del torace in quinta giornata mostra ulteriore miglioramento del quadro polmonare.

Durante il ricovero si è assistito al miglioramento sia della sintomatologia dispnoica del paziente sia delle sue condizioni generali, ciò ha consentito di riprendere la terapia specifica con chemioterapia di seconda linea per microcitoma polmonare.

Al termine della seduta di chemioterapia il paziente è stato inviato al proprio domicilio in buone condizioni generali e con un PS ECOG di 1.

## Discussione

La gestione del paziente affetto da versamento pleurico maligno può prevedere più sedute di toracentesi evacuative in quanto, come riportato

in letteratura, il tempo mediano alla recidiva è di circa 4,2 giorni dalla procedura (5). Per tale motivo, in pazienti in fase di malattia molto avanzata e non più suscettibile di trattamento specifico, l'evacuazione del versamento mediante toracentesi risulta generalmente in un beneficio sintomatico temporaneo. In tutte le altre condizioni, l'opzione di scelta è la pleurodesi (3).

L'efficacia della pleurodesi chimica è dovuta ad una diffusa reazione infiammatoria ed una attivazione locale della cascata coagulativa con deposito di fibrina e successiva sclerosi della pleura parietale e della pleura viscerale (6).

Nel nostro caso, la scelta del metilprednisolone acetato come agente sclerosante è stata determinata sulla base dei seguenti fattori: percentuali di efficacia nel trattamento, sicurezza (effetti collaterali minimi o nulli), facilità di somministrazione, numero di somministrazioni necessarie per ottenere una risposta completa, costo del farmaco (7).

Una volta ottenuta la conferma radiografica dell'avvenuto drenaggio di liquido pleurico e della riespansione polmonare la pleurodesi chimica non deve essere ritardata; infatti il requisito più importante per una pleurodesi efficace è rappresentato dal contatto reciproco quanto più ampio possibile tra i due foglietti della pleura parietale e viscerale (3).

La presenza di una riespansione polmonare incompleta, conseguente a spesse cotenne a carico della pleura viscerale ("polmone incarcerato"), ostruzione delle vie aeree prossimali o perdite aeree persistenti, non rappresenta una controindicazione all'effettuazione della pleurodesi soprattutto nei pazienti non candidabili alla chirurgia (8).

Le tecniche maggiormente utilizzate per ottenere una sinfisi pleurica prevedono il posizionamento e la presenza di un tubo di drenaggio toracico seguita da pleurodesi chimica con l'istillazione di vari agenti come talco, bleomicina, chinacrina, doxorubicina con risultati soddisfacenti (9, 10, 11). Tuttavia non tutti i pazienti sono candidabili a questo tipo di approccio (11, 12). Metodiche più invasive comprendono la toracosopia e la video-toracosopia con abrasione meccanica della pleura e/o sclerosi chimica (13, 14, 15, 16).

Sebbene le suddette tecniche possano raggiungere la pleurodesi con elevate percentuali di successo, le stesse possono essere gravate da una significativa morbilità, ricoveri ed ospedalizzazione prolungati, limitata mobilità a causa della presenza del tubo di drenaggio, dolore ed infiammazione nella sede di impianto del tubo di drenaggio.

Poiché molti pazienti con versamento pleurico maligno hanno già sperimentato effetti collaterali da chemio o radioterapia, sarebbe ideale per questi pazienti ridurre al minimo l'ospedalizzazione ed il disagio di doversi sottoporre a procedure ripetute o gravate da una certa percentuale di morbilità (17, 18).

Sono stati anche realizzati modelli di studio per valutare il modo migliore per ottenere una pleurodesi chimica confrontando il rapporto costo beneficio di un drenaggio toracostomico e pleurodesi chimica verso il talcaggio chirurgico, valutandone l'efficacia mediante i giorni in assenza di sintomatologia. La prima metodica risulta più conveniente rispetto alla seconda, dove l'impiego della sala operatoria ha rappresentato, oltretutto, un costo aggiuntivo non trascurabile (3, 19).

L'utilizzo di cateteri di piccolo calibro nel trattamento palliativo del versamento pleurico maligno è sostenuto in diversi case report ed è stato dimostrato che a parità di efficacia rispetto ai tubi toracici, esso è gravato da minor dolore, minor ospedalizzazione e costo ridotto (19, 20, 21, 22, 23).

Applicando quanto detto alla nostra pratica clinica, l'utilizzo di un catetere pleurico di piccolo calibro evita al paziente di sottoporsi a frequenti toracentesi riducendo il rischio di complicanze dovute alle ripetute procedure facilitando allo stesso tempo la pleurodesi chimica (18).

Al paziente viene ridotto il disagio sia durante il posizionamento del catetere che durante la permanenza in situ del catetere stesso, inoltre non viene ostacolato il nursing e l'eventuale fisioterapia (18).

Con l'utilizzo di questa tecnica il paziente trae beneficio in termini di qualità di vita percependo come risolta la sintomatologia dispnoica legata alla presenza di versamento, senza essere stato sottoposto ad un atto chirurgico, restando per tutto il periodo necessario al completamento della procedura nella propria stanza di ricovero, senza limitazioni alla mobilizzazione grazie al minimo ingombro del catetere.

Nel nostro caso la risoluzione del quadro polmonare ha permesso oltretutto la prosecuzione del trattamento specifico aumentando il tempo libero da sintomatologia e l'aspettativa di vita del paziente.

La richiesta di assistenza infermieristica risulta essere minima in quanto il sito di posizionamento del catetere è piccolo e non associato a perdite di liquido pleurico, quindi una volta medicato non necessita di costanti controlli da parte del personale infermieristico (18).

## Conclusioni

Sulla base di questa nostra esperienza, nell'ambito del trattamento palliativo di una condizione neoplastica comunque incurabile, possiamo affermare che la metodica da noi utilizzata possa rappresentare una valida alternativa a tecniche maggiormente invasive già in uso con un vantaggio per il paziente non solo in termini di rischio correlato alla procedura stessa ma anche in qualità di vita e benessere psicologico.

## Bibliografia

- 1. Chernow B, Sahn SA.:**  
*Carcinomatous involment of pleura.*  
Ann. J. Med. 1977; 63:695-702.
- 2. Heffner JE, Klein JS.:**  
*Recent advances in the diagnosis and management of malignant pleural effusions.*  
Mayo Clin Proc 2008; 83:235.
- 3. Tan C, Sedrakyan A, Browne J, Swift S, Treasure T.:**  
*The evidence on the effectiveness of management for malignant pleural effusion: a systemic review.*  
Eur. J. Cardiothor Surg. 2006;29: 829-838.
- 4. Bartal AH, Gazitt Y, Zidan G, Vermeulen B, Robinson E.:**  
*Clinical and flow cytometry characteristics of malignant pleural effusions in patients after intracavitary administration of methylprednisolone acetate.*  
Cancer. 1991;67:3136-40.
- 5. Anderson CB, Philpott GW, Ferguson TB.:**  
*The treatment of malignant pleural effusions.*  
Cancer 1974;33:916-922.
- 6. Anthony VB.:**  
*Pathogenesis of malignant pleural effusion and talc pleurodesis.*  
Pneumologie 1999; 10:493-498.



- 7. Pisello F, Geraci G, Sciumè C, Platia L, Facella T, Romeo M, Modica G.:**  
*Toracentesi e pleurodesi nel trattamento dei versamenti pleurici. Esperienza personale.*  
G Chir 2008; 29: 299-304.
- 8. Show p, Agarwall R.:**  
*Pleurodesis for malignant pleural effusions.*  
Cochrane Database of Systematic Reviews 2004;1: CD002916.
- 9. Hausheer FH, Yarbrow JW:**  
*Diagnosis and management of malignant pleural effusion.*  
Semin Oncol 1985; 12: 54-75.
- 10. Ruckdeschel JC:**  
*Management of malignant pleural effusions.*  
Semin Oncol 1995; 22: 58-63.
- 11. Rodriguez-Panadero F, Antony VB:**  
*Pleurodesis: State of the art.*  
Eur Respir J 1997; 10: 1648-1654.
- 12. Sahn SA:**  
*Pleural diseases related to metastatic malignancies.*  
Eur Respir J 1997; 10: 1907-1913.
- 13. Viallat JR, Rey F, Astoul P, et al:**  
*Thoracoscopic talc poudrage pleurodesis for malignant effusions.*  
Chest 1996; 110: 1387-1393.
- 14. Colt HG:**  
*Thoracoscopic management of malignant pleural effusions.*  
Clin Chest Med 1995; 16: 505-518.
- 15. Waller DA, Morrill GN, Forty J:**  
*Video-assisted thoracoscopic pleurectomy in the management of malignant pleural effusion.*  
Chest 1995; 107: 1454-1456.
- 16. Martin N, Bains MS, Beattie EJ:**  
*Indications for pleurectomy in malignant effusion.*  
Cancer 1975; 35: 734-738.
- 17. Musani AI, Haas AR, Seijo L, Wilby M, Sterman DH.**  
*Outpatient Management of Malignant Pleural Effusions with Small-Bore, Tunneled Pleural Catheters.*  
Respiration 2004; 71: 559-566.
- 18. Singh K, Loo S, Bellomo R.:**  
*Pleural drainage using central venous catheters.*  
Critical care 2003; 7: R191-R194.
- 19. Putnam JB, Light RW, Rodriguez RM, et al:**  
*A randomized comparison of indwelling pleural catheter and doxycycline pleurodesis in the management of malignant pleural effusions.*  
Cancer 1999; 86: 1992-1999.
- 20. Ieff RS, Eisenberg B, Baisden CE, et al:**  
*Drainage of recurrent pleural effusion via an implanted port and intrapleural catheter.*  
Ann Intern Med 1986; 104: 208-209.
- 21. Van Le L, Parker LA, DeMars LR, et al:**  
*Pleural effusions: Outpatient management with pigtail catheter chest tubes.*  
Gynecol Oncol 1994;54: 215-217.
- 22. Zeldin DC, Rodriguez RM:**  
*Management of refractory malignant pleural effusions with a chronic indwelling pleural catheter.*  
Chest 1991; 100: 87S.
- 23. Grodzin CJ, Balk RA:**  
*Indwelling small pleural catheter needle thoracentesis in the management of large pleural effusions.*  
Chest 1997; 111: 981-988.



# Management of a patient with malignant pleural effusion: thoracentesis, external drainage with a small diameter catheter and chemical pleurodesis. A case report

Rocco Enzo Castracane\*

Giuseppe Ferrentino°

Riccardo Suriano •

## Introduction

Pleural effusion is defined as the accumulation of fluid within the pleural cavity caused by pleural or extrapulmonary lung disease. The presence of pleural effusion in patients with lung cancer usually is a sign of advanced disease and as such can reduce treatment options and life expectancy (1). Malignant pleural effusion represents the major indication for chemical pleurodesis (2). Scientific literature reports several techniques for a proper management of malignant pleural effusion. Among these our Department has chosen to treat the disease by thoracentesis, placement of pleural drainage using a small-caliber venous catheter (PICC type manufactured by the company COOK) and subsequent chemical pleurodesis by instillation of sclerosing agent through the catheter drainage.

## Case Report

A 58 year old man came to our observation in October 2013 with a histologically confirmed diagnosis of

advanced right lung SCLC already treated with 1st line chemotherapy and local radiotherapy. Past medical history was significant for type II diabetes mellitus and hypertension. The patient complained about dyspnoea even for mild exertion for about a week before presentation, his oxygen saturation levels was about 90 % in room air and had an ECOG performance status of 1. Since routine blood tests were within normal limits and a chest X-ray showed a massive right pleural effusion (**Fig. 1**), we decided to perform a thoracentesis followed by the positioning of a small caliber venous catheter. The intent was to fully drain the pleural fluid and subsequently deliver a further line of chemotherapy.

After obtaining informed consent and with a previous local anesthesia obtained by Mepivacaine 2 %, we proceeded to perform a thoracentesis followed by the evacuation of 2500 ml of blood-stained liquid. The procedure was slow and controlled in order to minimize the possible risks for the patient and in particular a re-expansion pulmonary edema (3). At the end of the procedure, following the Seldinger tech-

nique, a caliber 4 F PICC type venous catheter was placed in the pleural space (**Fig. 2**) and the patient was sent to perform a chest X-ray which showed a substantial decrease of the pleural effusion (**Fig. 3**). On the second day the patient underwent the evacuation of another 750 ml of pleural blood-stained fluid. This procedure was subsequently repeated the following days until an almost complete disappearance of the pleural fluid was obtained. We then subjected the patient to intrapleural instillation of methylprednisolone acetate in increasing doses (80 mg Day 1 - 160 mg -180 mg day 2 day 3) in order to obtain a chemical pleurodesis (4). After each instillation, the patient was told to stay supine in bed and to make changes in the position to promote the uniform distribution of the drug inside the pleural cavity.

In the third and fourth day and after intrapleural instillation of the drug, were extracted 250 and 120 ml of pleural of blood-stained fluid respectively. On the fifth day we extracted 480 ml of pleural fluid of a lighter color than the previous days and the patient underwent a control chest X-ray which showed further impro-

\* Col. Dr. Chief of Medical Oncology Department - Military General Hospital "Celio" - Roma.

° Cpt. Assistant at Medical Oncology Department - Military General Hospital "Celio" - Roma.

• Corporal, Professional Nurse at Medical Oncology Department - Military General Hospital "Celio" - Roma.



vement in the lung (**Fig. 4**). A rest for the patient was scheduled on the sixth day while during the seventh and eighth day we extracted 200 and 110 ml of pleural fluid with no signs of blood stain respectively, The last administration of methylprednisolone acetate 80 mg was carried out in the eighth day.

We removed the pleural catheter on the ninth day as no more pleural fluid was extracted, during this whole period we administered broad spectrum antibiotics. During hospitalization, we assisted to a marked improvement of the patient's dyspnoea and general conditions which led us to the initiation of a second-line chemotherapy for small cell lung cancer. At the end of the session of chemotherapy, the patient was sent home in good general condition and an ECOG PS1.

## Discussion

Management of patients with malignant pleural effusion may contemplate more sessions of evacuative thoracentesis because, as reported in scientific literature, the median time to recurrence is approximately 4.2 between procedures (5). For this reason patients with advanced stage disease and apparently not susceptible to specific treatment, evacuation of pleural fluid by thoracentesis generally results in temporary symptomatic relief. In all other circumstances, the option of choice is the pleurodesis (3). Effectiveness of chemical pleurodesis is due to a widespread inflammatory reaction and a local activation of the coagulation cascade with fibrin deposition and subsequent sclerosis of the parietal pleura and visceral pleura (6). In our case the choice of methylprednisolone acetate as a sclerosing agent has been determined based

on the following considerations: percentage of efficacy, safety (minimal or no side effects), ease of administration, number of doses required to achieve a complete response, cost of the drug (7).

Once radiographic evidence of pleural fluid drainage and lung re-expansion is obtained chemical pleurodesis should not be delayed because the most important requirement for an effective pleurodesis is represented by the widest possible mutual contact between parietal and visceral pleura (3). An incomplete lung re-expansion, as a result of marked fibrosis of the visceral pleura ("imprisoned lung"), obstruction of the airways or persistent loss of viable lung tissue, are not a contraindication for pleurodesis especially in patients who are not candidates for surgery (8).

The most frequently used techniques for obtaining a pleural symphysis is represented by positioning a chest tube drainage followed by chemical pleurodesis with instillation of various agents such as talc, bleomycin, quinacrine, doxorubicin (9, 10, 11). However, not all patients are candidates for this type of approach (11, 12). More invasive procedures include thoracoscopy and video-thoracoscopy with mechanical abrasion of the pleura and/or chemical sclerosis (13, 14, 15, 16). Although these techniques can achieve pleurodesis with a high percentage of success, they can be followed by significant morbidity, prolonged hospitalization, limited mobility due to the presence of the drain tube, pain and inflammation at the site of implantation of the drainage tube. Because many patients with malignant pleural effusion have already experienced side effects from chemo or radiotherapy it would be ideal for these patients to minimize hospitalization and reduce the discomfort of having to

undergo repeated evacuation procedures (17, 18).

Many models have been studied to evaluate the best way of performing a chemical pleurodesis by comparing the cost benefit ratio of a thoracostomic drainage followed by chemical pleurodesis versus surgery followed by talc abrasion evaluating its effectiveness as a result of the number of days with no symptoms. The former method results more convenient than the latter in which the use of surgical facilities represent an additional cost (3, 19). The use of small caliber catheters in the palliative treatment of malignant pleural effusion is supported by several case reports and has equal efficacy compared with chest tubes, is burdened with less pain, fewer hospitalizations and reduced cost (19, 20, 21, 22, 23).

Applying the foregoing to our clinical practice, the use of a small caliber pleural catheter is followed by less frequent thoracentesis reducing the risk of complications due to repeated procedures while facilitating chemical pleurodesis (18). Patient discomfort is markedly reduced during the placement of a small caliber catheter and in the subsequent days, in which the catheter is in place, physiotherapy and nursing are also not hindered (18). The use of this technique is followed by a resolution of symptomatic dyspnoea thus achieving a better quality of life without the necessity of a surgical procedure; during the entire period required to complete the procedure the patient remains in his own room and is not limited in daily activities thanks to the small caliber of the catheter.

In the case discussed in this paper resolution of pleural effusion has allowed continuation of treatment achieving a prolonged period of comfort, increased leisure time and life expectancy. The



demand for nursing care appears to be minimal because the site of catheter placement is small and is not associated with loss of pleural fluid, so once medicated it does not require constant monitoring by the nursing staff (18).

### **Conclusion**

Based on our experience, in the setting of palliative treatment of advanced neoplastic condition, we believe that the method presented in this

paper may represent a viable alternative to other more invasive techniques. It's use has a clear advantage for the patient not only in terms of risk related to the procedure itself, but also in quality of life and psychological well-being.

---

# Utilizzo della NPWT in ferite da arma da fuoco e perdite di sostanza da ordigno esplosivo

Use of NPWT in combat wounds and loss of substance by explosive device

Massimo Campioni \*



**Riassunto** - L'Autore dopo una breve spiegazione sul significato ed i compiti della Vulnoterapia, riporta quella che è l'esperienza del Servizio da lui diretto nella gestione e nel trattamento di feriti provenienti dai vari Teatri Operativi, mediante l'utilizzo della NPWT.

**Parole chiave:** NPWT, perdita di sostanza, ferite da arma da fuoco, ferite da ordigno esplosivo.

**Summary** - After a short explanation of the vulno-therapy meaning, the Author talks about his experience at the Department that he managed. He also talks about the treatment - through the NPWT employment - of injured coming from various operational areas.

**Key words:** NPWT, loss of substance, firearms injuries, explosive device injuries.

\* Ten. Col. me. - Capo Servizio Vulnoterapia - Policlinico Militare "Celio" - Roma.

## Introduzione

La Vulnoterapia è la branca della medicina che cura le ferite “difficili” e le lesioni tegumentarie complesse.

Il servizio di Vulnoterapia del Policlinico Militare di Roma “Celio”, nasce dall’esigenza della Forza Armata di fornire le cure più appropriate ai militari feriti provenienti dalle missioni svolte nei vari Teatri Operativi.

Il Servizio è quindi altamente specializzato nel trattamento delle ferite complesse, acute o croniche, di difficile guarigione. Sulla scorta dell’esperienza maturata, la nostra opera viene svolta anche a favore dell’utenza civile che avendo bisogno di questa particolare branca specialistica, ne faccia specifica richiesta alla nostra amministrazione.

Tale attività viene effettuata in concerto al Servizio Sanitario Nazionale.

## Obiettivo

la gestione delle ferite da arma da fuoco e delle perdite di sostanza da ordigno esplosivo è sempre difficoltosa, sia per le caratteristiche peculiari di tali lesioni, ferite spesso devastanti e contaminate, sia per l’ambiente ostile dove vengono prodotte. Abbiamo cercato una valida terapia che sia in grado da un lato di gestire la carica batterica e di stimolare il processo di granulazione, dall’altro che sia facilmente gestibile anche in condizioni operative e che mantenga sempre elevati standard di efficacia.

## Metodi

Dal periodo marzo 2012 dicembre 2012 abbiamo trattato sei pazienti con ferite da armi da fuoco provenienti da



teatri operativi. Ogni paziente presentava più lesioni che andavano affrontate contemporaneamente. Un ferito con perdite di sostanza agli arti superiori ed inferiori, un paziente con amputazione traumatica dell’arto inferiore, uno con lesioni traumatica degli arti inferiori e con esposizione di frattura ossea pluriframmentaria, un paziente con vasta perdita di sostanza arto superiore sinistro, in regione coxo femorale sinistra, un paziente con perdita di sostanza arto superiore sinistro, ed infine un paziente con perdita di sostanza a livello dell’avampiede. Nella prima fase del trattamento si è proceduto all’inquadramento multidisciplinare dei pazienti e alla preparazione delle lesioni per una risoluzione definitiva. I pazienti sono stati sottoposti a tamponi colturali qualitativi quantitativi a tempo “zero” e controlli a cadenza settimanale, veniva quindi effettuato un Debridement mirato al tipo di lesione e alle condizioni generali dei pazienti. Tre pazienti sono stati sottoposti a

Debridement meccanico statico, e tre a debridement chirurgico. Tutti i pazienti sono poi stati sottoposti a NPWT Sono stati utilizzati diversi tipi di Filler per soddisfare le diverse necessità delle lesioni. Su quattro pazienti con perdite di sostanza è stato utilizzato un filler a schiuma di poliuretano a celle aperte microlegate ad Ag. Metallico. Su due pazienti con lesione trafittiva da arma da fuoco abbiamo utilizzato un filler a garza con PHMB.

La pressione di utilizzo è stata in tutti i casi di 90 mmhg per la prima settimana, avendo cura di preservare i fasci vasculonervosi in evidenza, si è poi passati a 125 mmhg. La frequenza dei cambi è stata di 72 ore, è stata utilizzata in tutti i casi una terapia antibiotica sistemica mirata. Nella seconda fase di trattamento abbiamo proceduto alla chiusura definitiva delle lesioni utilizzando in tre casi idrofibra Ag, ed in tre casi si è provveduto alla chiusura mediante l’utilizzo di lembi chirurgici.



**1° Paziente** - A: tempo 0; B: 4<sup>a</sup> settimana; C: 16<sup>a</sup> settimana.



**2° Paziente** - A: tempo 0; B: 2<sup>a</sup> settimana; C: 16<sup>a</sup> settimana.



**3° Paziente** - A: tempo 0; B: 4<sup>a</sup> settimana; C: 16<sup>a</sup> settimana.

## Risultati

Dopo 30 giorni di trattamento in tutti i casi trattati abbiamo ottenuto una ottima deterzione della lesione, un'abbondante tessuto di granulazione, e l'abbattimento della carica batterica che hanno permesso di poter passare alla

seconda fase e procedere alla chiusura definitiva delle lesioni.

## Conclusioni

L'utilizzo della NPWT nelle lesioni da arma da fuoco, per quello che riguarda

l'esperienza del nostro Servizio, è risultata essere un'ottima terapia sia per la stimolazione del tessuto di granulazione che per il controllo della carica batterica. Una accurata scelta del Filler più idoneo al tipo di lesione è stata decisiva per ottenere una rapida guarigione definitiva.



# Use of NPWT in combat wounds and loss of substance by explosive device

Massimo Campioni \*

## Aim

The management of combat wounds and the management of loss of substance by explosive device is always very difficult to treat, either for the unique characteristics of these lesions as well as for the hostile environment where they are produced. We tried a viable therapy capable on one hand to manage the bacterial load and to stimulate the granulation process and, on the other hand, to be easily manageable even in operative conditions always requiring an high standard of effectiveness.

## Methods

During the period between March 2012 and December 2012 we treated 6 patients with traumatic injuries (combat wounds). Each patient had more injuries requiring all a simultaneous treatment. In the initial phase of the treatment the patient has been evaluated by a multidisciplinary equipe while simul-

taneously patients lesions have been prepared. Patients were subjected to qualitative and quantitative swab cultures at "zero" time and checked weekly; then was performed a targeted debridement lesion specific and tailored to the general conditions of the patients. Three patients undergone to static mechanical debridement, while three other patients undergone to surgical debridement. Then, all the patients undergone to NPWT. Different types of fillers have been used to meet the different needs of each lesion. In four patients with loss of substance was used a polyurethane foam filler with open cells micro linked to metallic silver. In two patients with gun bullet perforation we used a filler with AMD antimicrobial gauze.

The pressure applied was in all cases of 90 mmHg in the first week, preserving with attention vascular and nerve plexus, then we used the pressure of 125 mmHg. The frequency of changes was every 72 hours. In the second phase of treatment we proceeded to the final closure of the

lesions using in three cases silver hydro-fiber, while in three other cases we proceeded to closure through the use of surgical flaps

## Results

After thirty days of treatment we obtained in all cases an excellent debridement of the lesions and abundant granulation tissue and the reduction of bacterial load. The treatment permitted to switch to the second phase and to proceed to the final closure of the lesions.

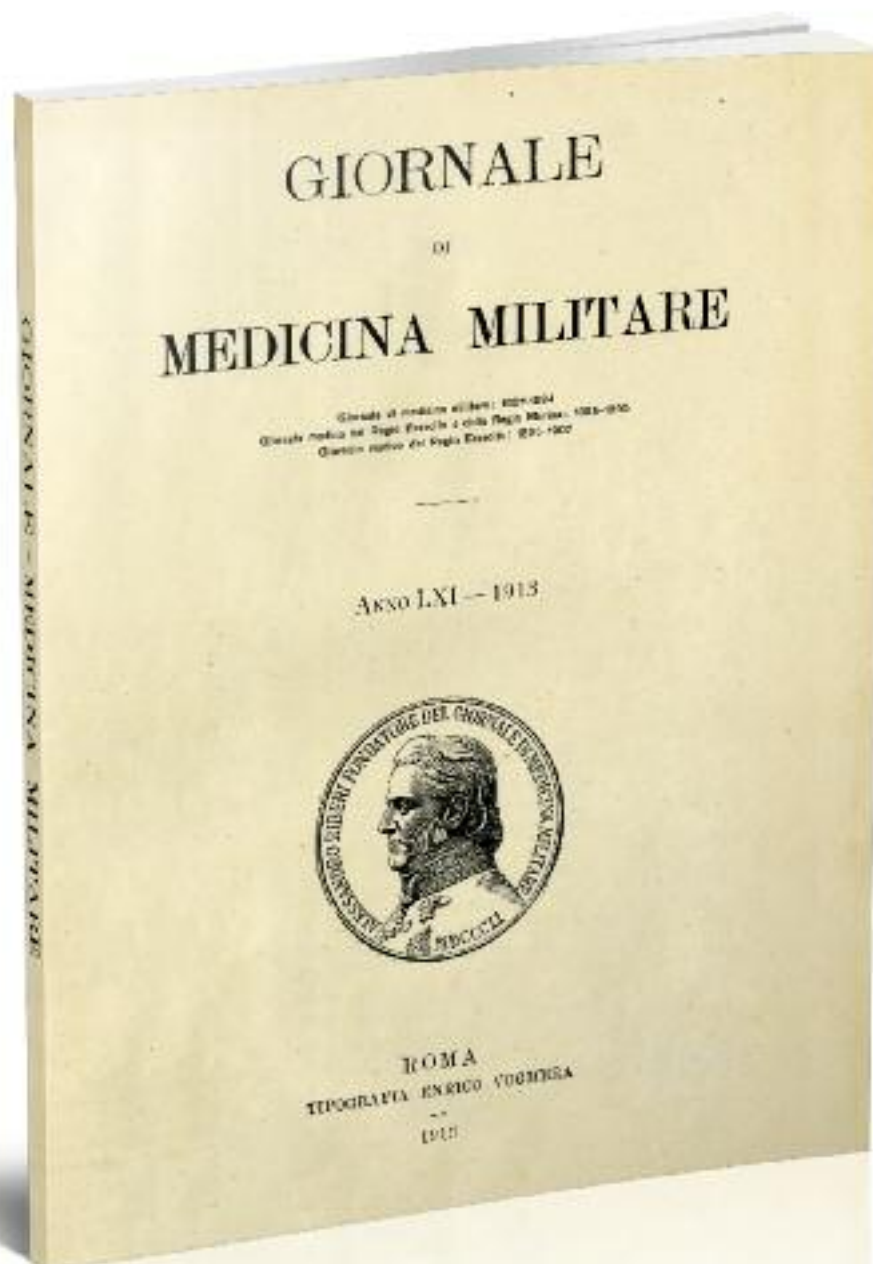
## Conclusions

The use of NPWT in gunshot wounds have shown to be an excellent therapy both for the stimulation of granulation tissue as well as for the control of bacteric load. A careful choice of the more suitable filler to the specific type of lesion was a decisive choice for wound healing.

\* Ltc. Dr. Chief of Vulnus therapy Dpt. - Military General Hospital "Celio" - Roma.

# *Un salto nel passato*

**SPUNTI DAL GIORNALE DI MEDICINA MILITARE. CENTO ANNI FA: 1913**



## *Un salto nel passato*

*SPUNTI DAL GIORNALE DI MEDICINA MILITARE. CENTO ANNI FA: 1913*

### LA MEDAGLIA D'ARGENTO AL VALOR MILITARE al Corpo sanitario militare e all'Associazione della Croce rossa italiana

---

Il 19 corrente, sull'Altare della Patria, S. M. il Re consegnava al tenente generale medico ispettore capo di sanità militare la medaglia d'argento al valor militare, stata decretata al corpo sanitario militare «per gl'importanti servizi resi nella campagna di guerra in Libia 1911-1912».

Ci è grato trascrivere qui le parole con cui S. E. il ministro della guerra formulò la proposta dell'onorificenza nella Relazione che precede il regio decreto.

«Mi onoro proporre alla Maestà Vostra che sia conferita la medaglia d'argento al valor militare al corpo sanitario militare e all'associazione della Croce Rossa italiana, ai quali, sulla linea del fuoco, l'estremo pericolo non fu limite nella grande umana opera pietosa».

Questo Giornale, che da oltre cinquant'anni vive della vita stessa del corpo sanitario militare condividendone i dolori, le gioie e le glorie, è oggi lieto e orgoglioso di rendere nota ai suoi lettori la concessione di così ambita onorificenza, che è meritato premio dei valorosi.

Vada, in questo momento, il nostro pensiero riconoscente ai prodi ufficiali medici caduti sul campo, a quelli che riportarono gloriose ferite nell'adempimento del loro pietoso dovere, e ai nostri colleghi tutti, che presero parte alla recente guerra, dando continue prove delle più elevate qualità di medici e di soldati.

---

---



### CONFERENZE SCIENTIFICHE DEGLI OSPEDALI MILITARI

#### SOMMARIO DEGLI ARGOMENTI TRATTATI

(DAI PROCESSI VERBALI PERVENUTI ALL'ISPETORATO DI SANITA' MILITARE DAL 1° AL 31° GENNAIO 1913)

ALESSANDRIA (gennaio). - Capitano medico CESARE MARGARA - Come tema della conferenza tratta della radioscopia e della radiografia. Premesse alcune notizie storiche sul magnetismo e sull'elettricità ed accennato alle unità di misura dell'energia elettrica ed alle varie qualità di elettricità, parla in seguito dell'impianto di apparecchi per raggi X, indicando le diverse sorgenti di elettricità ed illustrando successivamente le macchine dinamo-elettriche e l'Apparecchio portatile tipo militare, Ferrero di Cavallerleone.

Viene quindi a descrivere i rocchetti d'induzione, gli interruttori elettrici ed a mercurio e si trattiene in modo speciale sui tubi radioscopici. A tale riguardo egli risale ai dati storici degli esperimenti coi tubi Geisler e coi tubi Kröokes ed alla scoperta del Röntgen.

Enumera le proprietà dei raggi catodici e dei raggi X, e tratta delle varie forme e qualità dei tubi Kröokes, della loro durezza o mollezza e delle precauzioni necessarie per non guastarli, del modo di correggere il grado di durezza e dei radiocromometri.

Dopo di aver accennato agli inconvenienti che si possono incontrare nella pratica radioscopica e radiografica, ed ai mezzi per eliminarli, l'A. fa una dimostrazione pratica del funzionamento dell'apparecchio in uso nell'ospedale, presentando radiografie già sviluppate, e facendo esaminare alcuni soggetti al radioscopio. Conclude facendo voti per il perfezionamento dei mezzi, di cui ora si dispone in questo ospedale per il gabinetto radiografico, dimostrando la necessità di acquistare un radio-compressore ed altri strumenti di moderna invenzione per uso radioscopico.

BARI (novembre). - Maggiore medico LUIGI DI GIACOMO. - Presenta un infermo di anni 43, affetto da disturbi di minzione fin dall'infanzia, avendo egli fin da quell'epoca notato che essa si compiva con un getto doppio. A 20 anni si contagiò di blenorragia, alla quale seguì restringimento uretrale, per cui fu operato nel 1898 di uretrotomia interna e dopo due anni fu sottoposto alla dilatazione graduale dell'uretra con poco vantaggio.

Attualmente presenta restringimento uretrale, passando appena appena una candeletta n. 5 della filiera Charrier. L'ammalato è ostinato nel ritenere che il suo disturbo provenga non tanto dal restringimento uretrale, quanto dall'avere un'uretra doppia od altro canale che decorra parallelamente alla vera uretra.

L'A. passa quindi a discutere se quanto afferma il soggetto corrisponde al vero, cioè se realmente possa esistere un'uretra doppia e se le osservazioni dell'individuo siano effetto di allucinazioni. Dopo avere svolto tutto il processo embriologico degli organi genito-urinari, passa a trattare delle anomalie dell'uretra maschile ed ammette si possano verificare dei casi in cui si abbia un doppio canale o qualche cosa di simile che corra parallelamente all'uretra, citando qualche esempio riportato da Fischer e da altri autori.



# Un salto nel passato

## SPUNTI DAL GIORNALE DI MEDICINA MILITARE CENTO ANNI FA: 1913

Esponde successivamente l'esame obbiettivo dell'infermo e dimostra che egli non presenta uretra doppia, nè altro canale che percorra parallelamente l'uretra, ma che è affetto da grave restringimento sclerotico di quasi tutta la porzione cavernosa dell'uretra e di quella membranosa. Il getto doppio osservato dipende da una membrana, la quale divide in due il meato urinario.

CASERTA (dicembre). - Dimostrazione pratica dell'autopsia di un soldato del 10° reggimento artiglieria, morto per commozione cerebrale e frattura del cranio, in seguito a caduta da cavallo.

All'apertura della scatola cranica si è constatato grande raccolta di grumi sanguigni tra la medesima e la dura meninge, con distacco a guisa di scheggia della lamina vitrea della calotta, in corrispondenza della regione temporo-parietale sinistra, con estremità anteriore aguzza, in corrispondenza di uno dei tronchi principali della meninge media, che si osserva recisa nella sua continuità. Inoltre nella faccia interna della volta cranica, verso la regione parietale dello stesso lato, rilevasi una fessura a tutto spessore, diretta indietro ed in alto, con effusione sanguigna nella diploe e nelle zone adiacenti. Sulla sostanza cerebrale, in corrispondenza delle suddette regioni, temporale e parietale, notasi un appiattimento di detta sostanza, che si presenta congesta e rammollita. In corrispondenza della regione frontale destra si osserva invece una contusione superficiale con spappolamento della massa cerebrale.

Asportato il cervello, nonché la dura meninge della base, rilevasi un'altra fessura a tutto spessore di circa 3 cm. nella grande ala dello sfenoide, attraverso cui si presume sia avvenuta emorragia extra-cranica.

In base a questi risultati anatomo-patologici è stata fatta diagnosi di frattura del cranio in corrispondenza della regione temporale, parietale e dello sfenoide di sinistra, con contusione per contraccolpo del lobo frontale destro e recisione della meninge media sinistra, con profusa e rapida emorragia intra ed extracranica, cui sopra tutto è dovuta la morte.

CAVA DEI TIRRENI (gennaio). - Tenente colonnello medico GIOVANNI ANTONIO PERASSI. - L'O. ha prescelto come argomento della conferenza il servizio delle rassegne. Comincia dal far rilevare come il regolamento pubblicato il 9 luglio 1910 non prevede, nè determina la procedura da seguire nelle due seguenti situazioni, che nella pratica ospitaliera militare non sono tanto infrequenti a verificarsi:

1) Un militare giudicato idoneo al servizio, dopo osservazione, da un direttore d'ospedale, colonnello medico, può essere inviato in osservazione, per il medesimo motivo, in ospedale diretto da un tenente colonnello. In tal caso indubbiamente la questione medico-legale va deferita al giudizio del direttore di sanità.

2) Un militare giudicato idoneo al servizio pure da un direttore, colonnello medico, può rientrare in osservazione in altro ospedale diretto da un tenente colonnello, ma per una causa diversa da quella che ha motivata la prima osservazione. In questo secondo caso si ritiene che debba essere competente ad emettere un nuovo giudizio il direttore d'ospedale di grado inferiore, ancorchè il nuovo parere venga pronunziato sopra malattie od infezioni, già esistenti all'epoca della prima osservazione, ma non rilevate, nè vagliate con speciali cenni descrittivi nella dichiarazione medica precedentemente rilasciata.

Cogli esposti dati di fatto, l'O. mette in evidenza la necessità che il paragrafo 10 della circolare 252 venga opportunamente ritoccato dalle competenti autorità militari, come pure fa rilevare che il paragrafo 13 del regolamento sul servizio sanitario militare territoriale non si trova più in armonia colle disposizioni contenute nell'accennata circolare. Conclude col ritenere che anche le discussioni sopra questioni procedurali non mancano d'importanza e valgono a promuovere nuove disposizioni regolamentari, intese a rendere più sollecita ed uniforme la soluzione di difficili e controverse situazioni medico-legali.

CHIETI (dicembre) - Capitano medico FILIPPO CACCIA. Sulle ferite d'arma da fuoco osservate a Bengasi durante la guerra italo-turca. L'O., dopo un breve cenno statistico sui tre principali fatti d'arme svoltisi a Bengasi, e cioè sullo sbarco (19 e 20 ottobre 1911), sulla battaglia di Hoefia (28 novembre) e sul combattimento, dell'oasi delle due palme (12 marzo), mette a confronto le cifre rilevate con quelle delle guerre più importanti degli ultimi tempi, e da questo paragone risulta che nessuna guerra ha un riscontro perfetto con l'attuale.

Dopo averne esposto le principali ragioni, l'O. descrive i principali caratteri delle ferite, con speciale riguardo a quelle prodotte dai grossi proiettili di piombo non rivestiti. Passa quindi a trattare della morfologia delle lesioni delle parti molli, delle ossa, del cranio, del torace, dell'addome e della colonna vertebrale. Fa un rapido accenno anche al sussidio diagnostico prezioso dato dalla radiografia, affermando che l'apparecchio portatile, tipo militare «Ferrero di Cavallerleone» è comodo in campagna, di facile uso e risponde bene allo scopo.

Riferisce successivamente sul trattamento generale e speciale per le singole regioni, raccomandando di massima l'astensione, particolarmente in primo tempo, e riporta gli ottimi risultati ottenuti con l'uso della tintura di iodio per le disinfezioni non solo delle ferite, ma anche del campo operatorio. Per quanto poi riguarda l'anestesia, ritiene che il metodo ideale sia la rachianestesia, la quale porta una rilevante economia di personale medico e di servizio.

Conclude rivolgendo un memore saluto ai colleghi morti eroicamente sul campo di battaglia ed un augurio ai numerosi feriti, che anche in questa campagna, hanno così brillantemente tenuto alto il prestigio del corpo sanitario militare.

GENOVA (dicembre). - Tenente medico di complemento EZIO CALCATERRA. Riferisce sopra 82 casi di infezione tifoidea osservati nell'ospedale durante l'epidemia manifestatasi della scorsa estate. Dopo aver rilevato la spiccata gravità della forma morbosa, che portò ad una mortalità superiore al 20 %<sub>0</sub>, cifra elevatissima data l'età dei colpiti e il loro grado di robustezza, egli spiega tale elevata mortalità in confronto di quella che potè osservarsi nella popolazione civile di Genova, ammettendo che questa, abituata da lungo tempo a fare uso di acqua più o meno inquinata si sia andata acquistando come una speciale immunizzazione, la quale non poteva sussistere nei soldati provenienti dai luoghi, in cui le acque sono naturalmente pure.

Un'altra prova della particolare gravità dell'epidemia è desunta dall'O. dalle numerose complicanze riguardanti specialmente l'apparecchio circolatorio ed il respiratorio, e dai caratteri morfologici dell'agente patogeno, che si presentava tanto diverso dai comuni germi tifosi, e dal mancato fenomeno dell'agglutinazione. Dopo altre brevi considerazioni l'A. pone termine alla sua conferenza, illustrando i casi più importanti osservati.



# Un salto nel passato

## SPUNTI DAL GIORNALE DI MEDICINA MILITARE CENTO ANNI FA: 1913

MESSINA (novembre). - Tenente medico di complemento STEFANO PUGLISI-ALLEGRA. - Riferisce su alcuni casi di tumori infiammatori dello stomaco, e comincia dall'osservare come in tutto il tubo gastro-enterico si possono avere dei tumori, che all'esame anatomico-patologico grossolano presentano tutti i caratteri del carcinoma, ma che poi invece non sono tali, sia per l'ulteriore decorso clinico, sia per i caratteri istologici, quando ne venga praticato l'esame microscopico. Clinicamente infatti sono in completo contrasto colla malignità dei neoplasmi veri, coll'evoluzione progressiva di questi, perchè regrediscono e scompaiono, sia spontaneamente, sia con interventi unicamente palliativi.

Tali tumori non presentano all'esame microscopico alcuna proliferazione epiteliale, ma le note di un processo infiammatorio puro e semplice, senza alcun segno di lesioni specifiche. Sono stati da alcuni autori giudicati di natura tubercolare, perchè facilmente si riscontrano in soggetti tubercolotici o in ammalati che secondariamente diventano tubercolosi. Ma per tale conferma mancano le prove istologiche, batteriologiche e sperimentali di inoculazione negli animali, nè possiamo affermare, solo perchè un infermo è tubercoloso, che tutti i processi morbosi da cui è affetto siano della stessa natura. Per gli ammalati poi che diventano in seguito tubercolosi si deve tener presente se il manifestarsi dell'infezione sia stato favorito dal deperimento organico determinato dall'infezione gastrica.

L'O. riporta tre osservazioni personali, nelle quali la diagnosi clinica di carcinoma fu confermata al tavolo operatorio. Due degli infermi furono operati, di pilorectomia alla seconda maniera di Billroth, il terzo di gastro enterostomia, richiesta dall'estensione del processo ritenuto neoplastico: in tutti e tre i casi si ottenne guarigione completa e permanente, e l'esame microscopico dimostrò trattarsi di semplici processi infiammatori.

Come conclusione, l'O. ammette che accanto ai pseudoneoplasmi di natura specifica hanno il loro posto quelli di natura puramente e semplicemente infiammatoria, dovuti ad infezioni croniche e poco virulenti, o a processi ulcerativi cronici, poichè non possiamo affermare la natura tubercolare di una lesione, basandoci soltanto su dati clinici, non sempre costanti, senza che questi siano confortati da prove anatomico-patologiche, batteriologiche e sperimentali.

PALERMO (dicembre). - Capitano medico ANTONINO AMENTA: Espone il rendiconto clinico dei feriti d'arma da fuoco provenienti dalla Libia, con speciale riguardo alle ferite penetranti dell'addome. Vennero ricoverati nel 1° reparto chirurgico, diretto dall'O., complessivamente 356 militari di truppa e 24 ufficiali, di cui: 37 per ferite al capo, delle quali 10 con fratture del mascellare inferiore e 3 con lesioni del cervello, tutte e tre con esito letale; 37 per ferite al torace, delle quali 26 penetranti; 20 per ferite all'addome, delle quali 5 certamente penetranti e tutte guarite; 7 per frattura della colonna vertebrale e lesioni spinali, con 5 decessi; 226 per ferite degli arti, di cui 38 con frattura. Si ebbero in tutto 10 decessi, con una mortalità complessiva di circa il 4 p. 100.

L'O. espone quindi l'elenco delle operazioni praticate, fra cui 3 amputazioni, 1 craniotomia, 2 resezioni costali all'Estländer, 1 laminectomia, 42 estrazioni di proiettili, 26 riduzioni di fratture, ecc.

L'O. illustra brevemente i casi più importanti, tra i quali quello del caporale maggiore B....., con ferita d'arma da fuoco alla regione temporo parietale sinistra, permanenza del proiettile, paralisi dell'arto superiore destro e disartria. Praticata la craniotomia ed incisa la dura madre,

si diede esito ad un vasto ascesso cerebrale e si asportò anche una grossa scheggia metallica, dopo di che l'infermo migliorò notevolmente, tanto da muovere il braccio e cominciare a parlare. Anche l'arto inferiore destro, che era prima paretico, riprese la sua funzione ed il ferito cominciò ad alzarsi e camminare. Ai primi di febbraio però si manifestò uno stato di depressione, forte stitichezza e insonnia, che aumentarono nei giorni seguenti. Fu allora praticata una puntura esplorativa nella regione temporale, sede della lesione, ma con risultato negativo: ripetutala dopo due giorni, si estrasse del pus verdastro, per cui sulla guida dell'ago si incise profondamente la sostanza encefalica e si mise allo scoperto un vasto ascesso cerebrale, con esito di abbondante secrezione purulenta ematica. Benchè momentaneamente le condizioni dell'infermo fossero migliorate, pure ricomparvero la paralisi emilaterale destra e la disartria e nei giorni seguenti si manifestò un'encefalite reattiva, con forte rialzo di temperatura e cancrena della sostanza cerebrale, che richiese l'asportazione di buona parte dell'emisfero sinistro: in queste gravissime condizioni l'infermo morì il 29 febbraio 1912.

L'O. espone quindi i casi più importanti di lesioni alla colonna vertebrale ed osserva che i sintomi di lesioni midollare, (paraplegia più o meno completa, abolizione della sensibilità, incontinenza di feci e di urine, piaghe da decubito, cancrena delle estremità) decorsero tanto più rapidamente quanto più alta era la lesione midollare, mentre due soldati feriti alla regione lombare, con paralisi dell'arto superiore destro vissero rispettivamente 135 e 57 giorni dalla lesione, avendo fatto sperare per poco anche della loro guarigione. Riferisce inoltre il caso del soldato F..., ricoverato per ferita d'arma da fuoco, con foro d'entrata nella regione sopra spinata destra ed arresto del proiettile fra la 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> vertebra dorsale, con paraplegia crurale completa, anestesia sino alla linea trasversa passante per la 5<sup>a</sup> costola e paralisi vescicale ed anale. Eseguita la radiografia ed estratto il proiettile che comprimeva il midollo, si ebbe ripristino quasi completo della sensibilità, ed a poco a poco anche della motilità, prima dell'arto inferiore sinistro e poi lentamente del destro, e scomparirono del tutto la paralisi anale e vescicale ed i disturbi trofici, che si erano manifestati alla regione sacrale.

L'O. riferisce successivamente le storie cliniche dei feriti all'addome, di cui cinque certamente penetranti: due con solo foro d'entrata all'ipocondrio sinistro, e nei quali la radiografia mostrò la presenza di un proiettile Mauser, con guarigione senza l'estrazione di esso. Un altro caso riguardava il soldato F..., ferito all'addome, con solo foro d'entrata all'ipocondrio sinistro, il quale aveva risentimento peritoneale ed ematuria ed era stato curato con la immobilizzazione. Al suo ingresso nell'ospedale, un mese dopo la lesione, l'infermo accusava un lieve dolore in corrispondenza dell'ipocondrio sinistro e l'esame radiografico rivelò la presenza di un proiettile rotondo all'altezza della regione renale (2<sup>a</sup> vertebra lombare); l'infermo guarì completamente senza alcun intervento. Le altre due ferite addominali penetranti furono curate con l'immobilizzazione e con l'applicazione di vesciche di ghiaccio, e decorsero completamente asettiche con graduale scomparsa dei sintomi infiammatori (febbre, dolore, vomito) e guarigione perfetta.

Le rimanenti ferite dell'addome non diedero sintomi di risentimento peritoneale: tuttavia non si può escludere che alcune siano state penetranti, tanto più che sembra veramente difficile che il proiettile Mauser possa attraversare semplicemente le pareti addominali, senza ledere il peritoneo parietale.

## *Un salto nel passato*

### *SPUNTI DAL GIORNALE DI MEDICINA MILITARE CENTO ANNI FA: 1913*

Questi ottimi risultati conseguiti con la cura astensionista delle ferite addominali sono molto confortanti e confermano quanto ebbero già a constatare i chirurghi militari nella guerra russo-giapponese, durante la quale furono costretti ad abbandonare completamente la laparotomia immediata, per il fatto che tutti i feriti all'addome, che avevano subito un intervento chirurgico presso le unità sanitarie mobili, morivano negli ospedali di seconda linea, mentre invece con la sola cura aspettante si ottenne perfino il 44% di guarigioni. L'unica e principale questione, di cui si dovrà occupare il chirurgo per detti feriti sarà quella del trasporto e cioè cercando di evitarlo, per quanto è possibile, coll'ospitalizzare in sito il ferito o tutt'al più trasportarlo con le migliori cautele possibili nell'ospedale più vicino: in tal modo si è osservato e dimostrato specialmente che anche piccole ferite dell'intestino (colon) possono essere obliterate dall'ectropion della mucosa e dell'epiploon.

L'O. espone infine le storie cliniche dei fratturati del mascellare inferiore, fra cui ricorda specialmente l'ascaro Adum-Ridi, che riportò una ferita alla faccia con foro d'entrata alla guancia sinistra e foro d'uscita all'angolo del mascellare inferiore destro, con frattura semplice dell'angolo sinistro e comminativa del destro, perdita di sostanza ossea e lesione grave della lingua. Si dovette intervenire in primo tempo con l'asportazione di numerose schegge ossee del mascellare inferiore e di cenci ossei dei tessuti molli: in secondo tempo, cessata completamente la secrezione icorosa data da tali tessuti, si praticò un'osteosintesi con filo metallico fra i due monconi della branca sinistra del mascellare e si applicò un apparecchio di protesi immobilizzante i due mascellari e tale da permettere l'introduzione di un tubo elastico, col quale l'infermo poteva ingoiare alimenti liquidi. La frattura della branca sinistra consolidò completamente. In terzo tempo per rimediare alla sostanza ossea perduta della branca destra del mascellare si praticò un innesto osseo autoplastico, utilizzando un pezzo di costola tolta all'infermo e si ottenne un felice attecchimento, tanto da permettere al ferito la masticazione.

L'A. da ultimo presenta numerose radiografie con i risultati delle osteosintesi eseguite con ottimi risultati anatomici e funzionali, anche in casi in cui sembrava molto difficile l'attecchimento dei frammenti ossei.

# Infermieristica



## Aspetti culturali relativi al vissuto degli infermieri militari, una ricerca bibliografica

Cultural aspects related to the experience of military nurses, a literature search

Carlo Brachelente \*

Andrea De Simone \*

**Riassunto** - L'articolo si propone, attraverso una revisione bibliografica, di indagare gli aspetti relativi al vissuto degli infermieri militari. Dalla letteratura analizzata emerge che l'aspetto più influente nelle esperienze degli infermieri è il loro impiego all'estero. Essi narrano delle difficoltà incontrate nell'assistere popolazioni di cultura lontana dalla propria, dovute a barriere di natura comunicative ed a carenze di cultura antropologica. Le tematiche rilevate sono ampie e meriterebbero maggiori approfondimenti attraverso studi di tipo qualitativo.

**Summary** - L'article aims, through a review of the literature, to investigate the experience of military nurses. From the literature reviewed shows that the aspect that most built the experiences of nurses is their service in foreign missions. They tell the difficulties encountered in assisting populations away from their culture, due to the nature of communication barriers and shortcomings of an anthropological nature. The issues identified are large and deserve further investigation through qualitative studies.

Gli aspetti relativi al vissuto degli infermieri militari a volte sono posti in secondo piano, rispetto ad una visione della professione centrata a soddisfare prioritariamente l'esecuzione di tecniche infermieristiche, quindi abbiamo ritenuto utile, attraverso una ricerca bibliografica, comprendere come siano descritti in letteratura gli aspetti culturali legati al vissuto degli infermieri militari. L'esperienza che segna maggiormente il percorso di vita professionale di un infermiere militare è sicuramente l'impiego nei teatri operativi. Nel prestare assistenza durante l'impiego all'estero,

come infermieri abbiamo vissuto personalmente le problematiche legate all'interazione con gruppi etnici molto lontani dal nostro in ambiente operativo ed a volte ostile. L'impegno dell'infermiere militare è indissolubilmente legato al contesto in cui svolge il proprio servizio, il teatro operativo, le difficoltà logistiche, il team di lavoro, sono elementi che caratterizzano sensibilmente le esperienze vissute durante le missioni, e quindi influenzano la cultura professionale. In ambito infermieristico la cultura è definita come: "ciò che si riferisce alla conoscenza di valori, credenze e stili

di vita appresi, condivisi e trasmessi di uno specifico gruppo; di solito sono tramandati di generazione in generazione e influenzano il modo di pensare, le decisioni e le azioni in schemi e modi predeterminati"(24). Nel suo significato antropologico la cultura è definita come: "il complesso insieme che comprende il sapere, le credenze, le arti, la morale, il diritto, i costumi e tutte le altre capacità e abitudini che l'uomo acquisisce in quanto membro di una società"(25). Questa breve analisi ha consentito di estrapolare le parole chiave per dar luogo alla ricerca bibliografica:

\* Mar. Capo, Policlinico Militare "Celio" - Roma.

## Materiali e Metodo

1. Il gruppo sociale sul quale effettuare la ricerca sono gli *infermieri militari*;
2. L'ambito della loro attività nel quale prioritariamente orientare la ricerca è nel loro *impiego all'estero*;
3. I temi oggetto della ricerca per rappresentare gli aspetti culturali sono le *tradizioni*, i *comportamenti* e i *valori* con cui hanno contatto gli infermieri militari;
4. questi temi devono essere analizzati attraverso lo studio della vita reale e delle loro *esperienze* in qualità di militari.

Nella ricerca sono stati inclusi tutti gli aspetti culturali che gli infermieri militari incontrano nel prestare assistenza durante il loro impiego all'estero. Questi temi sono stati analizzati dal punto di vista delle esperienze vissute dagli infermieri militari.

Le parole chiave ritenute più efficaci per lo scopo della ricerca bibliografica sono state: *infermieri, militari, esperienza, cultura, tradizioni, nursing, teatro operativo (nurse, military, experience, culture, tradition, nursing, foreing theatre)*.

La ricerca è avvenuta attraverso il motore di ricerca di Pub – Med e Chinail, introducendo le parole chiave combinate attraverso gli operatori booleani “and” e “or”.

Sono inclusi in bibliografia articoli che indagano le esperienze degli infermieri militari attraverso studi, che hanno per oggetto gli aspetti culturali professionali nel senso più ampio del termine.

Si è esclusa dalla bibliografia tutta quella letteratura che studia le esperienze privilegiando la mera osservazione delle attività cliniche infermieristiche.

## Risultati

Gli articoli utilizzati per la bibliografia sono ventitre. Essi sono stati pubblicati tra il 1979 ed il 2012. Undici sono stati realizzati tra il 1995 ed il 2002, e dodici tra il 2005 ed il 2009.

Gli articoli analizzati hanno tutti come oggetto un disegno di ricerca di tipo qualitativo inoltre trattano dell'esperienza di infermieri militari durante il loro impiego in teatri operativi differenti e nello specifico:

- 6 articoli sull'esperienza di infermieri durante la guerra in Vietnam;
- 3 articoli sull'esperienza di infermieri in missioni umanitarie;
- 2 articoli sull'esperienza di infermieri durante la II guerra mondiale;
- 2 articoli sull'esperienza di infermieri nei teatri balcanici;
- 2 articoli sull'esperienza di infermieri in Afghanistan;
- 3 articoli prevalentemente sull'esperienza in patria.

Gli articoli utilizzati hanno origine da studi realizzati su gruppi di infermieri provenienti da diverse nazionalità:

- 17 articoli riguardano l'esperienza infermieri dell'esercito Statunitense;
- 3 articoli riguardano l'esperienza di infermieri dell'esercito Britannico;
- 3 articoli riguardano l'esperienza di infermieri dell'esercito Australiano.

Dall'analisi della letteratura è emerso che le tematiche affrontate con maggiore frequenza si possono così riassumere:

1. 12 articoli trattano di infermieri militari che descrivono come inadeguate le proprie competenze trans – culturali. Le principali difficoltà incontrate riguardano le barriere linguistiche, e comunicative più in generale. Tra i temi più sentiti vi è la difficoltà di instaurare rapidamente un clima di

fiducia con le popolazioni indigene. Tale carenza culturale genera dispendio di tempo per trovare i canali comunicativi più idonei con la popolazioni autoctona. (1, 2, 4, 5, 6, 9, 10, 16, 17, 18, 22, 23);

2. in 9 articoli si affronta la tematica delle sindromi da stress post – traumatico, come aspetto comportamentale dei militari combattenti. La problematica è affrontata sia dal punto di vista clinico sia come un aspetto “culturale” della vita militare, in quanto chi ha vissuto l'esperienza dei combattimenti acquisisce dei comportamenti che divengono un modello di riferimento per gli altri militari (5, 8, 9, 12, 13, 14, 17, 20, 21);
3. in 5 articoli gli infermieri esprimono la necessità di adeguare le proprie competenze cliniche alle necessità operative, narrando di desiderare l'adeguamento del loro curriculum formativo alle necessità derivanti dall'impiego operativo (3, 6, 15, 19, 24);
4. in 7 articoli sono narrate le problematiche trans – culturali nel prestare l'assistenza ai militari della propria nazione, sia nell'impiego in patria che all'estero (1, 2, 3, 5, 9, 10, 14);
5. in 6 articoli si affrontano le tematiche legate al “senso del dovere” dei militari, studiato come valore culturale da considerare nel prestare un'idonea assistenza ai veterani. In questi articoli si afferma, che chi ha partecipato a dei combattimenti attivi acquisisce dei modelli comportamentali, generati dall'adattamento a tale situazione, che entrano a far parte del bagaglio culturale di questi militari (1, 2, 3, 5, 6, 7, 9).



## Discussione

Dall'analisi della letteratura emergono alcuni dati che ci aiutano a comprendere meglio l'attività degli infermieri militari.

È interessante rilevare come sussista una certa convergenza riguardo temi narrati da infermieri militari appartenenti ad eserciti di differenti nazionalità, tutti di cultura anglosassone. Le esperienze studiate sono maturate in scenari ed epoche varie, che spaziano nel tempo dalla II guerra mondiale ai giorni nostri, ed originate in scenari che comprendono sia la guerra conclamata che le missioni per aiuti umanitari.

### Tema n. 1, 3

Dai dati rilevati è emerso che nel vissuto degli infermieri militari il tema più trattato dalla narrazione del loro impiego fuori area, è quello riguardante le competenze trans - culturali. Nella maggior parte degli articoli gli infermieri oggetto degli studi le percepiscono come inadeguate. In questi articoli gli infermieri affermano che la principale difficoltà da loro incontrata nel prestare assistenza alle popolazioni indigene, si è concretizzata con le barriere di natura comunicativa (1, 4, 10, 16). Gli infermieri narrano delle difficoltà affrontate nel fornire informazioni riguardo alle procedure assistenziali, non conoscendo l'idioma locale. Essi esprimono chiaramente il desiderio di modificare il proprio percorso curricolare per acquisire competenze specifiche, utili a comprendere come le popolazioni locali percepiscono la salute, la malattia ed il dolore (2, 5, 6, 7, 11). La percezione di inadeguatezza delle competenze trans - culturali degli infermieri, emerge soprattutto nel loro impiego nelle operazioni di

soccorso umanitario. In questo tipo di missioni infatti le popolazioni locali investono nell'operato dei militari grandi aspettative (15, 16). Essi narrano che tali aspettative sono difficili da soddisfare compiutamente, per la carenza di mezzi a loro disposizione rispetto al contesto in cui operano, e soprattutto se rapportate alle esigenze reali della popolazione (15).

### Tema n. 2

In molti articoli si affronta la problematica delle sindromi da stress post traumatico non come patologia in se, ma come aspetto comportamentale dei militari combattenti. Dagli studi analizzati emerge che i militari che hanno avuto esperienze in combattimento acquisiscono un modello comportamentale che è il frutto dall'adattamento a questa situazione di vita fortemente stressante. Chi vive l'esperienza del combattimento tende a maturare dei modelli comportamentali che consentono di superare i momenti di difficoltà o i lutti che in combattimento possono verificarsi (6, 8, 9). In alcuni casi, inoltre, si generano dei processi relazionali che portano alla condivisione di valori riferiti alla percezione del dolore, del lutto, e del senso del dovere. Questi processi generano dei modelli comportamentali, rappresentativi di valori riconducibili a quella specifica comunità di militari combattenti. La problematica è affrontata prevalentemente negli studi statunitensi ed è centrata sull'esperienza dalla guerra del Vietnam. Il dato per essere compreso deve essere analizzato dal punto di vista storico. La guerra in Vietnam "è stata la guerra più lunga mai combattuta dagli stati uniti dal 1961 al 1973" (26) ed ha prodotto un numero rilevante di reduci "oltre 250000 statunitensi sono stati feriti

e 58132 sono stati uccisi" (27), inoltre l'elevato numero di vittime e reduci feriti ha avuto un grande impatto emotivo sull'opinione pubblica nazionale. Gli infermieri militari statunitensi narrano di "desiderare una modifica del proprio curriculum formativo per quanto riguarda l'adeguamento delle proprie competenze cliniche alle esigenze operative"(28).

### Tema n 4

La prevalenza della bibliografia è generata dall'esperienza degli infermieri militati statunitensi, questo carattere deve essere tenuto in debito conto nell'analisi dei dati, in quanto l'esercito USA riflette la composizione multiethnica nazionale. Per tale motivo gli infermieri statunitensi rappresentano il desiderio di migliorare le competenze trans - culturali per prestare assistenza ai militari appartenenti alle proprie forze armate (1, 2). Le difficoltà descritte dagli infermieri sono attenuate dall'assenza, in questo caso, delle barriere linguistiche. Nonostante ciò emerge chiara, la volontà di accrescere le proprie conoscenze riguardo la comprensione delle credenze e le usanze religiose dei vari gruppi etnici statunitensi (1,2). Questo aspetto assume grande risalto soprattutto per gestire al meglio l'assistenza dei reduci combattenti.

### Tema n 5

Il "senso del dovere" può essere considerato un modello comportamentale che i militari apprendono durante i periodi di addestramento da recluta nelle scuole militari, esso diviene parte integrante della cultura del soldato assumendo la connotazione di un valore che guida il



comportamento dei militari (7, 11). Il senso del dovere è rappresentato come un valore, un sentimento proprio dei militari, che può guidarli nel rispetto delle regole e degli ordini ricevuti anche in situazioni di estremo disagio o di pericolo (7). In uno studio condotto sui dei militari britannici il cui il motto è: “senza dolore non c'è vittoria” si palesa come la percezione e la narrazione del dolore si modificano in funzione del contesto in cui esso è vissuto (10). Un altro aspetto culturale legato al senso del dovere, è il modo in cui gli infermieri militari narrano i disagi vissuti durante la permanenza in teatro operativo. Nonostante orari di lavoro estremamente faticosi, l'impiego in situazioni difficili come i combattimenti attivi, essi non percepiscono tali disagi come situazioni ingiuste o come privazioni ma le affrontano come un aspetto intrinseco del proprio lavoro (9).

## Conclusioni

La letteratura analizzata ci mostra come sia complesso il vissuto degli infermieri militari impiegati all'estero. Essi possono trovarsi a prestare assistenza in condizioni molto impegnative come i combattimenti attivi, o dover assistere popolazioni distanti culturalmente colpite da conflitti interni o da calamità naturali.

Proprio per queste difficoltà ambientali, in molti degli studi analizzati, emerge prepotente il desiderio, degli infermieri, di migliorare le proprie conoscenze per adeguarle alle specifiche esigenze di impiego, migliorando in particolare nella formazione antropologica. È interessante osservare, che nell'esercito statunitense, data la sua compo-

sizione multi-etnica, si manifestano difficoltà trans - culturali nel prestare assistenza ai militari della stessa nazione. Tale aspetto sociale, alla luce del processo di evoluzione del contesto demografico nazionale, prossimamente potrebbe manifestarsi anche in Italia, quindi si potrebbe leggere questo aspetto come un dato predittivo.

Il limite principale di questa revisione bibliografica è che si fonda su fonti che ritraggono in prevalenza la realtà dell'esercito statunitense, il quale per composizione etnica, per storia e tipo di impiego ci propone una realtà distante da quella vissuta degli infermieri militari italiani. Per tale motivo potrebbe essere interessante ripetere nel nostro contesto alcuni studi presenti in bibliografia per confrontarne i risultati.

Approfondire questi temi consentirebbe di comprendere, attraverso il vissuto degli infermieri militari italiani, cosa significa essere infermieri in uniforme, ed attraverso questi dati acquisire un preziosissimo bagaglio di informazioni che potrebbero divenire un volano per un'ulteriore crescita professionale di noi infermieri militari. Uno dei consigli che abbiamo trovato più interessante è quello di tenere un diario di missione dove riportare le attività svolte sollevando eventuali criticità inerenti l'attività sanitaria, e soprattutto imprimere le proprie emozioni per descrivere al meglio la realtà vissuta. Questo semplice accorgimento, se utilizzato, potrebbe divenire uno strumento per tramandare comportamenti, approcci, orientamenti professionali, e non ultimo usi e costumi delle popolazioni assistite, agevolando così negli avvicendamenti il personale sanitario militare e nel contempo consolidando la cultura dell'infermieristica militare.

## Bibliografia

- 1. Joseph HJ. (2004).**  
*Attitude and cultural self-efficacy levels of nurse caring for patients in army hospitals.*  
Journal Natl Black Nurses Association, 15 (1), 5-16.
- 2. Joseph HJ. (1997).**  
*Attitude of Army nurses toward African American and Hispanic patients.*  
Military Medicine, 162 (2), 96-100.
- 3. Foley BJ, Kee CC, Minick P, Harvey SS, Jennings BM. (2002).**  
*Characteristics of nurse in Hospital environment.*  
Journal of nursing administration 32 (5), 273-282.
- 4. Gaudinski MA. (1979):**  
*Coping with expanding nursing practice, knowledge, and technology.*  
Aviat Space Environ Med. 50 (10), 1073-1075.
- 5. McLeod M. (2007):**  
*Culturally diverse Malayan milieu : experiences and perceptions of RAANC nurses 1955-1960.*  
Collegian. 14 (3), 27-31.
- 6. Biendermann N. (2002):**  
*Experiences of Australian Army Theatre nurses.*  
AORN Journal. 75 (2) 335-340,342,345-346.
- 7. Silverstein CM. (2008):**  
*From the front line to the home front : a History of the development of psychiatric nursing in the U.S. during the World War II era.*  
Issues Mental Health Nursing. 29 (7), 719-737.
- 8. Dittmar SS, Stanton MP, Jezewski MA, Dickerson SS. (1996):**  
*Image and sensation of war : a Common Theme in the History of military nursing.*  
Health Care Women Int. 17 (1), 69-80.
- 9. Scannell-desch EA. (2005):**  
*Lesson learned and advice from Vietnam war nurse : a qualitative study.*  
Journal of Adv Nurse. 49 (6), 600,6007.
- 10. Harper P. (2006):**  
*No pain, no Gain: pain behavior in the armed forces.*  
Br Journal of Nursing. 15(10), 548-551.



- 11. Rumbaugh JR. (1998):**  
*Operation Pacific heaven: humanitarian medical support for Kurdish evacuees.*  
Militar Medicine. 163 (5), 269-271.
- 12. Parson JA, Fallaccaro MD, Pellegrini JE. (2009):**  
*Perceived deprivation in active duty military nurse anesthetists.*  
AANA Journal. 77 (1), 42-48.
- 13. Smith SD, Smith KA. (1995):**  
*Perioperative perspective of a United Nations humanitarian mission.*  
AORN journal. 62 (6), 875-883.
- 14. Nayback AM. (2009):**  
*PTSD in the combat veteran : using Roy's Adaption Model to examine the combat veteran human adaptive system.*  
Issue Mental Health Nurse. 30 (5) 304 – 310.
- 15. Hobbs K.(2008):**  
*Reflections of the culture of veterans.*  
AAOHN Journal. 56 (8), 337 – 341.
- 16. Scannel-Desch E.(2000):**  
*The culture of war : a study of women military nurses in Vietnam.*  
Journal of Transcultural Nurse. 11 (2), 87-95.
- 17. Scannel-Desch EA. (1996):**  
*The lived experience of women military nurses in Vietnam during the Vietnam War.*  
Image Journal nurse School. 28(2), 119 -124.
- 18. Vane B, Singleton CJ.(1996):**  
*Transcultural perioperative nursing in Berlin.*  
AORN Journal. 63 (3) 539-544.
- 19. Hemmings L. (1996):**  
*Vietnam memories : Australian Army nurses, the Vietnam war, and oral history.*  
Nurse England. 3(3), 138 – 145.
- 20. Gary ML;Patrician P et al. (2012):**  
*Comparasion of nurse burnout across army Hospital Praticte Environments.*  
Nursing Scholarship 44.3, 274-283.
- 21. Gibbons S, Hickling E et al.(2011):**  
*Combat sressors and post-traumatic stress in deployed military in healthcare professionals : an integrative review.*  
Journal of advanced nursing 68(1), 3-21.
- 22. Carter C. (2011):**  
*A Life Changed Forever: an Army Nurse Partners in nurse Anesthetist's Experience in Afghanistan, 07, 168.*
- 23. Scannel-Desch E.,Doherty ME.(2010):**  
*Experience of US Military nurses in the Iraq and Afghanistan Wars, 2003-2009.*  
Journal of Nursing scholarship 42:1,3-12.
- 24. Lenninger M.2004.**  
*Infermieristica trans-culturale.*  
Casa editrice Ambrosiana.49.
- 25. Edward B. Taylor, 1871.**
- 26. Santoli Al:**  
*Everything we had :an oral history of the Vientam War, New York.*  
Ballantine Books 1985.
- 27. Jones, B., & Janello, A. (1987):**  
*The wall: Images and offerings from the Vietnam Veterans Memorial.*  
New York: Collins.
- 28. Lopes S; Norman M (1987):**  
*The wall: Images and offerings from the Vietnam Veterans Memorial London:*  
Collins



# ABSTRACTS BOOK

**INTERNATIONAL  
CONFERENCE:  
CIVIL MILITARY  
COOPERATION  
IN TRAUMA AND  
COMBAT TRAUMA  
SYSTEM EDUCATION  
AND TRAINING**

**September 26 - 27, 2013  
Nunziatella military school,  
Naples- Italy**



© Presidente del Comitato Organizzatore:  
Brig. Gen. Dr. Nicola SPERANTONI (CMO)

Il Comitato della Conferenza:  
Dr. Giuseppe MONTI (CMO) - CMDO  
Brig. Gen. Dr. Giuseppe SPERANTONI (CMO)  
Col. Roberto BIANCHI (CMO) - CMDO



## Welcome Message

Dear Colleagues,

It is my honor and pleasure to extend you an invitation to attend the International Conference "Civil Military Cooperation in Trauma and Combat Trauma System Education and Training".

This Conference is organized by the Army Logistics Command Department of Health, Rome and the International Disaster Medicine Association (IDMA), in collaboration with A.O.R.N. "A. Cardarelli", Naples, A.O. Hospital "Niguarda Ca'Granda" - Trauma Team, Milan, Maggiore Hospital, Emergency Department, Bologna, University of Modena and Reggio Emilia, School of Medicine, Military Academy of Modena, US Naval Forces Europe Medical, Naples, NATO Allied Joint Force Command Headquarters, Medical Division, Naples and Policlinico Militare "Celio", Rome, Health and Veterinary Services Studies and Researches Centre, Rome, to be held in Naples, at the Nunziatella Military School, on 26th and 27th September 2013.

This Conference is an excellent opportunity for civilian and military medical personnel to share and exchange information and experiences in the tutorial and training either in Combat Trauma and Trauma Systems establishment and development and Medical Support and Management in case of calamities.

We look forward to welcoming you in Naples.

Yours sincerely,

**Head of the Health Department,  
Army Logistics Command, Rome**  
BG Dr Nicola Sebastiani, MD

**President of the International Disaster  
Medicine Association, Naples**  
Dr Giuseppe Noschese, MD

## Honorary Committee

### President of the Conference

***MG Dr Francesco Tontoli, MD***

Deputy Commander and Health Department Head, Italian Army Logistics Command, Rome, Italy

### Honorary Presidents of the Conference

***LTG Dr Federico Marmo, MD***

Inspector General of the Military Health, Defence General Staff, Rome, Italy

***Prof Francesco Rossi***

Rector Second University Naples (SUN), Naples, Italy

***Prof Aldo Tomasi***

Rector University of Modena and Reggio Emilia, Modena, Italy

***Avv Rocco Granata***

General Manager, A.O.R.N. "A. Cardarelli", Naples, Italy

### Scientific Committee

***BG Dr Nicola Sebastiani, MD***

Head of the Health Department, Army Logistics Command, Rome, Italy

***Dr Giuseppe Noschese, MD***

Responsible for Trauma Patient Management in A.O.R.N. "A. Cardarelli", Naples, Italy - President, International Disaster Medicine Association (IDMA)

***Col Dr Rostislav Kostadinov, MD, PhD***

Deputy Medical Advisor/Medical Plans&Ops Staff Officer, Allied Joint Force Command Headquarters, Naples, Italy

***BG Dr Renzo Mattei, MD***

Vice President, International Disaster Medicine Association (IDMA), Naples, Italy

***Prof Osvaldo Chiara, MD***

Trauma Team Head "Niguarda Ca' Granda" Hospital, Milan, Italy



## **Organizing Committee**

***BG Dr Nicola Sebastiani, MD***

Head of the Health Department, Army Logistics Command, Rome, Italy

***MAJ Massimiliano Mascitelli***

Health Department, Italian Army Logistics Command, Rome, Italy

***WO Antonio De Michele***

Campania Army Command, Naples, Italy

***Mr Lorenzo de Gennaro***

Poliambulatory of Campania Army Command, Caserta, Italy

## **Conference Coordinators**

***Dr Giuseppe Noschese, MD***

Responsible for Trauma Patient Management in A.O.R.N. "A. Cardarelli", Naples, Italy - President, International Disaster Medicine Association (IDMA)

***BG Dr Renzo Mattei, MD***

Vice President, International Disaster Medicine Association (IDMA), Naples, Italy

***Col Dr Rostislav Kostadinov, MD, PhD***

Deputy Medical Advisor/Medical Plans&Ops Staff Officer, Allied Joint Force Command Headquarters, Naples, Italy



## ABSTRACTS LIST

**Combat Trauma/Disaster Medicine educational training for the Italian Army**  
*BG G. Mammana, MD*

**Disaster Medicine and Military Medicine similarities with Combat Trauma and Trauma System**  
*Col Dr Rostislav Kostadinov, MD, PhD*

**NATO crisis management and disaster response centre of excellence**  
*Col Dimitar DIMITROV PhD*

**Trauma System educational challenges - italian experience** (Abstract non disponibile)  
*Prof. A. Barbarisi, MD*

**Medical intelligence in the trauma system and combat trauma system education**  
*Col Dr Rostislav Kostadinov, MD, PhD; Dr Giuseppe Noschese, MD;  
LTC Georgi Popov, MD, PhD*

**International disaster medicine association survey results regarding military personnel medical preparedness in case of disasters**  
*BG Dr Renzo Mattei, MD; Dr Giuseppe Noschese, MD;  
Col Dr Rostislav Kostadinov, MD, PhD*

**The first ever real cooperation between the civilian HEMS and military SAR forces during a mass catastrophe in Hungary**  
*Dr Peter Turi, MD*

**NATO medical staff officer required qualifications**  
*Col Dr Rostislav Kostadinov, MD, PhD; LTC Dr Peter Vekszler, MD;  
Col Alexander Parashkevov, MD, PhD*

**Vascular surgery in emergency situation: an essential asset**  
*Prof Dr G. Coppi, MD*

**Military Medical Academy Sofia experience in disaster medicine/trauma system education**  
*Col Dr Rostislav Kostadinov, MD, PhD; Col Prof Dr Evgeni Belokonski, MD, PhD, DSc;  
Col (ret) Prof Dr Kamen Kanev, MD, PhD, DSc*

**The Effectiveness of Simulation in Medical Emergency. First Results of Training Project's Proof-of-Concept. The MITAKA Project**  
*BG F. Orsini, MD*

**Balkan Medical Task Force – an example for Civil-Military Medical Cooperation on field of Disaster Medicine**

*Col N. Zec, MD*

**Ready for take off? A theoretical concept to harmonise the civilian HEMS and military SAR activities in Hungary**

*Dr P. Turi, MD*

**International disaster medicine association survey results regarding physicians' medical preparedness in case of disasters**

*Dr G. Noschese, MD; Col Dr R. Kostadinov, MD, PhD; BG Dr R. Mattei, MD*

**Pediatrics for emergency**

*Col A. Masetti, MD*

**Military ambulances function and capabilities in operation, in training and in exercises, in peace time**

*Col M. Tirico, MD*

**Italian Campania Region environmental pollution – Health Challenges and possible Medical Response**

*Ing G. Mocerino*

**Syrian Conflict and Terrorist Threat**

*Dr E. Karmon, PhD*

**EU and the Creation of a Weapons of Mass Destruction Free Zone in the Middle East**

*Amb. C. Risi*

**International Cooperation and Advanced Surgical Training: a synergy**

*Dr S. Cozzolino*

**Traumatic hemorrhagic shock: the therapeutic approach**

*Dr. Antonio Brillantino, MD, PhD*

**Advanced biomaterials: focus on new materials for trauma technology**

*G. Pitingolo, MD*

**Endovascular Treatment of Thoracic Aorta Trauma**

*Accarino G.C.; Fornino G.; D'Alessandro A; D'Alessandro Al;*

*De Vivo S.;Lao Martinez M.; Nicoletta G.*

**Regenerative surgery and traumatic injuries: present and future of stem cells**

*Dr A. Almadori, MD*

**Acute Acoustic Trauma: How Do It**

*C. Michele, P. Annalisa, O. Flavia, S. Pasquale, R. Filippo, N. Domenico*

**Laryngeal external traumas: arytenoid dislocation**

*Angelo Papa, Gaetana Manzo, Flavia Oliva Monica*

**Facial Paralysis in Petrous Bone Trauma : How Do It**

*F. Ricciardiello, A. Pianese, T. Abate, V. Indolfi, I. Ferranti, F. Oliva, A. Napolitano*

**Splenic trauma management**

*Simona Ruggiero, MD*

**Penetrating Injuries of the Chest: A Case Report**

*P. Arganese, MD*

**Damage Control Surgery**

*M. Rutigliano, MD, S. Reggio, MD*

**Niguarda Trauma Center: hub for the severely injured ABA of Milano urban area** (Abstract non disponibile)

*Prof. O. Chiara, MD*

**Education for major emergencies - the Bologna experience** (Abstract non disponibile)

*G. Tugnoli, MD*

**Possible buildup of the clinical competence in emergency in students of medicine today in Italy?** (Abstract non disponibile)

*Prof. P. Ventura, MD*

**International disaster medicine association survey results regarding participants preferences on educational and training courses**

*Col Dr R. Kostadinov, MD, PhD; Dr. Noschese, MD; BG Dr. R. Mattei, MD*

**Rapid detection for biological warfare agents and unusual pathogens in combat assets**

*Cpt F. Spagnolo, RPh*

**Buid of specific competence for military medical doctors; the experience of academy of Italian Army in Modena**

*Col G. Masia, MD*

**The Military Corps of the Sovereign Military Order of Malta: activities, roles and interaction with the Italian Army.**

*Dr V.D. Bianchi, MD; Dr G. Saviano, MD*

**Infectious diseases in disaster medical education – necessity and significance**

*Col Dr A. Parashkevov, MD, PhD; Col Dr R. Kostadinov, MD, PhD;  
LTC P. Georgi, MD, PhD*

**Trauma training and education** (Abstract non disponibile)

*Prof. O. Chiara*

**Preparing the United States Naval Hospital Naples - Italy - for disaster** (Abstract non disponibile)

*Mr. M. Quinn*

**Electronic Health Records: from the field to role/echelon 4**

*Alberto Lai M.D.*

**Training of Military Medical Personnel to Deployment in Operational Areas, the Experience of Italian Navy “Combat Medicine Course”: Evolution Present and Future Prospects**

*CDR Dr F. Fracasso, MD; RA Dr R. Vigliano, MD*

**Education and training of military staff and preparation of the Military CRI units in the period 2013-2014**

*Ten. med. CRI F. RISPOLI, MD; Magg. com. CRI V. BADALONE;  
Ten. Col. Med. CRI R. TRIPODI, MD; Dr. Maria SCALA, MD;  
Magg. Gen. CRI G. LUPINI, MD*

**Tactical Medicine: analysis of the new orientations for military and civilian training**

*S. Ten. med. CRI Salvatore PAUCIULO, MD; Ten. med. CRI Fabio RISPOLI, MD;  
Dr. Maria SCALA, MD; Ten. Col. med. CRI Romano TRIPODI, MD;  
Magg. Gen. CRI Gabriele LUPINI, MD*

**Title: Combat Trauma/Disaster medicine educational training for the Italian Army**

**Author: BG G. Mammana, MD**

**Institution:** *Army Medical and Veterinary Research Centre, Deputy Commander, Rome, Italy*

The evolution of specialized medical training in the areas of emergency medicine at the national level has been much affected by local conditions or specific requirements related to particular work areas. The Italian situation, therefore, allowed the achievement of excellence in many areas that are not properly interdisciplinary and are characterized by standard procedures that are difficult to integrate.

This general premise is valid in civil, found similar evidence in the military, where, having regard to the type of environment and employment, each Italian armed force has developed its own protocols and packages of capacity, while maintaining a common denominator: the state of alert about the threat summed up by the words of the title, "trauma/disaster."

At present, emergency medicine, being bound to specific situations, lacks of effective communication, preventing operators from different backgrounds to interact in a synchronous manner, as if they were operating in a tower of babel. For this reason and because of the changing balance of geopolitical sphere of the modern era, especially in Europe, it has been necessary the reconfiguration of health activities related to the management of emergency and disaster medicine, which has been interpreted according to the European reality involved, including therefore the educational sphere, regardless of their area of origin (civil, military...).

Among the models already present in European stand the French and Spanish, for example, here taken as expressing clearly the concept that the emergency is the same for all operators, whether military or civilian, must be able to operate interchangeably. During the training the French military medical doctors are coordinated by the "Ecoles des Armees du services" Lyon and Bordeaux to attend civilian universities and graduate schools spread at home and abroad (Djibuti, Dakar...). In addition, specific training courses "Cours en



avance'de surgeries mission exterieure" and " Ecole du Val de Grace" allow training in areas normally considered niche but important if contextualized in an emergency. The Spanish organization, unique in Europe, provides a regiment of health always ready and immediately deployable wherever required with a notice of less than 6 hours.

The condition described above requires a revolution in the formation and management of health care professionals involved in extreme situations of "trauma / disaster". In fact, attendance at university and post-graduate courses is not sufficient to ensure the learning and the stratification of knowledge and mechanisms underlying health emergency. In addition to higher education, it is imperative that the operator of the emergency care is involved in continuous updating activities, training, discussion and exchange also carried out at foreign homologous structures in order to standardize procedures and making it ready to operate synchronously everywhere in a capillary.

The creation of a single national register would allow continuous control over the training of health workers, as well as their rational activation.

**Title: Disaster Medicine and Military Medicine similarities with Combat Trauma and Trauma System**

**Author: Col Dr Rostislav Kostadinov, MD, PhD**

**Institution:** *Military Medical Academy, Sofia, Bulgaria*

**Introduction:** Combat Trauma and Trauma Systems are designed to provide better organization and resources for provision of prompt and efficient response to situations that differs significantly from the daily medical activities. Both disaster and military medicine are studying, developing and implementing standing operating procedures that improve the medical support to casualties in austere and hostile environment where the available medical means and capabilities are in disparity with the required.

**The aim** of this study is to present the similarities between Disaster and Military Medicine education and training with the requirements towards Combat Trauma and Trauma Systems education and training.

By the means of descriptive and comparative methods the education and training processes were described and compared. Deductive analysis was applied in order to depict the main areas where the processes coincides or could enhance each other.

**As a conclusion** the author presents an overview regarding possible cooperation in training and education between the Disaster Medicine, Military Medicine, Trauma System and Combat Trauma System.

**Key words:** Disaster Medicine, Military Medicine, Trauma System and Combat Trauma System, Education and Training.

**Contact:** Dr Rostislav Kostadinov, MD, PhD  
Colonel, BGR A  
Email: rostikosti@abv.bg



**Title: NATO crisis management and disaster response centre of excellence**

**Author: Col Dimitar Dimitrov PhD**

New risks, challenges and threats in the global security environment require an adequate security policy to protect the modern world. NATO Smart Approach to defence is aimed to develop and implement new capabilities for improving collective security while reducing costs. The long-time established NATO practice of collective knowledge and capability building and sharing is relevant to all Nations, and it is vital for the Alliance's interaction with other major players.

The current economic crisis as well as the lessons learned from Allied operations urged NATO to adopt a number of smart strategic approaches to the practice of capability building. One of the major tasks of the 2010 Strategic Concept commits the Alliance to "prevent crises, to manage conflicts and stabilize post-conflict situations, including by working more closely with international partners, most importantly the United Nations and the European Union". Crisis management is the broadest NATO operational area that indicates the need of developing "NATO modest civilian capability" to interface more effectively with other International Organisations.

For the execution of one of Alliance's core tasks – Crisis Management, NATO set the priority to develop both military and civilian capabilities for effective crisis and emergency prevention and management. Responding to the need of support to crisis management and disaster response (CMDR) capability building, the Republic of Bulgaria became a Framework Nation for the establishment of a Crisis Management and Disaster Response Centre of Excellence (CMDR COE). The establishment of CMDR COE was declared by the President of the Republic of Bulgaria at the Lisbon Summit. The execution of the project follows established procedures coordinated with NATO ACT. In the context of the need of prioritization, specialization and cooperation, and to help fill a gap in collective capabilities building for crisis and emergency management, Bulgaria establishes a new NATO Centre of Excellence. \* NATO CRISIS MANAGEMENT AND DISASTER



RESPONSE COE is located in Bulgarian capital Sofia.

**The GUIDING PRINCIPLES embodied in the CMDR COE CONCEPT are:**

- OPEN FOR NATO NATIONS & PARTNERS
- JOINT, MULTINATIONAL, INTERAGENCY
- ADDED VALUE WITHOUT DUPLICATION
- FOCAL POINT OF CMDR COE COMMUNITY OF INTEREST
- SHARING OPERATIONAL COST AMONG SPONSORING NATIONS
- BASED ON MC APPROVED CRITERIA FOR ACCREDITATION
- NATO NAC DECISION – INTERNATIONAL ORGANIZATION
- CONFORM TO NATO PROCEDURES, DOCTRINE AND STANDARDS
- CLEAR FUNCTIONAL CONNECTIONS

**THE VISION OF THE CENTRE** is to become an internationally recognized and respected body, which contributes significantly to research, building and development of NATO, nations and partners' crisis management and disaster response military and civilian capabilities. \*

**THE MISSION OF THE CENTRE** is to act as the catalyst for improvement of NATO, nations and partners capabilities in crisis and disaster response operations through collaborative partnerships. \*

**THE GOALS OF THE CENTRE ARE:**

- a. To become NATO's transformation hub of expertise in the crisis management and disaster response area;
- b. To enable close cooperation between NATO and International Organisations within the agreed frameworks, in the development of an international collaborative partnership approach to the building of crisis management and disaster response capabilities. This requires the effective application of both military and civilian means;
- c. To apply a comprehensive approach in support of NATO, Nations and partners' military and civil capability building by:
  - Improving knowledge management and developing and sharing analysis and lessons learned;
  - Promoting the effective sharing and application of civil and military best practices in crisis and disaster response operations;

- Supporting the improvement and application of crisis response measures;
  - Providing education and training to Nations and partners' personnel in line with NATO's crisis management and disaster response policy, Standards, Tactics, Technics and Procedures.
  - To be an internationally recognized focal point for a Community of Interest in the area of crisis management and disaster response;
- d. To foster continuous self-development of the CMDR COE by conducting results-oriented research, studies, experiments, analysis, education and training, as well as by applying lessons learned and best practices;
- e. To harmonize military and civilian capabilities for conducting exercises and experiments by defining and developing scenarios, programmes and tools in close cooperation with the Community of Interest. \*

#### **THE PRODUCTS MAID OF THE CENTRE ARE FOLLOWING:**

- COURSES
- WORKSHOPS
- SEMINARS
- SYMPOSIA
- STRATEGIC DOCUMENTS
- RESEARCHES
- KEY STUDIES
- ANALYSES
- MEDIA PRODUCTS

#### **CMDR COE ORGANIZATION**

CMDR COE will be a multinational, interagency, joint, military and civilian, MOU-based organisation with Sponsoring Nations and the Framework Nation, the Republic of Bulgaria, represented by the Ministry of Defence. Pursuant to CM(69)-22 and in co-ordination with HQ SACT, the FN will apply for the NAC to activate it as a NATO Military Body and grant it international status under Article XIV of the Paris Protocol.

The major elements of CMDR COE organisation are:

- a. The Steering Committee

- b. Director;
- c. Deputy Director;
- d. Secretariat;
- e. Education and Training Branch;
- f. Transformation Branch;
- g. Capabilities Branch;
- h. Support Branch.

Under the CMDR COE Operational MOU, a Steering Committee (SC) will be established by the SNs under the permanent chairmanship of the FN. The Director of CMDR COE will report only to the SC. The SC will provide direction, guidance and advice to the Director of CMDR COE for the effective execution of his mission including the Centre's management.

There is no direct command and control relationship between CMDR COE and NATO Command Structure. Nor is there any command and control relationship between the FN and the CMDR COE.

So far, sponsoring nation, except Bulgaria are THE HELLENIC REPUBLIC and REPUBLIC OF POLAND The core competencies of the Centre determine its place in the National, Allied and International Security Systems. The building of a NATO CMDR COE reflects Bulgaria's priority to support NATO by forming an inclusive body of specialized expertise of the institutions and science. It will serve as an intellectual platform for generating and managing knowledge and expertise as well as a focal point for community interest in the subject area.

In Allied environment, the centre will be a part of a common capability building organization, designed to specialize in one of Alliance's contemporary strategic priorities. In International format, the centre will be a focal point for communication, cooperation and collaboration of specialized subject matter knowledge and expertise for the International Organizations, NGOs, universities and research centres, business organizations.

A NATO COE is Smart Defence in action, there are many benefits from joining the NATO CMDR COE, but the principle reason to join would be the significant cost saving over maintaining your own national capabilities. The costs are shared which means that the NATO CMDR COE infrastructure, initial equipment and support staff, are provided by the Ministry of Defence of the Republic of Bulgaria. Other costs are shared between sponsoring partners, significantly



reducing the cost to any individual nation whilst retaining the complete value of the centre's work for all:

- **ADDED VALUE THROUGH PARTICIPATION:** Through joining us as a Sponsoring Nation of the COE, nations will be able to realize many benefits, including:

- **ACCESS TO MULTINATIONAL EXPERTISE** – the CMDR COE membership will provide access to the collective knowledge of the Centre, including the results of studies, COE products and lessons learned.

- **DIRECT INFLUENCE ON COE'S PROGRAMME OF WORK** Sponsoring Nations will be able to shape the centre's annual programme of work through the Centre's steering committee.

This gives the opportunity to align the centre's work with national requirements and to support your nation's capability development

- **ACCESS TO EDUCATION AND TRAINING** - The Centre will be providing free courses to Sponsoring Nations' personnel. This is an additional mechanism for transferring knowledge for the benefit of national projects. Non-sponsoring nations will be required to pay course fees.

- **INCREASED INTEROPERABILITY IN THE AREA OF CMDR** - Collaboration both multi-nationality and with industry and academia, is a fundamental aspect of all CMDR Products, increasing the inherent interoperability of all products through the daily interaction of multi-national experts.

**In conclusion:** the main benefits from this project will help fill the gaps in collective CMDR capability. CMDR COE highlights a Tier I priority to establish a recognized subject matter focal point for expert Community of Interests that is attractive for all NATO Nations and Partners. For NATO and CMDR COE Sponsoring Nations it means more common ways and capabilities for Crisis and Emergency Management, both civilian and military, based on proved Allied policy and standards.

You can find more about the CMDR COE by visiting our web site. Please do not hesitate to contact us when you have any questions or need of information. We have POCs in NATO HQ, and ACT. Contact information is provided on the slide. We are expecting all of you to visit the CMDR COE and to participate in its activities.

**Title: Medical intelligence in the trauma system and combat trauma system education**

**Authors: Col Dr Rostislav Kostadinov, MD, PhD<sup>1</sup>;  
Dr Giuseppe Noschese, MD<sup>2</sup>; LTC Georgi Popov, MD, PhD<sup>1</sup>**

**Institution:** <sup>1</sup>*Military Medical Academy, Sofia, Bulgaria*  
<sup>2</sup>*AORNA "A.Cardarelli", Naples, Italy*

**Introduction:** Trauma and Combat Trauma Systems objective is to provide the best and the rapidest possible medical support to the casualties, within available medical means and capabilities.

While the significance of simplified medical techniques and standard operating procedures teaching and training is not questioned, the medical intelligence procedures are frequently judged as something part of the daily medical activities, therefore well-known and not required in the curriculum of Combat Trauma and Trauma System educational and training courses.

**The aim** of this study is to present the importance of thoroughly performed Medical Intelligence in the Trauma and Combat Trauma system tutorial processes.

By the means of descriptive and comparative methods the inputs required by the Medical Intelligence for assuring the efficiency and the safety of the performed Trauma and Combat Trauma systems medical activities were analyzed. Deductive analysis was applied in order to depict the main Medical Intelligence knowledge and skills to be inserted in the respective tutorials programs.

**As a conclusion** the authors highlighted the requirement for Medical Intelligence education and training for better preparedness and readiness of the both Trauma and Combat Trauma Systems.

**Key words:** Trauma and Combat Trauma Systems; Medical Intelligence, Training and Education.

**Contact:** Dr Rostislav Kostadinov, MD, PhD  
Colonel, BGR A  
Email: rostikosti@abv.bg

**Title:** International disaster medicine association survey results regarding military personnel medical preparedness in case of disasters

**Authors:** BG Dr Renzo Mattei, MD; Dr Giuseppe Noschese, MD;  
Col Dr Rostislav Kostadinov, MD, PhD

**Institution:** IDMA

**Introduction:** International Disaster Medicine Association (IDMA) is a non profit international organization with main objective to provide forum for discussions, education and training on various disaster medical support issues in order to ameliorate disaster medical preparedness of population as a whole and of specific groups of society.

From March to August 2013 IDMA performed survey regarding the individual perception about readiness and preparedness for survival and assistance to the medical support in case of disasters.

The set goal of this survey was to evaluate the status of community preparedness and the need of specific focused courses on disaster medical support.

**The aim** of this publication is to present the survey results regarding the military personnel medical preparedness in case of disasters.

By the means of the descriptive method the obtained results regarding military personnel basic disaster medical support knowledge and skills and medical information exchange are presented. Comparative method and deductive analysis were applied in order to analyze the military personnel readiness to assist to the disaster medical support to the affected population.

**As a conclusion** Authors are presenting analysis of the military personnel disaster medical preparedness self evaluation.

**Key words:** International Disaster Medicine Association; Disaster Medical Preparedness, Medical Information Exchange, Disaster Medical Support.

**Contact:** Dr Rostislav Kostadinov, MD, PhD  
Colonel, BGR A  
Email: rostikosti@abv.bg

**Title: The first ever real cooperation between the civilian HEMS and military SAR forces during a mass catastrophe in Hungary**

**Author: Dr Peter Turi, MD**

Over the last decades the civilian HEMS and the SAR service provided by the Hungarian Air Force have operated parallel, next to each other. Despite the fact that from time to time there have been mutual exercises (1-2 annually) operations remained sporadic.

While the HEMS performed many thousand primary and secondary missions the SAR activity was limited to trainings and technical support (eg. flying sandbags) during rare natural disasters like floods.

With the modernisation process of the civilian HEMS service the dialogue has also started between the two relevant organisations.

Theoretical preparations between 2006 and 2010 resulted that the very basics of a practical cooperation during an acute danger situation were established.

And on the 4th of October, 2010 the time has come. During a long afternoon 4 civilian HEMS and 2 military (SAR + transport) helicopters have flown the first ever acute rescue mission in west Hungary providing medical care and airlift for 29 people with chemical burns, flying them to 4 different cities.

The study will tell the story, draw the consequences and give some considerations for the future.



**Title: NATO medical staff officer required qualifications**

**Authors: Col Dr Rostislav Kostadinov, MD, PhD; LTC Dr Peter Veksler, MD; Col Alexander Parashkevov, MD, PhD**

**Institution: NATO JFC HQ Naples, Italy**

**Introduction:** After the Berlin Wall fall the objectives and scope of NATO activities have been significantly changed and enhanced. A new horizon as a support to or performing humanitarian missions and disaster relief missions are becoming part of NATO forces possible engagements. Related to the missions and goals the requirements towards medical staff officers have significantly changed.

As the training of staff officers assigned to NATO medical positions is sending nation's responsibility, the new requirements related to the objectives have to be studied.

**The aim** of this study is to present some of the basic medical and staff work knowledge and skills medical officers have to be trained to prior their appointment to NATO Command Structure medical staff officer positions.

By the means of descriptive method the daily activities in NATO Joint Force Command Headquarters Naples Medical division were escribed. Comparative method and cluster analysis were applied in order to define what knowledge and skills are required to meet the medical staff officer requirements.

**As a conclusion** the Authors highlighted the requirement for extensive training program for medical officers prior their appointment to NATO command structure medical positions.

**Key words:** NATO Transformation, Comprehensive Approach, Staff Officer Qualification.

**Contact:** Dr Rostislav Kostadinov, MD, PhD  
Colonel, BGR A  
Email: rostikosti@abv.bg



**Title: Vascular surgery in emergency situation: an essential asset**

**Author Prof Dr G. Coppi, MD**

**Introduction:** Arterial and venous disruption in war trauma is associated to a high rate of death and amputation. Appropriate and rapid vascular intervention procedures are essential in reducing the incidence of these dreadful outcomes.

The largest experience in repair of traumatic vascular injuries was obtained during Vietnam war. For the first time, promptly evacuation of wounded soldiers (through extensive use of helicopters), rapid diagnosis (also through the introduction of continuous-wave Doppler sonography) and correct reconstructive treatment resulted in a major reduction of death and amputation rate.

These findings are reported in detail in the masterpiece work of Norman M. Rich and have become the fundamentals of modern vascular traumatology. Furthermore, in last decades it was assessed the importance of establishing dedicated guidelines for management of war vascular injuries.



**Title: Military Medical Academy Sofia experience in disaster medicine/trauma system education**

**Authors:** Col Dr Rostislav Kostadinov, MD, PhD; Col Prof Dr Evgeni Belokonski, MD, PhD, DSc; Col (ret) Prof Dr Kamen Kanev, MD, PhD, DSc  
**Institution:** *Military Medical Academy, Sofia, Bulgaria*

**Introduction:** Military Medical Academy (MMA) Sofia has been established more than 120 years ago. During its more than century history the established garrison hospital has evolved to medical installation with scientific and educational activities focused not only to military medical specialists.

Responding to the contemporary demands the MMA nowadays is one of the leading medical educational centers of Republic of Bulgaria. Special emphasis, along with clinical specialties, is given to the organizational graduation programs as medical management, medical planning, disaster medicine, field surgery, preventive medicine etc.

**The aim** of this publication is to present the experience of MMA in the disaster medicine and Trauma and Combat Trauma System education.

By the means of descriptive method the tutorial activities education and training, aimed at formation of specialist able to plan, organized and manage medical support in extreme circumstances are presented. Comparative method and cluster analysis were applied in order to analyze how the implemented tutorial programs are responding to the educational requirements.

**As a conclusion** the Authors discussed possible means for improving the ongoing tutorial process.

**Key words:** Military Medical Academy, Disaster Medicine Education and Training, Combat Trauma System Training, Military Medical Detachment for Emergency Response, Chair Disaster Medicine and Toxicology

**Contact:** Dr Rostislav Kostadinov, MD, PhD  
Colonel, BGR A  
Email: rostikosti@abv.bg

**Title: The Effectiveness of Simulation in Medical Emergency. First Results of Training Project's Proof-of-Concept. The MITAKA Project**

**Author BG Dr F. Orsini, MD**

**Institution:** *Health and Veterinary Centre of Studies and Research, Rome, Italy*

The Medical and Veterinary Military School of Rome is the only medical training centre recognized by the Italian Army General Staff and defined as the leader centre in training by the Defense Staff. For approximately 5 years the School has performed advanced simulations to train medical personnel operating, above all, in extreme conditions. The School has an indoor simulation area of 3,000 m<sup>2</sup> provided with realistic scenarios (armored vehicles, helicopters, training surgical room, etc.); the simulation area is designed for medical rescue training in combat area through cutting edge technologies, often designed by the School itself.

During these 5 years 3000 soldiers , 300 medical officers / S.U. and 700 "soccorritori militari" (i.e. combat medics) - have tackled the trial of advanced simulation areas.

A proof-of-concept has been conducted on the actual effectiveness of such training model; the report summarizes methods and results of the study. Furthermore, the newest innovations in the field, presently in use at the School, are described: the F.A.I. (i.e. Interactive Distance Learning) and, above all, the M.I.T.A.K.A. - the new experimental equipment for both training and operational employ.

**Discussion** Identification of specific tasks should be accomplished sequentially from the battlefield, through the field hospital, up to third-level military or civil hospital.

It should be also noted that, at the present, the progress of medical technology allows wider possibilities of diagnosis and treatment right in field hospitals, where it's now possible to use compact duplex ultrasound, computed tomography and portable C-arms systems. Moreover, the use of this equipment allows even not thoroughly experienced surgeons to perform vascular and endovascular procedures, with eventual remote support of vascular experts through telemedicine.

The same experience derived on the battlefield could be applied to the civilian setting, where the involvement of blood vessels in gunshot wounds is common, with vascular traumatology becoming an important issue in emergency medicine. Specific to urban emergencies is also the occurrence of natural catastrophes like earthquakes, as it has recently happened in the area surrounding Modena in 2012. Our experience confirmed that, in these situations, vascular involvement seems to be less relevant in emergency, as the most frequent event is crush syndrome. Crush syndrome treatment first requires appropriate intensive care support while vascular involvement (mainly deep vein thrombosis and subsequently pulmonary embolism) tends to develop later.

**In conclusion**, the presence of vascular surgery units in military hospitals is mandatory due to the large involvement of blood vessels in war traumas. Only rapid and appropriate treatment of injured vessels can reduce the risk of death and especially of amputation, which has a tremendous impact on the quality of life of otherwise young and healthy people. Military surgeons, at our advice, should receive a dedicated training in vascular surgery to better cope with requirements of their important role.

**Title: Balkan Medical Task Force – an example for Civil-Military Medical Cooperation on field of Disaster Medicine**

**Author: Col Dr Nikola Zec, MD**

**Institution:** *Military Medical Academy, Belgrade, Serbia*

**Introduction:** One of the key objectives of regional cooperation is synchronization of valuable resources, experiences and knowledge, therefore an integrated concept offers an added value and mutual benefits to our common efforts.

**Aim:** To establish a regional military medical capacity, able to give rapid response to a broad specter of situations, from natural disaster to international operations.

**Purpose:** Enhance and enable national medical capacities to operate within the framework of an regional multi-national unit. Strengthen the regional military medical capability to support the civilian community. Enable the national military medical services to build up standardized capacities, with a high level of interoperability within the region.

**BMTF Concept:**

- Module based deployable military medical unit.
- Mission tailored for a broad spectrum of static operations.
- Multi-national manning and subunits, down to teams.
- NATO standardized (NATO CREVAL program/ AMedP-27).
- Lead nation for the unit will be on a rotational basis.
- Will have a ready and operational organization (CO/HQ).

**Standby**

subunits will be located in national home bases.

**Title: Ready for take off? A theoretical concept to harmonise the civilian HEMS and military SAR activities in Hungary**

**Author: Dr Peter Turi, MD**

The civilian HEMS and the Air Force provided SAR services and helicopter operations are still far from each other in Hungary.

While the civilian HEMS had an opportunity to improve its fleet and establish a new concept of operations which resulted a huge development in the profession, the military run SAR is behind with decades in every aspect.

The need to develop the SAR service is evident, the only question is how and when.

The solution is within reach, the cooperation and the wish to do so is a demand by both parties. A theoretical concept was placed on the table of two ministers, however the green light is still missing.

The study will give an overview of a possible cooperation, discussing the every aspects of the profession from the trainings to everyday missions.

**Title: International disaster medicine association survey results regarding physicians' medical preparedness in case of disasters**

**Authors: Dr Giuseppe Noschese, MD; Col Dr Rostislav Kostadinov, MD, PhD; BG Dr Renzo Mattei, MD**

**Institution: IDMA**

**Introduction:** International Disaster Medicine Association (IDMA) is a non profit international organization with main objective to provide forum for discussions, education and training on various disaster medical support issues in order to ameliorate disaster medical preparedness of population as a whole and of specific groups of society.

From March to August 2013 IDMA performed survey regarding the individual perception about readiness and preparedness for survival and assistance to the medical support in case of disasters.

The set goal of this survey was to evaluate the status of community preparedness and the need of specific focused courses on disaster medical support.

**The aim** of this publication is to present the survey results regarding the physicians' medical preparedness in case of disasters.

By the means of the descriptive method the obtained results regarding physicians' basic disaster medical support knowledge and skills and medical information exchange are presented. Comparative method and deductive analysis were applied in order to analyze the physicians' readiness to perform efficient and prompt disaster medical support to the affected population.

**As a conclusion** authors are presenting analysis of the physicians' disaster medical preparedness self evaluation.

**Key words:** International Disaster Medicine Association; Disaster Medical Preparedness, Medical Information Exchange, Disaster Medical Support

**Contact:** Dr Rostislav Kostadinov, MD, PhD  
Colonel, BGR A  
Email: rostikosti@abv.bg

**Title: Pediatrics in emergency**

**Author: Col. Antonio Masetti MD**

**Institution:** *General Inspectorate of Military Healthcare, Rome, Italy*

**Introduction:** When major disasters occur, they are usually followed up by media images of children in situations of strong need. Unfortunately the affected population can rarely take advantage of a rapid and qualified sanitary aid corresponding to our society's level of civilization. Therefore, the basic needs are to "ACT EFFECTIVELY" but also provide a "QUALIFIED AID".

An essential tool allowing us to accomplish such tasks is undoubtedly the PMA - Advanced Medical Post. It is an agile and essential healthcare facility, deployable nearby the disaster area in a very short time (as it is always "on-alert"). PMA tasks are: Victims collection, triage, stabilization of the most severe patients and coordinated evacuation towards a more suitable recovery area.

The AMP activity has to begin within a very short time frame from the warning and it lasts for a period of time up to 24/48 hours. Such time is required for the aid organization (provided by Regional authorities, Civil Protection, ...) therefore to alert, send and set up the **II level PMA** – A more complex health facility, consisting of several specialists and provided with logistics autonomy, which can ensure they remain operative for several days, until the first phase of the emergency Stabilization.

While in the I PMA Level the presence of an emergency surgeon/traumatologist and of an anesthetist is essential, in order to stabilize and evacuate as many injured as possible and in the shortest time possible. The II level PMA requires the presence of a physician pediatrician. His help becomes vital as he has to deal with the younger population.

Pediatricians have been involved in I PMA Level aid with very positive outcomes; nevertheless it is extremely hard to ensure the immediate availability of pediatric specialists. Furthermore the priority need is to "act quickly" which discourages the involvement "a priori" of professionals other than those already mentioned while recognizing the validity of a Pediatrician even in the earliest phases of disaster relief.



The professional skills of a pediatrician employed in a PMA (I and II level) are those of a specialist in emergency able to face, even in difficult environmental conditions, the widest range of pathologic events with few diagnostic and therapeutic supports.

72 hours after the disaster, the PMA (I and II level) has accomplished its tasks: seriously injured patients were evacuated, population received medical care and accommodation in the dedicated facilities (tents, refugee camps, hotels, etc.). At this stage the requests for support don't cease but change.

In order to respond to such important and urgent needs, it is necessary to realize in advance some lines of action which become real in the PASS - Health Social Care Stations. PASS are field facilities structured like a "health-center" providing no-emergency or hospital care.

The PASS are logistically independent, able to operate for long periods. Where possible, they should be connected to link up to the local services and when available, they should employ local medical personnel.

The PASS priority function is to restore the territorial healthcare in order to reduce the effects of the lack of a sanitary structure and its impact on psycho-physical population conditions. It will facilitate the restoration of everyday life. One primary importance role in the PASS is fulfilled by the Pediatrician. He should possibly come from the general practice field, because of the ability to assist adults/elderly people as well as the children, which facilitates family relationships, the foundations of his daily pediatric practice.

Obviously, the PASS as well as the medical and nursing staff employed, should have the intrinsic abilities to respond to primary emergencies - present even during the everyday work but much more frequent and conceivable in camp, or among a population forced to live in a disadvantaged situation.

Careful and qualified first aid training is therefore desirable and necessary for the PASS operators as well as for general practitioners.



**Title: Military ambulances functions and capabilities in operations, in training and exercises, in peace time**

**Author: Col. me t. ISSMI Michele Tirico**

**Institution: NRDC-ITA HQ CCS Div, Solbiate Olona (Va)**

The present study is a contribution to the scientific thought and it developed during ages of deployment in Italy and overseas missions which enriched my professional background with invaluable experiences. Furthermore a constant and constructive contact with civil life allowed me to keep technical skills updated and relevant to reality.

The study won't be a lecture but a matter for reflection and evaluation based on expertise. It won't be a doctrine but the basis for a constructive and sharp discussion. As the past demonstrates, the ambulance issue developed in the military field. All of the first aid organizations were inspired by the Armed Forces employed during the wars.

The relative Peace period of time slowed down the technological development related to such field while started to face the increasing civilian needs. The fulfillment of such needs took to a specific technologic research as well as to interesting innovations. Nowadays Military Healthcare – which gave a big contribution - has to collect updated technical solutions from the civilian sector.

National and regional legislation represent the starting point. Although Military Healthcare could avoid such legislation, the care of military personnel – like of the civilian personnel to whom many interventions are addressed – is a moral obligation

Main sources of law regulating the employment, organization and technical aspects of medical vehicles are: adaptation to international such as UN COE Manual (UNIFIL) as well as standard procedures (Stanag NATO).

In order to standardize equipment and procedures, important national civilian organizations choose technical guidance.

Differences between the civilian and military employment lies far back in the past.

During the past military equipment was considered “disposable” at present the high professionalism along with the new tactical doctrine

exalts the role of soldier – man as a highly qualified figure to save and return as whole as possible to the society.

This is the reason why, at present, the research and the application of the most advanced technological solutions as well as their integration in military sector is a must.

The tactical medical doctrine – minimal in field intervention in favor of the rapidity of injured and unfortunate evacuation towards the nearest ROL (scoop and run) – cannot be applied in all the Areas of Operations.

The travel time as well as MEDEVAC can often be quite long, this can cause a doctrine review and lead to a stay and play. Such a procedure is about starting and performing an infield (or in the proximity) advanced medical treatment which has to be carried on during the evacuation till the ROLE. This procedure along with the scoop and run could be a reasonable solution with the best results achieved.

The intervention and evacuation timing 4 hours rule could be quite generic if considering the triage evaluation done.

All of the injured have to be evacuated by that time. The most important surgeries must be performed close the intervention line. For such a particular task the Clearing Station, was established. It is an advanced surgery unit able to perform stabilization and lifesaving interventions requiring rapidity.

The variety of environmental situations lead to a diversification of mechanical and mobility means (different means for different situations).

Ambulance equipment must be changed and specifications/itemized lists must be treated separately with papers updated at least every 2 years in order to be updated with the new technologies and guidelines.

Ambulances – or medical vehicles - are at the moment employed in both the operational and national environment.

Of high importance is the maintenance and medical vehicles management issue. They cannot be considered pickup trucks with a cargo and medical equipment but as a complex Operational Unity designed to fulfill a purpose. There is a need to entrust the management of medical equipment to joint medical units and Tramat in order to have full management.

The technical development and new item acquisition procedures have to have a higher push and openness. It has to be a deep analysis based on employment of procedures and environment of application, a very delicate aspect needing field experts cooperating during the items research phase in order to find the best technical solutions. Therefore such a delicate planning step requires more than just a list of equipment.

The required professionalism is reached after several ages of studies, deep knowledge of technical solutions, updates on new materials, employment procedures and legislation but also a solid, wide and trustworthy artisan network.

Only specialized and solid industrial figures can represent a trustworthy partner for the military organization.

Undoubtedly useful can be a stable collaboration with companies linked with the Agency for Defense Industries.

Some good experiences come from the past such as the development of Mobile Resuscitation Centers (1993) carried out by Mj. Alessandro Federici; an excellent qualitative and technological impulse of the Military Healthcare in cooperation with a company specialized in special set-ups.

It becomes essential commit companies to specialize in the set-up of military medical vehicles that can provide a nationwide network of assistance and that have constantly to face various operative needs even more so if compared to the civilian field.

A separate study should be written in relation to the drugs (including narcotics) on the ambulance.

A particularly high consideration should be given to the Medical Team composition.

The laws regulating ambulance configuration as well as set up in the civilian sector are: Decree n. 553 dated Dec., 17 1987 stating the "technical and administrative law related to ambulances"; Decree n. 487 dated November 20, 1997 "Regulations stating technical and administrative law related to special emergencies ambulances"; prEN 1789 "Medical vehicles and equipment – Ambulances".

### **SET-UP LOGIC OF AN AMBULANCE VEHICLE**

The idea of laying out on the ground an ambulance vehicle set up should be to aim on a high quality product, studied and realized

under functionality, solidity and pragmatism criteria. The whole interior design has to be planned in order to facilitate personnel working in it.

The devices as well as the equipment employed in vehicles have to be first choice, long-lasting and guarantee the highest performances.

The design of the product must consider ergonomics.

All that is in the vehicle (instruments placement, compartments and equipment position, space all around the patient) should be studied based on the expertise of those who work on the ambulances and fit their professional needs.

### **SET-UP STANDARDS OF A MILITARY MEDICAL VEHICLE**

For what concerning the military medical vehicles, there are several specific aspects related to the individualization of technical solutions to be added to one employed in civilian medical vehicles.

### **Final remarks**

The effort recently put on military medical vehicles shows the high attention of the Armed Forces as well as of the Army General Staff in this field. In particular the Army Logistic Command and the Health Department changed direction in planning and set-up starting from the VTLM Lince hull to armored continuous track medical vehicles (Dardo) or wheels vehicles (VTM-X, VBM) for Role 2 and 3 activities. This shows good awareness as well as responsibility.

Considerable effort of standardization has been carried on and, at present, we can develop our capabilities thanks to them.

It is important that continuous enhancement as well as the strengthening of weak points is made in order to accomplish the mission and not frustrate the high conceptual effort made by our colleagues.

**Title: Italian Campania Region environmental pollution – Health Challenges and possible Medical Response**

**Author: Ing Giuseppe Mocerino**

**Introduction:** The environmental pollution in Campania region could be easily observed by everyone who wants to see it, but for diverse reasons if there are some recorded observation they are just a mere reporting of obvious facts. The origin of the environmental pollution e.g. the clandestine Toxic Industrial Materials processing or burial, an open air burning of the domestic and industrial waste, the health consequences of this pollution are mentioned in few reports and articles.

The recently published White Book is one of the rare attempts to present to the public what is reality in the so called Campania Felix region.

**The aim** of the publication is to reveal the origins of Campania region environmental pollution and to present the newly established by several medical and non medical entities in Campania region initiative for population health status monitoring and health risk management. Descriptive method was applied for toxic materials environmental pollution origin analysis. By the means of comparative method and deductive analysis the main challenges health status monitoring and health consequences management systems were listed.

**As a conclusion** the author is presenting the main structure of the e-health system to be established.

**Key words:** Toxic Industrial Materials; e-health system; Environmental Pollution.

**Title: Syrian Conflict and Terrorist Threat**

**Author: Dr Eli Karmon, PhD**

**Introduction:** For more than two years the civil war is ongoing in Syria. Both governmental and opposition forces are implementing all available means and capabilities for defeating the opposing party. Several times prior August 21 2013 the world was shocked by chemical weapons utilization, but nothing could prepare the mankind for the events of the morning of 21 August, when thousands civilian citizens became victims of coordinated gas attacks.

The dispersed warehouses for chemical weapons and their precursors, as well as the government instability are raising concerns about the possibility chemical weapons or chemical compounds to easily become in possession of extremist groups and used for terrorists' purposes.

Despite the fact that the USA and Russia have reached an agreement with the Syrian President for Syrian chemical arsenal destruction under the UN monitoring, the possibility of selling, robbery or just transferring of poisonous substances, ready or easily transformed to be used as chemical weapons, remains very high.

**The aim** of this report is to present the available data about the Syrian chemical arsenal and to analyze the probability part of the existing chemical weapons to change their possession, thus elevating the terrorist threat level.

By the means of descriptive method the available data about chemical weapons warehouses and their location is presented.

Comparative method and deductive analysis were applied in order to evaluate the level of chemical threat related to the Syrian Chemical arsenal.

**As a conclusion** the author highlighted the requirement for thoroughly performed international monitoring on all sites and activities related to chemical weapons and their precursors in Syria.

**Key words:** Chemical weapons, Syria, Terrorist threat, Weapons of Mass Destruction Proliferation

**Title: EU and the Creation of a Weapons of Mass Destruction Free Zone in the Middle East**

**Author: Amb Cosimo Risi**

**Institution:** *Italian Embassy to Switzerland/European College of Parma*

**Introduction:** The idea of an agreement in the Middle East to let off the nuclear weapons is launched in 1974 by Iran which presents to the United Nations General Assembly, together with Egypt, a proposal of Resolution. The 3263 Resolution is approved without any opposite votes, with the only abstention of Israel and Myanmar, but the iter of its adoption looks immediately difficult.

The interference between the Free Zone process and the Middle East peace process is evident. The fact that Israel is not part to the NPT (Non Proliferation Treaty) also influences the adoption of the Resolution, which is reviewed with some changes every year. In the 1980s Israel removes its abstention so that the resolution is finally approved. During the Iran - Iraq war, chemical weapons are used by Iraq against Iran. There is the suspect that Iraq is doing researches in order to build nuclear weapons. Israel decides to bomb the Iraqi Osirak site in 1981 as a preventive measure. Egypt proposes the idea of a Free Zone to be named Weapons of Mass Destruction Free Zone in the Middle East. The issue of the Free Zone becomes crucial point of several international meetings and conferences.

**The aim** of this study is to present the steps taken and to be taken in order Weapons of Mass Destruction Free Zone to be established in the Middle East region.

Descriptive and comparative methods along with deductive analysis were applied in order the set goal to be reached.

**Conclusion** The Middle East region needs stability and development and democracy and openness to the world. The clash of civilisations is non only a phantasm of the conservative intellectuals. The proliferation of weapons continues notwithstanding the efforts in view of a general disarmament.

**Key words:** Chemical weapons, Terrorist threat, Weapons of Mass Destruction Proliferation.



**Title: International Cooperation and Advanced Surgical Training: a synergy**

**Author: Dr Santolo Cozzolino**

**Institution** *Center of Biotechnologies, A.O.R.N. A. Cardarelli, Naples, Italy*

Globalization brings significant challenges, but it is also an opportunity for unifying health-care activity across international boundaries.

International Health Cooperation can be, and actually is regarded as an indicator of quality for the issuing country, as well as a way to share and spread scientific knowledge to other countries, developed and less developed.

Since 2001 Cardarelli Hospital is involved in the field of International Cooperation.

Through the Center of Biotechnologies, the Hospital provides clinical, surgical and scientific support to a wide range of cooperation projects, recognized and supported by the Italian Ministry of Foreign Affairs, the Italian Ministry of Health and Campania Region, such as the Collaboration with Charles Nicolle Hospital in Tunis; "Surgiland" Project, an integrated network for surgical and microsurgical training in cooperation with Tunisia and Morocco; GuineAid Project, a collaboration with the main Hospitals of Conakry (Guinea).

Through the established network of cooperation, there is a constant share of knowledge, also thanks to the ongoing activities with Tunisia, Morocco and Albania.

**The main** goal has been that of creating universal protocols or schemes - to be used to front health emergencies both in peace and in wartime - for effectively preventing and combating diseases.

**Title: Traumatic hemorrhagic shock: the therapeutic approach**

**Author Dr. Antonio Brillantino, MD,PhD**

**Institution:** *Emergency and Surgical Department "A. Cardarelli"  
Hospital. Naples, Italy.*

Despite the recent advances in knowledge of trauma and hypovolemic shock pathophysiology, the management of patients with traumatic hemorrhagic shock still represents a big challenge and the mortality rate of these patients remains high. The key-points of treatment are represented by the interruption of hemorrhage and the fluid resuscitation that aim to improve the tissutal perfusion and to avoid organ failure and death. There is not yet a consensus about the amount and type of fluids to be used in trauma patients. Although the evidence suggests that aggressive crystalloid resuscitation is associated with significant morbidity in various clinical settings, avoidance fluids may lead to tissue hypoperfusion and organ dysphunction. The optimal resuscitative strategy, including fluid resuscitation, the use of vasopressor and blood transfusion, is still a matter of debate. Further studies with randomized trials are needed to define the adequate quantity and quality of fluid therapy, the standardized objectives for fluid resuscitation, timing of infusions, and whether to administer fluids at all.

**Title: Advanced biomaterials: focus on new materials for trauma technology**

**Authors: G. Pitingolo<sup>1</sup>, E. Torino<sup>2</sup>**

**Institution:** <sup>1</sup>*Department of Material and Production Engineering, University of Naples, P.le Tecchio, Naples, Italy,*  
<sup>2</sup>*Center for Advanced Biomaterial for Health Care, IIT@CRIB, L.go Barsanti e Matteucci, 53, 80125 Naples, Italy.*

**Introduction** Military and civil fields, have benefited from technological innovation from biomaterials. However, while its expectancy continues to increase, organ failure and traumatic injury continue to complicate the quality of life.

The past half century has seen important growth in the use of medical devices. Cardiac, Orthopedic, and plastic surgeons are examples of medical specialists treating millions of patients each year by implanting supports varying from devices and prosthesis, for example pace makers and artificial hip joints, to implantable hearing aids. All such medical implants are made by special materials, known as biomaterials, defined as “materials intended to interface with biological systems to evaluate, treat, augment or replace any tissue, organ, or function of the body” [D.F. Williams, *The Williams Dictionary of Biomaterials*, Liverpool University Press, Liverpool, 1999].

Biomaterials offer to the surgeon a powerful set of instruments for treatment of some diseases or traumatic injuries and are found in “virtually” every instrument, device, implant, or piece of equipment in the operating room. In fact, surgeons have historically driven clinical application of biomaterials to the rapid development of biomaterials. Having an understanding of the materials available and their basic properties can contribute to better and more effective outcomes.

The principle classes of materials used as biomedical materials are Metals, Polymers, Ceramics, and Composite. These four classes are used singly and in combination to produce most of the implantation devices available today.

Advances in understanding disease and tissue regeneration combined with increased accessibility of modern technology have



created new opportunities for the use of biomaterials in unprecedented ways. Materials can now be rapidly applied and selected to target specific cells, change shape in response to external stimulus, and instruct tissue regeneration. Here we describe a few of these technologies with emphasis on targeted drug delivery vehicles, high-throughput material synthesis, minimally invasive biodegradable shapememory materials, and development of strategies to enhance tissue regeneration through delivery of instructive materials. The objective of this presentation is to give an overview of development and therapeutic application of advanced biomaterials.

**Contact:** G. Pitingolo  
gabriele.pitingolo@unina.it

**Title: Endovascular Treatment of Thoracic Aorta Trauma**

**Authors: Accarino G.C.<sup>1</sup>; Fornino G.<sup>1</sup>; D'Alessandro A<sup>1</sup>;  
D'Alessandro A<sup>1</sup>; De Vivo S<sup>1</sup>; Lao Martinez M<sup>1</sup>; Nicoletta G.<sup>2</sup>;**

**Institution:** <sup>1</sup>*Department of Surgery, Vascular and Endovascular Surgery, A. O. U. "O.O.R.R. S. Giovanni di Dio e Ruggi D'Aragona" Scuola Medica Salernitana, Salerno, Italy*  
<sup>2</sup>*Anesthesiology and subintensive care for Vascular Surgery A. O. U. "O.O.R.R. S. Giovanni di Dio e Ruggi D'Aragona" Scuola Medica Salernitana, Salerno, Italy*

The outcome of treatment for traumatism of Thoracic Aorta too if associated with multiple trauma has dramatically changed with the endovascular positioning of endoprosthesis (ETEVAR).

From January 2010 till July in the Vascular and Endovascular Surgery Unit of the A.O.U. "O.O.R.R. " S. Giovanni di Dio e Ruggi D'Aragona" in Salerno 16 Patients affected by Thoracic Aorta trauma have been treated; the most (14) were emergencies for street trauma because of motorcycle or car accidents, 2 were working trauma. Rupture of the Aorta with thoracic hemorrhage was present in 4 cases (transection). In all the other cases an Angio CT scan done according to emergency protocols for all the vascular emergencies arriving in our Hospital showed an impending aortic rupture with hemorrhage involving the aortic wall. Only two Patients died because of serious concomitant lesions.

The possibility of an immediate treatment avoiding either selective bronchial intubation either opening the chest with a very quickly and effective repair of the aortic wall in such severe diseases is certainly a very effective improvement in the treating lesions of the thoracic aorta.

**Title: Regenerative surgery and traumatic injuries: present and future of stem cells**

**Author: Dr A. Almadori, MD**

War and combat injuries in the modern era of improvised explosive devices (IEDs) and explosively formed projectiles (EFPs) introduce a novel set of trauma patients with high degree of tissue loss, highlighting the need for tissue regenerative options.

Massive musculo-skeletal wounds and disfiguring craniofacial trauma are devastating to wounded warriors and precise correction of soft tissues remains a challenge for reconstructive surgeons. Current treatments such as autologous tissue flaps or alloplastic implants can cause tremendous morbidity, including donor-site complications, implant migration and foreign body reaction.

Regenerative surgery and stem cells, able of self-renewal and the to differentiate into other cell type, represent a promising tool for treating military wounds. Regeneration of destroyed tissue have the potentiality to revolutionize the therapeutic approach and degree of recovery for soldiers both on and off the battlefield.

## **Title: Acute Acoustic Trauma: How Do It**

**Authors:** Cavaliere Michele<sup>1</sup>, Pianese Annalisa<sup>1</sup>, Oliva Flavia<sup>2</sup>,  
Salomone Pasquale<sup>1</sup>, Ricciardiello Filippo<sup>1</sup>, Napolitano Domenico<sup>2</sup>

**Institution:** <sup>1</sup>ENT UOC, University "Federico II", Naples, Italy  
<sup>2</sup>ENT UOC, Cardarelli Hospital, Naples, Italy

**Introduction:** Acute acoustic trauma (AAT) is a cochlear damage resulting from exposure to high-intensity sounds (explosions/gunshots). It causes hearing loss (usually partial and involving high frequencies), tinnitus and intolerance to high-intensity sounds.

**Hypothesis/Problem:** The effectiveness of any therapy has not been demonstrated convincingly. Goal of treatment are hearing recovery and ear protection.

**Aim:** Examining patients with AAT, their hearing recovery after therapy and relation with some prognostic factors.

**Methods:** The study involves twelve patients with bilateral AAT, undergone to clinical examination, pure-tone and vocal audiometry, ABR and treated with a three-day e.v. therapy: Glycerol 10%, Desametasone, Pantoprazol and hyperbaric oxygen therapy, if symptoms onset was less than five days. Successive oral therapy was: Glycerol 10% (10 days), Flunarizine (one month), Methylprednisolone. The results were analysed using the X2 test for four variables: age of patient (</> 50 years), time lapse between onset of symptoms and start of treatment (</> 3 days), grade of hearing loss, type of audiometric curve (descending/rising/pantonal curve).

**Results:** Four patients (30%) had a partial recovery with reduction of tinnitus and eight patients (70%) had not hearing improvement and tinnitus permanence.

The statistical analysis was not significant for age and hearing loss grade, but significant for time lapse and type of audiometric curve.

**Conclusions:** Only one third of the patients, that was early treated, reported partial improvement in hearing and reduction of tinnitus. Gender and grade of hearing loss have not effect on prognosis, while time lapse between onset of symptoms and treatment and type of audiometric curve are important prognostic factor.

It is recommended a prompt treatment for AAT with drugs and hyperbaric oxygen therapy.

**Title: Laryngeal external traumas: arytenoid dislocation**

**Authors:** Angelo Papa<sup>1</sup>, Gaetana Manzo<sup>2</sup>, Flavia Oliva<sup>3</sup>, Monica Morandi<sup>3</sup>, Filippo Ricciardiello<sup>1</sup>

**Institution:** <sup>1</sup>ENT department, Federico II University of Naples, Naples, Italy

<sup>2</sup>Department of Biomorphological and Functional Sciences, Federico II University of Naples; Naples, Italy

<sup>3</sup>ENT Department, Cardarelli Hospital, Naples, Italy

**Introduction:** The arytenoid dislocation (AD) is a rare traumatic laryngeal lesion generally due to internal injuries. However external traumas such as hand to hand combat and penetrating injuries of the neck are also related to AD.

**Hypothesis/Problem:** A lesion uneasy to diagnose and treat, with two different options of therapy, logopedic rehabilitation or surgery.

**Aim:** To define the more appropriate diagnostic/therapeutic pattern in AD caused by external traumas, considering the clinical experience acquired treating internal laryngeal trauma injuries.

**Methods:** Two patients (1 female, reporting a sport trauma of laryngeal region; 1 male, reporting an accidental trauma in the thyroid area) were admitted to ENT department of Federico II University. They underwent an accurate anamnesis, clinical examination, laryngoscopic exam, vocal spectrogram and CT scan of the neck.

**Results:** In both cases AD was diagnosed. After 10 days of corticosteroid and antibiotics therapy, a logopedic rehabilitation was performed for 3 days a week. After 3 months of therapy a phoniatic evaluation showed a considerable voice improvement.

**Conclusions:** AD due to external traumas can be treated with logopedic therapy avoiding surgery.



**Title: Facial Paralysis in Petrous Bone Trauma : How Do It**

**Authors:** Filippo Ricciardiello<sup>1</sup>, Annalisa Pianese<sup>1</sup>, Teresa Abate<sup>1</sup>, Viviana Indolfi<sup>1</sup>, Immacolata Ferranti<sup>1</sup>, Flavia Oliva<sup>2</sup>, Alberto Napolitano<sup>2</sup>

**Institution:** <sup>1</sup>ENT UOC, University "Federico II" Naples, Italy  
<sup>2</sup> ENT UOC, Cardarelli Hospital, Naples, Italy

**Introduction:** The facial nerve is a mixed cranial motory, sensorial and parasympatic acting nerve, formed by the exactly facial and the Wrisberg's nerve. It has 3 tracts: intracranial , intratemporal and extracranial. Petrous bone fractures (PBF) are the main causes of intracranial facial nerve's paralisy .

**Hypothesis/ Problems and Aim:** The PBF management is multidisciplinary. It is necessary a diagnostic and therapeutic flowchart or the facial paralysis treatment.

**Material and Methods:** This study involved 96 patients hospitalized at Cardarelli for PBF (16 dead). The whole sample underwent to ORL examination, audio-impedenzometric and vestibular evaluations and petrous bone HRCT.

**Results** 64 PBF were extralabyrinthic: 2 of these (3.1%) with late onset facial paralysis ( 24 h - 16 days);

16 PBF were translabirinthic: 12 cases (75%)with a facial paralysis  
9 (75%) early onset (< 24 h)  
3 (25%) late onset .

All the late onset facial paralysis (35,7%) were spontaneously resolved ; 4 patients (28,6%) had a partial resolution after 4 months and 6 patients (42,9%) required a surgical approach.

**Discussion:** The facial paralysis was observed in 17,5% of patients with PBF , at early onset in 64,3% and in 35,7% at late onset; this is relevant for the prognosis : the early ones have an adverse prognosis because of possible nerve section.

**Conclusions:** Late onset facial paralysis often undergo to spontaneous resolution after medical treatment, while early onset ones require a prompt surgical approach of decompression for the adverse prognosis.

**Title: Splenic trauma management**

**Author: Simona Ruggiero, MD**

Suitability of adult patients with blunt splenic injury for nonoperative management may be predicted at initial presentation, based on hemodynamic status and associated injuries. The quantity of hemoperitoneum and magnitude of splenic injury are predictive factors for failure of conservative treatment. Early definition of these factors may help identify those patients likely to be successfully treated without laparotomy.

Appropriate patient selection is the most important element of non-operative management. Patients with splenic injuries who are haemodynamically stable can be managed non-operatively with acceptable outcome. However, in the presence of concomitant trauma, there is an increasing trend towards operative management.

**Title: Penetrating Injuries of the Chest: A Case Report**

**Author: P. Arganese**

**Institution:** *U.O.C. D.E.A. Emergency Surgery and Trauma Center  
A.O.R.N. "A.Cardarelli", Naples, Italia*

**Introduction:** Thoracic injuries are common among civilian trauma and have a high associated mortality. The use of body armor and exposure to different mechanisms of injury in combat setting could lead to different injury patterns and incidences from those found in peacetime.

**The Aim** of the study is the evaluation of the corrected diagnosis and treatment of a penetrating injury of the chest.

**Results and Discussion:** Chest injuries are the cause of death in 25% of trauma fatalities, and a major contributing factor in an additional 50%. The penetrating trauma are among the most difficult to manage emergencies in the prehospital setting, however, the key principle at the basis of the proper management of these cases is not to remove for any reason the blunt object that caused the injury. The explanation of this approach is that the object in question may have a damaged vessel important, and that thanks to the jar object permanence is temporarily buffered. If the object is removed, it could induce a massive hemorrhage, since the temporary buffer would be lacking. Any object that has penetrated a body, it should never be removed in the prehospital setting it in the emergency room, in fact only in the operating room this maneuver can be carried out in a controlled manner, ensuring an immediate tamponade any bleeding. It's very important proceed, if the clinical condition of the patient allows, to practice CT that was found to be more sensitive than radiography and represents the most sensitive method to examine the seriousness of the underlying damage of the thoracic organs and it has proven useful to exclude the more serious complications "Deadly Dozen" in penetrating injuries of the chest, above all a minimum pneumothorax and pneumomediastinum cause of "preventivable death", that should be recognized already during the primary assessment according to ATLS.

**Conclusions:** A percentage of injuries, if hemodynamically stable, ranging from 50% to 80% can be treated with a simple pleural



drainage. Instead thoracotomy is indicated if patients are hemodynamically unstable, massive hemothorax (1500 ml after chest drain insertion, or > 200 ml / h in 4 h), cardiac tamponade, destruction of the rib cage, evidence of esophageal, tracheobronchial, and great vessels injuries. Diagnostic thoracotomy is also indicated in cases of suspected cardiac injury in relation to the site of injury, for example between the nipples or in a suspected diaphragmatic injury. The suggested operative approach are left thoracic wound: left anterolateral thoracotomy at the lower edge of the male nipple; right thoracic wound: right anterolateral thoracotomy, extend to the left if necessary; supraclavicular wound: thoracotomy above the male nipple or above the female breast in 3rd or 4th intercostals space. We report a case of a penetrating injury of the chest with white weapon of a woman.

**Title: Damage Control Surgery**

**Authors: M. Rutigliano, S. Reggio**

Damage control surgery (DCS) is established as a life-saving procedure in severely injured patients. In addition to the trauma, hemorrhage and tissue hypoperfusion, a secondary systemic injury, by inflammatory mediator release, contributes to acidosis, coagulopathy, and hypothermia and leads to multi system organ failure. It is necessary to identify patients unable to tolerate a traditional approach due to the present or impending state of shock. Use of an abbreviated laparotomy is focused only on control of bleeding and contamination to limit surgical insult and allow for aggressive resuscitation in an intensive care unit (ICU) to regain physiological reserves. Only after correction of acidosis, hypothermia and shock are definitive repairs attempted. Closure of the abdominal wound has developed thanks to a better understanding of the importance of intra-abdominal hypertension (IAH) and abdominal compartment syndrome (ACS). A good knowledge of DCS has led to a significant increase in survival of severely injured patients.



**Title:** International disaster medicine association survey results regarding participants preferences on educational and training courses

**Authors:** Col Dr Rostislav Kostadinov, MD, PhD, Dr Giuseppe Noschese, MD; BG Dr Renzo Mattei, MD

**Institution:** IDMA

**Introduction:** International Disaster Medicine Association (IDMA) is a non profit international organization with main objective to provide forum for discussions, education and training on various disaster medical support issues in order to ameliorate disaster medical preparedness of population as a whole and of specific groups of society.

From March to August 2013 IDMA performed survey regarding the individual perception about readiness and preparedness for survival and assistance to the medical support in case of disasters.

The set goal of this survey was to evaluate the status of community preparedness and the need of specific focused courses on disaster medical support.

**The aim** of this publication is to present the survey results regarding the courses participants of the survey would like to attend in order to enhance their knowledge and skills to react in case of disasters. By the means of the descriptive method the questionnaire and obtained results are presented. Comparative method and deductive analysis were applied in order to analyze the participants' expectations from the disaster medicine educational and training activities.

**As a conclusion** a list of desirable by the survey participants courses is presented.

**Key words:** International Disaster Medicine Association; Disaster Medical Preparedness, Disaster Medicine Courses, Disaster Medicine Education and Training

**Contact:** Dr Rostislav Kostadinov, MD, PhD  
Colonel, BGR A  
Email: rostikosti@abv.bg

**Title: Rapid detection for biological warfare agents and unusual pathogens in combat assets.**

**Author: Cap. sa. (Farm.) Ferdinando Spagnolo**

**Institution:** *Health and Veterinary Centre of Studies and Research, Rome, Italy*

The importance of rapid identification of a pathogen on the battlefield is crucial to put in place all the necessary emergency procedures, as well as to plan for the protection and prevention measures to be extended to any sites potentially threatened by similar risks.

The effects of the release of pathogens on the population can be devastating, as an example, an attack by means of anthrax could incapacitate a quarter of the population involved and kill a fifth. However, the biological threat does not include only the release of bacteria or toxins, in fact insect vectors of plasmids represent a potential ploy to transmit malaria. Moreover, even if the environment is to "risky", indisputable examples ranging from Bosnia to turalemia leishmaniasis in Afghanistan and Iraq.

The tests which may be carried out on the battlefield are related to each other and quick identification of pathogens is the limiting factor for cost containment and the immediacy of the interventions to be implemented. It is therefore necessary to develop materials and methods can provide rapid identification of pathogens with unusual accuracy and precision at the same exposure.

Wanting to prepare a detection system suitable for B agents must consider not only the traditional methods or the current molecular tests but we must also be sensitive to the innovations offered by meta-analysis of genomics, proteomics, and so forth, bearing in mind that everything from microscopy to epigenetic analysis. Thanks to new technologies, it is possible to integrate all the information collected and send it in encrypted form to the data processing cores capable of interpreting them. The network of information that originate for example from the sequence of nucleic acids obtained by the recent methods of next generation sequencing may allow more than that the recognition of the most rare pathogen , also identify potential virulence factors (e.g. plasmids encoding toxins) or any possible points weak that the threat hides (e.g. sensitivity to antibiotics) .



**Title: The build up of the military doctor specific clinical experience  
- The military academy of Modena experience.**

**Author: Col. G. Masia, MD**

The Military Academy of Modena “mission” is to educate and train cadets in order to let them become professionally trained as well as devoted to military values officers. This is therefore about increasing expertise and competencies in professional field knowledge and know-how as well as in the psycho-physical area. Such stages should be developed in a balanced and harmonized way in order to achieve, at the end of the formative process, excellence.

What is mentioned above is clearly valid even for the training of doctor officers. They will be provided with complex, related to competencies which are part of medical profession but which will be enriched with military doctor professionalism. It is about carrying on a twin demanding educational path made up of a Master Degree in Medicine and Surgery – University of Modena and Reggio Emilia – and implemented with technical military lessons plans (lectures tailored for the Medical Corps therefore subordinated to university battle rhythm), a full immersion course of English and internal didactic integrations. This formative path ends with the qualification to exercise the medical profession and finally with the Technical – Applicative Course at the Military School of Health in Rome. The above mentioned integrations consists of: the management of a university lessons plan (Medical Methodologies 1, already Emergency Medicine, also attended by civilian personnel and delivered during the second year, second semester), itinerant lectures and seminars on topics “of interest”, the more traditional first aid courses (BLS, PBLSD, PHTC, BFR), and also in the use of simulated didactics at the SIMAMO (Modena Advanced Medical Simulation Centre of which the Military Academy is a co-founder). In consideration of the sensitivity of the task that the doctors will be asked to perform while appointed to the Sections – particularly in reference to the early deployment in high intensity areas of operations – there is the need of “infield learning”. Several possibilities are taken in consideration to realize such learning, above all practical internship on the local medical emergency – First Aid “SPOKE”, FIRST AID “HUB” AND AN AMBULANCE EMERGENCY RESPONSE VEHICLE with a qualified tutor.



**Title: The Military Corps of the Sovereign Military Order of Malta: activities, roles and interaction with the Italian Army.**

**Authors: Dr V. D. Bianchi, MD; Dr G. Saviano, MD**

The Medical Rapid Deployment Unit is an entity designed to create an effective and operational response team to be deployed, upon request, by the Italian Army, predominantly in case of natural disasters.

As Unit Commander, position that I am honored to fill, in accordance with the directions received by my chain of command, I intended to design an organizational structure based on a team of professionals, from those available within the 3rd Division itself, fully capable to deal with disaster on our home soil.

In addition, I have introduced a "veterinary cell" that could face a series of problems that are heavily conditioning a disaster and calamity theater, such as but not only the cleaning-up of animal carcasses, the rodent control, the water decontamination and checks on the potable water, health check on field kitchens, check on the food supply chain and storage.

A specific psychologist care and support has been set for managing all illness related to shock and stress after disasters.



**Title: Infectious diseases in disaster medical education – necessity and significance.**

**Authors: Col Dr Alexander Parashkevov, MD, PhD; Col Dr Rostislav Kostadinov, MD, PhD; LTC Popov Georgi, MD, PhD**

**Institution: Military Medical Academy, Sofia, Bulgaria**

**Introduction:** Despite the fact that one of the most frequent consequences of disasters is the increase in infectious diseases morbidity, the issue of infectious disease prevention and monitoring is still one of the less trained topics during disaster medical education. In great majority of the courses the infectious diseases management is part of the Biological Area of Damage discussions with main attention on how to cope with already existing epidemic outbreak. In the interviews with students already completed disaster medical training or course, regarding their knowledge about the biological damaging factor almost all are discussing only the isolation and sanitary control measures to be implemented in case of biological area of damage. Very few are considering the secondary developed biological area of damage.

**The aim** of this study is to present the significance of the infectious diseases as a consequence in case of disasters and the necessity of implementing preventive measures against epidemic outbreaks in the very early stages of the disaster medical management and support. By the means of descriptive and comparative methods the available data about some of the most frequently recorded risk factors for development of infectious disease consequences in the disaster affected areas are analyzed. Deductive analysis was applied in order to depict the main tutorial requirements for achieving better preparedness for dealing with the infectious diseases challenges in the disaster medical management.

**As a conclusion** the Authors highlighted the significance of infectious diseases prevention training within disaster medicine courses.

**Key words:** Infectious Diseases, Disaster Medical Management and Support, Disaster Medicine Education and Training, Preventive Measures, Biological Area of Damage

**Contact:** Dr Rostislav Kostadinov, MD, PhD  
Colonel, BGR A  
Email: rostikosti@abv.bg

**Title: Electronic Health Records: from the field to role/echelon 4**

**Author: Alberto Lai MD**

**Introduction:** Military personnel engaged in international operations frequently need of medical and surgical treatments that must be documented.

The frequent use of paperwork presents obvious limitations that affect the security of the support, the readability of data, the exchangeability and the difficulty of centralization.

Another fundamental problem is the use of different languages and the incapacity to have simultaneous translations in a multinational context where it is not possible to ask all the operators involved the use of a common language.

An electronic medical record (EMR ) is a digital version of a paper chart that contains all of a patient's medical history from one practice.

**Aim:** This report should analyze the technical characteristics of the various available devices, the machine languages, data formats that can be exchanged between the same applications developed for different programming languages and describes the principles of information security.

**Discussion:** The information stored in EMRs is not easily shared with providers outside of a practice and a patient's record might even have to be printed out and delivered to other members of the care team.

An EMR contains the standard medical and clinical data gathered in one provider's office.

Electronic health records ( EHRs ) are designed to contain and share information from all providers involved in a patient's care.

EHR data can be created, managed, and consulted by authorized providers and staff from across than one health care organization.

The simple digital data, in the form of EMR, does not guarantee that these are made immediately available to other operators while the EHR system makes this more feasible.

In recent years there has been a growing use of devices such as mobile phones, tablets, and personal computers, economic and equipped with the technology that allows the acquisition of data, images and clinical parameters, and their transmission between them or to a server.



These devices could be utilized widely for the acquisition and processing of patient records from the time of first aid until his discharge from the hospital.

The design of applications in the form of health records, with specialized dedicated parts of increasing complexity, will secure an easy compilation and data entry, from the identification of the patient to the clinical and instrumental data.

These can be transferred from device to device or centralized in a local or central server to be made available to other operators.

**Conclusion:** The author has proposed a basic structure of the medical record, of its parts and how it should be structured to meet the needs of the different professionals involved.

**Title: Training of Military Medical Personnel to Deployment in Operational Areas, the Experience of Italian Navy “Combat Medicine Course”: Evolution Present and Future Prospects**

**Authors: CDR Dr F. Fracasso, MD; RA Dr R. Vigliano, MD**

**Introduction:** In the last decades, Italian Navy Medical Personnel have been continuously and increasingly deployed in “other than Naval” Joint and/or Multinational ground Operations, often in difficult, if not actually hostile, environmental conditions.

First realized in 1998, and arrived in 2013 at the XV edition, the Italian Navy Combat Medicine Course (CMC) has the aim to provide Military Medical Personnel in basic training or about to be deployed in operational areas, with a cultural and professional tool and a theoretical and practical knowledge on medical aspects (based on current principles of “Tactical Combat Casualty Care (TCCC)” and according with NATO/EU medical doctrine) and on military subjects (including Topography, CBNR Defense, communication with radio apparatus and use of small weapons for self-defense), in order to be prepared for deployment in any operational area.

**Aim:** General aspects and main characteristics of course are exposed and described in detail, as well as the constant process of updating of training contents, standing the original intents and structure of course, due to evolution of doctrine of tactical medicine, medical devices available on the field and to specific challenges met in some operational areas.

**Discussion:** In order to sustain the effectiveness of the course, field experiences of Military Medical Personnel deployed in Operation shortly after CMC completion, are also reported.

To keep high the attention of Italian Navy on its CMC, as well as the consideration of the course as a effective and unique tool for training Military Medical Personnel to deployment in Operational area, to promote the participation to the CMC of Personnel of other Italian Armed Forces, in an actual Joint perspective, and to share the experience with other Countries, are some of the main prospects of CMC for the future.

**Title: Education and training of military staff and preparation of the Military CRI units in the period 2013-2014**

**Authors:** Ten. med. CRI Fabio RISPOLI, MD<sup>1</sup>, Magg. com. CRI Vittorio BADALONE<sup>1</sup>, Ten. Col. Med. CRI Romano TRIPODI, MD<sup>1</sup>, Dr. Maria SCALA, MD<sup>2</sup> Magg. Gen. CRI Gabriele LUPINI, MD<sup>1</sup>

**Institution:** <sup>1</sup>Italian Red Cross (CRI), Rome, Italy  
<sup>2</sup>University "Federico II", Naples, Italy

Adapting to rapid changes in the mode of conception, organization and execution of operations in recent years, has led to a process of revision of the procedures for training, reported to training activities (basic and advanced), and maintenance operations and readying for a specific mission and Command units operated by the Armed Forces.

This review process, made even more profound by the general economic and financial crisis that is affecting our country, has also led to the Military Corps of the Italian Red Cross to adjust the training of its personnel and education aspects, such as allow a close correlation to the reality with which the personnel and military CRI units are confronted daily with the Armed Forces and other components of the Red Cross, both in Italy and abroad.

In relation to the fact that the economic situation could also have consequences on the next financial biennium and considered the process of reorganization of the CRI in place runs the obligation to make every effort to focus training activities to those activities essential and unavoidable designed to better prepare the staff to fulfil its institutional duties, with particular reference to the functions of aid Forces armed and emergency activities.

In this context, are of particular value training courses aimed at raising acquire "in time and over time", the necessary powers to the staff, to be achieved by each class / type of staff and for its diverse functional areas of use.

The area in which you will operate the assets and units of the Military CRI divided into two main areas of application:

- National territory, for the purposes connected with the activities of support to the Armed Forces and Institutions, in the case of public calamities and emergencies;

- Foreign territory, for humanitarian diversified health in relation to the Theatre operating employment.
- Due to the lack of response defined by their level of ambition as well as from increasing demands of competition in terms of basic health training in favour of the Armed Forces, training activities and training should ensure:
- Preparation and operational readiness of the structure and units set up;
- Interoperability with the various Armed Forces;
- Maintenance of resources in terms of materials and available resources;
- Pre-deployment training, focused on the maximum realism and taking advantage experience
- Gained from the units returned by the different Operating Theatres;
- The widening of the instructors in the health field.



**Title: Tactical Medicine: analysis of the new orientations for military and civilian training.**

**Authors: S. Ten. med. CRI Salvatore PAUCIULO, MD<sup>1</sup>, Ten. med. CRI Fabio RISPOLI, MD<sup>1</sup>, Dr. Maria SCALA, MD<sup>2</sup>, Ten. Col. med. CRI Romano TRIPODI, MD<sup>1</sup>, Magg. Gen. CRI Gabriele LUPINI, MD<sup>1</sup>**

**Institution:** <sup>1</sup>*Italian Red Cross (CRI), Rome, Italy*

<sup>2</sup>*University "Federico II", Naples, Italy*

The cost of education of physicians and nurses, the moral and ethical desire not to participate in the fighting, the possibility of the loss of protection offered by the Geneva Convention, together with operational needs for absolutely new situations and scenarios, led to the birth, in Europe, Australia and United States, specialized professional paramedics widespread in all civil and military environments, operating in the field of public and private security, as well as in the military, called "combat medics" and "tactical medics". These professionals, existing within NATO, are the paramedic staff of Anglo-American, Israeli and North European ambulances, with advanced skills.

Currently, all our Italian special forces were trained as "combat medics", but operate under binding legislation, due to the legal impossibility (prerogatives of doctors) to do an advanced life support, and penalizing even in the supply of drugs and equipment.

Paradoxically, they can legally save a life abroad, but not in Italy! The tactical medicine has prerogatives absolutely unique and special, so much so that a new specialization. It brings together elements in traumatology (emergency surgery and traumatology), resuscitation, preventive medicine, herbal medicine (for survival) and NBC defense. It is possible to note a differentiation of military medicine in the traditional type of operators, as regards aims and capacity. The traditional figures (doctors and nurses), play an essential and necessary role in medicine tactical training. Both in training that maintenance of skill and dexterity, it is necessary that the high-skilled health personnel (primarily resuscitation and surgery) is committed to provide operators an adequate legal cover and the necessary skills to operate in extremely hostile conditions.



Courses being established by private agencies in Italy for civilian and military personnel provide specific training in the field of rescue and tactical medicine. The courses are structured in such a way as to offer a professional specialization for those called upon to act in particular situations, and need to be able to lend their assistance work even during highly stressful situations, in remote areas, in extreme environmental conditions. The teaching methodology applied provides both lessons practical simulations extremely realistic. The teachers come from the international military medicine traditional, Special Forces or Military Corps of the Italian Red Cross.

The main issues covered are:

- Safety as a dynamic factor;
- Medical – tactical evaluation of a scenario;
- Preventive screening team;
- Weather – environmental factor;
- Individual movement;
- Movement of the team;
- Scenarios and completion of a medical – tactical evaluation;
- Evidence of movement in various scenarios;
- First aid under fire;
- Evaluation of the patient from a distance;
- Shipping methods under fire;
- Discipline noise / light;
- Methods of search and rescue;
- Triage in tactical situations;
- Trauma from gunshot: first aid;
- Assessment of patient in state of sensory deprivation;
- Assessment of patient in a state of sensory overload;
- Planning of long duration operations;
- Choice and sealing of medical / tactical equipment.

Courses of this type represent a real opportunity for civilian professional nurses, emergency workers, to hone their techniques and strategies of intervention in case of major disasters.



Ispettorato Generale della Sanità Militare



*LA SPERANZA È IN  
OGNI GOCCIA ...  
DONA IL SANGUE!*



Ufficio di Direzione e Coordinamento del  
Servizio Trasfusionale Militare  
Via Santo Stefano Rotondo, 4  
00184 - Roma  
06 777039212 - fax 06 777039334  
E-mail: [trasfusionale@igesan.difesa.it](mailto:trasfusionale@igesan.difesa.it)