



**Politecnico
di Torino**

Politecnico di Torino

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica

A.a. 2025/2026

Sessione di Laurea Aprile 2026

**Trasferimento in ambito clinico e
validazione preliminare di un
software per l'identificazione
automatica dei Complessi Lenti
Bifasici nell'EEG di pazienti
pediatrici con encefalite**

Relatore:

Luca Mesin

Candidata:

Lorena Galeotti

Mat. 324411

*Alla mia sorellina,
il mio punto fermo nella vita,
il mio esempio e la mia guida.
Anche se nella tua vita si aprono nuovi capitoli,
nulla cambierà ciò che siamo l'una per l'altra.
Oggi e per sempre.*

Sommario

L'encefalite è una sindrome infiammatoria del sistema nervoso centrale che coinvolge il parenchima cerebrale e può causare alterazioni acute dello stato di coscienza, crisi epilettiche e disturbi neuropsichiatrici, con il rischio di avere conseguenze neurologiche permanenti se non riconosciuta e trattata tempestivamente. La diagnosi del processo infiammatorio richiede l'integrazione di dati clinici con esami strumentali e di laboratorio spesso molto invasivi e costosi, tra cui la puntura lombare, per l'analisi del liquido cerebrospinale, ed esami di neuroimaging per valutare la presenza di lesioni ed anomalie. In aggiunta a tali procedure, l'elettroencefalogramma occupa una posizione centrale perché consente di valutare in tempo reale l'attività elettrica cerebrale in modo non invasivo, evidenziando rallentamenti diffusi, attività anomala e andamenti specifici. In questo contesto, l'analisi qualitativa clinica tradizionale può essere affiancata da approcci quantitativi e automatizzati mirati alla caratterizzazione di pattern patologici, con l'obiettivo di fornire al clinico elementi oggettivi che permettano di stimare l'entità del danno cerebrale e il livello di severità della patologia.

Il presente lavoro di tesi è finalizzato al trasferimento in ambito ospedaliero di un software in grado di riconoscere automaticamente i Complessi Lenti Bifasici (CLB) nei tracciati EEG di pazienti pediatrici encefalitici, riconosciuti da studi precedenti come marker significativi e la cui comparsa è strettamente collegata all'insorgenza della patologia. Questo metodo potrebbe orientare il clinico verso una diagnosi più rapida, oggettiva e basata su una tecnica completamente non invasiva.

Nell'ambito di questo progetto è stata sviluppata e implementata un'interfaccia grafica dedicata, che guida il clinico nella compilazione dei dati demografici, dei sintomi, della terapia in corso e degli esami strumentali eseguiti. Al termine dell'analisi automatizzata dell'EEG, il software genera un report riassuntivo che integra le informazioni inserite dal medico con i parametri quantitativi calcolati dall'algoritmo, fornendo una sintesi facilmente archiviabile a supporto della diagnosi e del follow-up.

Il software si basa su un algoritmo di identificazione automatica preesistente, fondato sulla cross-correlazione tra il segnale EEG e un prototipo di forma onda, opportunamente migliorato in questo studio mediante l'implementazione di procedure avanzate di post-processing. In particolare, sono state integrate tecniche di analisi spettrale dei ritmi EEG, clustering automatico per la rilevazione di pattern ricorrenti e analisi topografica della distribuzione spaziale dei complessi. Tali innovazioni metodologiche sono state affiancate dall'estrazione di indici quantitativi, come frequenza di comparsa dei CLB, ampiezza RMS delle onde e descrittori statistici degli intervalli inter-pulse (IPI) .

La tesi, dunque, è strutturata in quattro capitoli principali: il primo affronta i fondamenti neurofisiologici dell'EEG, le caratteristiche cliniche e epidemiologiche dell'encefalite e la definizione tecnica dei CLB; il secondo descrive l'architettura del software, i metodi di processamento del segnale e le procedure di validazione; il terzo presenta i risultati dell'analisi quantitativa e riporta singoli casi studio; nel quarto vengono discussi i risultati ottenuti, confrontandoli con la letteratura di riferimento, analizzando le implicazioni cliniche del metodo proposto e identificando i limiti metodologici e le prospettive future.

Lo studio si basa su un dataset di 128 tracciati EEG pediatrici provenienti da ricerche precedenti, mentre un primo passo verso la validazione del software è stato effettuato raccogliendo dati clinici presso l'Ospedale Regina Margherita di Torino a seguito del trasferimento del sistema, con particolare attenzione su alcuni pazienti encefalitici seguiti longitudinalmente da medici specialisti. In particolare, l'obiettivo principale è stato verificare la concordanza tra i parametri ricavati automaticamente e il decorso clinico della patologia, confermando che il sistema supporta efficacemente la diagnosi e la decisione terapeutica, ma preservando, allo stesso tempo, il ruolo decisionale e interpretativo del professionista.

I risultati statisticamente significativi ottenuti ($p < 0.001$), inoltre, evidenziano la capacità del software di discriminare tra tracciati relativi a pazienti patologici, in cui la densità di complessi lenti bifasici può raggiungere valori estremamente elevati (fino a 37 CLB/minuto registrati in fase acuta), e quelli appartenenti ai soggetti di controllo, in cui i CLB identificati risultano quasi assenti o molto rari.

Sebbene lo studio presenti alcune limitazioni metodologiche, esso rappresenta un contributo significativo verso l'integrazione di sistemi automatizzati a supporto del processo diagnostico dell'encefalite pediatrica, per migliorare l'oggettività e la tempestività della valutazione clinica e per ridurre significativamente l'impiego di procedure più costose ed invasive.

Indice

Elenco delle tabelle	III
Elenco delle figure	IV
1 Introduzione	1
1.1 Encefalite acuta: inquadramento clinico ed epidemiologico	1
1.1.1 Valutazione diagnostica	3
1.2 Elettroencefalogramma (EEG)	4
1.2.1 Proprietà dell'EEG	5
1.2.2 Basi neurofisiologiche	7
1.2.3 Standard di registrazione	8
1.2.4 Artefatti nel segnale	11
1.2.5 Evoluzione e ruolo clinico dell'EEG	12
1.3 Complessi Lenti Bifasici	13
2 Materiali e Metodi	17
2.1 Implementazione Software e Interfaccia Grafica	17
2.2 Dati di ricerca	22
2.3 Algoritmo esistente	23
2.4 Metodologie di analisi dei complessi lenti bifasici	25
2.4.1 CLB come marker di severità clinica: risultati dell'analisi quantitativa	26
2.4.2 Validazione di un classificatore automatico per la valutazione della gravità della patologia	29
2.4.3 Analisi della connettività funzionale	31
2.4.4 Relazione tra lesione e localizzazione dei CLB	32
2.5 Processing dei dati	33
2.5.1 Post-processing avanzato	37
3 Risultati	40
3.1 Distribuzione spaziale dei CLB	40

3.2	Relazione tra frequenza di comparsa dei CLB e valore di RMS . . .	43
3.3	Andamento dei ritmi EEG	46
3.4	Distribuzione degli IPI	49
3.5	Raggruppamento dei CLB in cluster	50
3.6	Confronto controlli vs patologici	51
3.7	Validazione clinica: casi studio di pazienti con encefalite	54
4	Discussione	67
5	Conclusioni	71
	Bibliografia	73

Elenco delle tabelle

1.1	Caratteristiche tecniche dei Complessi Lenti Bifasici (CLB)	15
2.1	Andamento dei ritmi EEG in funzione della gravità dell'encefalite .	30
3.1	Parametri quantitativi dei CLB nei pazienti encefalitici e nei soggetti di controllo	53
3.2	Caratteristiche tracciato Caso Studio 1	60
3.3	Caratteristiche tracciato Caso Studio 2	60
3.4	Caratteristiche tracciato Caso Studio 3	60
3.5	Caratteristiche tracciato Caso Studio 4	60

Elenco delle figure

1.1	Ritmi EEG caratteristici	6
1.2	Sistema 10-20 per il posizionamento degli elettrodi	9
1.3	Schema a blocchi di un canale EEG	10
1.4	Differenze nei ritmi EEG durante la crescita	14
1.5	Prototipo forma d'onda CLB	15
2.1	Schermata inserimento dati	18
2.2	Inserimento sintomi, test diagnostici e terapia	19
2.3	Schermata output diagnosi	20
2.4	Report clinico in formato HTML	21
2.5	Report clinico in formato HTML	22
2.6	Distribuzione dei CLB	35
2.7	Mappa topografica	36
2.8	Risultato dell'analisi di clustering dei CLB	39
3.1	Boxplot distribuzione tassi medi CLB	43
3.2	Analisi per-paziente della relazione tra l'intervallo dei CLB e l'ampiezza RMS	45
3.3	Variazioni della potenza Delta (1-4 Hz) nella finestra pre-CLB	47
3.4	Variazioni della potenza Theta (4-8 Hz) nella finestra pre-CLB	47
3.5	Variazioni della potenza Alpha (8-13 Hz) nella finestra pre-CLB	48
3.6	Variazioni della potenza Beta (13-30 Hz) nella finestra pre-CLB	48
3.7	Scatter plot della distribuzione degli IPI	50
3.8	Cluster rilevati dal software	52
3.9	Porzione di tracciato EEG soggetto patologico con gravità severa	54
3.10	Porzione di tracciato EEG soggetto patologico con gravità moderata	55
3.11	Porzione di tracciato EEG soggetto controllo	56
3.12	Confronto delle registrazioni EEG relative al Caso Studio 1	61
3.13	Confronto delle registrazioni EEG relative al Caso Studio 2	62
3.14	Confronto delle registrazioni EEG relative al Caso Studio 3	63
3.15	Confronto delle registrazioni EEG relative al Caso Studio 4	64

3.16	Andamento ritmi EEG Caso Studio 1	65
3.17	Andamento ritmi EEG Caso Studio 2	65
3.18	Andamento ritmi EEG Caso Studio 3	66
3.19	Andamento ritmi EEG Caso Studio 4	66

Capitolo 1

Introduzione

1.1 Encefalite acuta: inquadramento clinico ed epidemiologico

L'encefalite acuta è una patologia caratterizzata da un processo neuroinfiammatorio a carico del parenchima cerebrale e potenzialmente responsabile di grave disabilità o morte, ma che risulta spesso trattabile se identificata e gestita tempestivamente. La diagnosi clinica si basa sul riconoscimento di specifici marcatori surrogate, tra cui parametri citochimici del liquido cerebrospinale (LCS), segni di infiammazione del parenchima cerebrale rilevabili tramite neuroimaging avanzato e anomalie dell'attività bioelettrica documentate all'elettroencefalogramma (EEG) [1].

L'eziologia è estremamente eterogenea e comprende numerosi agenti patogeni di diversa natura, che variano dai virus neurotropi ai batteri, micobatteri e protozoi, fino a includere condizioni post-infettive e disordini immuno-mediati. All'interno di questi ultimi rivestono particolare importanza clinica l'encefalomielite acuta disseminata (ADEM) e le encefaliti autoimmuni, in particolare la forma associata ad anticorpi anti-recettore NMDA [2].

La valutazione dell'impatto epidemiologico globale dell'encefalite risulta complessa a causa della mancanza di definizioni standardizzate e della disomogeneità delle popolazioni studiate. Tale complessità è ulteriormente amplificata dall'ampio spettro di disordini del sistema nervoso centrale che possono simulare un quadro clinico simile a quello dell'encefalite. Le forme infettive, inoltre, possono manifestarsi come epidemiche (con numerosi casi simultanei), endemiche (persistenti in aree geografiche specifiche) o sporadiche (episodi isolati).

Nel 2006, per rispondere all'esigenza di standardizzare la sorveglianza epidemiologica, l'Organizzazione Mondiale della Sanità ha introdotto la definizione di *sindrome encefalitica acuta*, descritta come “una malattia che può colpire individui di qualsiasi età e in qualsiasi periodo dell'anno, caratterizzata da insorgenza acuta di febbre

associata ad alterazioni della coscienza, stupor, coma e/o insorgenza di nuove crisi epilettiche, con esclusione delle convulsioni febbrili semplici” [3].

Successivamente, nel 2013, il Consorzio Internazionale per l’Encefalite ha proposto criteri diagnostici più specifici, che richiedono la presenza di alterazioni neurologiche persistenti per almeno 24 ore, accompagnate da almeno due tra i seguenti elementi:

- Febbre $\geq 38^{\circ}\text{C}$ entro 72 ore
- Crisi epilettiche
- Deficit neurologici
- Anomalie del liquido cerebrospinale (≥ 5 globuli bianchi [WBCs]/ μL),
- Alterazioni della risonanza magnetica cerebrale
- Elettroencefalogramma alterato.

Nei bambini, l’encefalite autoimmune si manifesta solitamente in soggetti precedentemente sani ed è caratterizzata da un esordio rapido di sintomi neuropsichiatrici [4]. In oltre la metà dei casi è presente una fase prodromica con febbre, seguita da un quadro clinico che tende a persistere fino all’inizio della terapia.

Le manifestazioni neurologiche comprendono soprattutto alterazioni dello stato di coscienza, confusione, disturbi del sonno, crisi epilettiche e anomalie del movimento. Le caratteristiche cliniche pediatriche si distinguono da quelle degli adulti per diversi motivi legati allo sviluppo ancora in corso delle reti neuronali, alla maturazione dei recettori e ai processi di mielinizzazione. Di conseguenza, i bambini presentano più frequentemente quadri neuropsichiatrici multifocali piuttosto che sindromi isolate. Un esempio è quello dei pazienti con anticorpi anti-GAD65: mentre negli adulti queste forme si associano più frequentemente alla "sindrome della persona rigida" o a quadri di degenerazione cerebellare, nei bambini tali manifestazioni risultano molto più rare. In modo analogo, l’encefalite associata ad anticorpi anti-NMDAR nei bambini si manifesta prevalentemente con disturbi del movimento, agitazione, insonnia, crisi epilettiche, deficit del linguaggio, atassia o emiparesi, mentre negli adulti prevalgono i disturbi della memoria, le manifestazioni psichiatriche e l’ipoventilazione centrale. Un’ulteriore differenza significativa riguarda l’associazione con neoplasie, molto più rara in età pediatrica rispetto all’età adulta [4].

La diagnosi di encefalite autoimmune pediatrica, dunque, può essere complessa a causa della sovrapposizione dei sintomi tra diverse patologie e della variabilità dei quadri clinici nei singoli pazienti. I criteri pediatrici tengono conto delle differenze rispetto agli adulti nelle manifestazioni cliniche, nei reperti paraclinici e nei profili di autoanticorpi [4]. Questa eterogeneità rende essenziale un approccio diagnostico tempestivo e multidisciplinare, permettendo un inquadramento precoce e un trattamento mirato per ridurre il rischio di danni neurologici permanenti.

1.1.1 Valutazione diagnostica

La diagnosi di encefalite autoimmune in età pediatrica si fonda sulla combinazione di un quadro clinico suggestivo e del supporto di indagini strumentali e di laboratorio. L'obiettivo principale è confermare la presenza di un processo infiammatorio e, al contempo, escludere cause alternative come infezioni, malattie metaboliche o disturbi psichiatrici primari [4].

Gli esami di base comprendono indagini ematochimiche, utili per valutare lo stato infiammatorio generale, la ricerca di autoanticorpi associati a malattie sistemiche e indizi di eventuali deficit metabolici o tossici.

Un passaggio centrale è la puntura lombare, che permette di analizzare il liquido cerebrospinale: pur non essendo sempre alterato, può mostrare pleiocitosi o aumento delle proteine e contribuisce anche a escludere encefaliti infettive tramite analisi microbiologiche e molecolari. Nei pazienti instabili o con sospetto di ipertensione endocranica, è raccomandato eseguire prima una TAC o una risonanza magnetica per ridurre i rischi della procedura [2][4].

Anche la risonanza magnetica cerebrale rappresenta uno strumento fondamentale durante la valutazione: può risultare normale nelle fasi iniziali, ma in alcuni casi mostra lesioni infiammatorie, segni di edema o altre anomalie che orientano verso la diagnosi di encefalite o verso diagnosi alternative come malattie demielinizzanti o encefalopatie post-infettive.

Un ruolo molto importante è svolto dall'elettroencefalogramma (EEG): nella maggior parte dei bambini con encefalite acuta, l'EEG non risulta normale, ma si possono osservare rallentamenti diffusi, attività epilettiforme focale o generalizzata e, in alcuni casi, pattern specifici. Tra questi, i *complessi lenti bifasici* (CLB) rappresentano un elemento di particolare interesse al quale sarà riservata un'analisi più dettagliata nei paragrafi successivi: la loro presenza e le loro caratteristiche quantitative, come numero e ampiezza, sono correlate alla gravità della malattia [5]. Un ulteriore pattern noto è il cosiddetto *extreme delta brush*, associato all'encefalite da anticorpi anti-NMDAR [2][4]. Inoltre, la presenza di un tracciato non reattivo o con anomalie diffuse può avere significato prognostico, poiché associato a condizioni neurologiche più gravi.

L'EEG, dunque, non serve solo a distinguere l'encefalite autoimmune da disturbi psichiatrici o metabolici, ma è anche utile per riconoscere crisi epilettiche silenziose e seguire l'andamento della malattia [2].

In questo contesto, grazie alla sua non invasività, rapidità di esecuzione ed economicità, l'elettroencefalogramma fornisce in tempo reale informazioni funzionali uniche sullo stato cerebrale superando per tempestività e facilità d'uso esami più costosi e invasivi.

Infine, in casi selezionati, possono essere richiesti test neurocognitivi, utili a documentare deficit di memoria, linguaggio o funzioni esecutive, e la ricerca di

autoanticorpi specifici, che rafforza l'ipotesi di encefalite autoimmune. La biopsia cerebrale rimane una procedura rara, riservata a situazioni in cui, nonostante indagini complete, la diagnosi resti incerta e sia necessario escludere altre patologie [2][4].

1.2 Elettroencefalogramma (EEG)

L'elettroencefalografia è una tecnica essenziale per lo studio dell'attività elettrica cerebrale, in quanto consente di registrare le fluttuazioni dei potenziali extracellulari generati dall'attività sincrona di ampie popolazioni neuronali corticali, in particolare delle cellule piramidali, e di cui l'elettroencefalogramma non è altro che la risultante spazio-temporale [6].

La denominazione stessa della tecnica riflette questa funzione: il termine deriva, infatti, dalle parole greche *enkephalos* (encefalo) e *graphein* (scrivere), indicando letteralmente la "scrittura del cervello".

Le prime osservazioni risalgono al 1875, quando Richard Caton descrisse correnti elettriche cerebrali negli animali da esperimento. Nel 1929 Hans Berger riuscì per la prima volta a registrare l'attività elettrica cerebrale nell'uomo, identificando i ritmi alfa e beta e ponendo le basi della moderna elettroencefalografia. Da allora, l'EEG è divenuto un mezzo diagnostico essenziale in neurologia, capace di correlare stati fisiologici e condizioni patologiche con specifici pattern elettrofisiologici.

La registrazione del segnale può avvenire con diverse modalità tecniche: gli elettrodi possono essere posizionati sulla superficie dello scalpo per una valutazione non invasiva, oppure collocati direttamente sulla corteccia cerebrale nel caso dell'elettrocorticogramma (ECoG) per aumentare la risoluzione del segnale; una terza opzione è rappresentata dalle registrazioni intracorticali, che forniscono i cosiddetti potenziali di campo locale (Local Field Potentials, LFP) [6].

Le modalità di acquisizione del segnale elettroencefalografico si suddividono in due categorie principali, ciascuna con caratteristiche e applicazioni specifiche.

L'EEG *spontaneo* documenta l'attività cerebrale in condizioni basali o durante particolari stati fisiologici, come la veglia tranquilla o le diverse fasi del sonno.

I *potenziali evento-correlati (ERP)*, invece, rappresentano modificazioni transitorie dell'attività elettrica che si manifestano in risposta a stimolazioni interne o esterne. Tali segnali costituiscono uno strumento investigativo importante per lo studio dei processi neurofisiologici legati alla percezione, all'elaborazione cognitiva e alle risposte comportamentali [6].

1.2.1 Proprietà dell'EEG

L'ampiezza del segnale EEG presenta variazioni significative in relazione alla modalità di registrazione impiegata. Nelle registrazioni effettuate attraverso elettrodi posizionati sullo scalpo, i soggetti sani in stato di veglia mostrano ampiezze comprese nell'intervallo 10-100 μV . Le registrazioni corticali dirette evidenziano invece valori considerevolmente più elevati, dell'ordine di 500-1500 μV , a causa della minore attenuazione del segnale dovuta all'assenza dei tessuti interposti.

In presenza di condizioni patologiche, come nell'epilessia, le oscillazioni possono subire un'intensificazione marcata, raggiungendo ampiezze fino a dieci volte superiori rispetto ai valori normali. Questa amplificazione del segnale rappresenta uno dei marker elettrofisiologici più caratteristici degli stati di ipereccitabilità neuronale [6].

L'analisi delle onde cerebrali nell'EEG si basa su due parametri fondamentali: la morfologia e la topografia.

La *morfologia* delle onde è definita dalla loro regolarità temporale: le onde monomorfe si manifestano con caratteristiche ripetitive, mantenendo costanti sia la frequenza che l'ampiezza nel tempo, mentre le onde polimorfe, pur conservando una frequenza complessiva stabile, non presentano periodicità regolare e mostrano variazioni di ampiezza.

La *topografia* delle onde, invece, descrive la loro distribuzione spaziale, valutando principalmente il grado di somiglianza tra i due emisferi cerebrali. Un tracciato EEG viene classificato come simmetrico quando le onde presentano caratteristiche identiche in entrambi gli emisferi, mentre si definisce asimmetrico quando particolari pattern oscillatori si manifestano esclusivamente in un emisfero [7].

Il segnale elettroencefalografico può essere descritto in base a specifiche bande di frequenza, note come ritmi cerebrali, mostrati in figura 1.1. I principali sono: delta (0,5-4 Hz), theta (4-8 Hz), alfa (8-13 Hz), beta (13-30 Hz) e gamma (>30 Hz). Quest'ultima banda è di più difficile rilevazione tramite elettrodi di superficie, mentre nelle registrazioni corticali dirette (ECoG) può raggiungere frequenze fino a 100 Hz o superiori [6]. La distribuzione dei ritmi varia in funzione di età, livello di vigilanza e stato comportamentale, oltre che per l'influenza di fattori patologici, metabolici o farmacologici:

- **Delta:** prevale durante il sonno profondo, con onde di grande ampiezza (75-200 μV).
- **Theta:** poco frequenti negli adulti, ma predominanti nei roditori, dove il range di frequenza si estende fino a 12 Hz e le onde hanno ampiezza alta e tipica forma a dente di sega. Nell'uomo, possono comparire in stati emotivi o cognitivi particolari e in alcune condizioni patologiche associate al rallentamento delle onde alpha.

- **Alpha:** tipiche dello stato di veglia rilassata, soprattutto nelle regioni posteriori del capo. Sono più evidenti a occhi chiusi e si riducono con l'attenzione visiva o lo sforzo mentale. I ritmi mu, simili per frequenza alle alpha ma localizzati nelle aree centrali, sono legati alla corteccia motoria e vengono soppressi durante l'attività motoria.
- **Beta:** associati a vigilanza elevata e attenzione focalizzata.
- **Gamma:** correlati all'elaborazione delle informazioni, al riconoscimento di stimoli sensoriali e all'inizio di movimenti volontari.

In generale, le frequenze più lente corrispondono a stati di inattività o riposo cerebrale, mentre quelle più rapide sono implicate nell'elaborazione attiva delle informazioni.

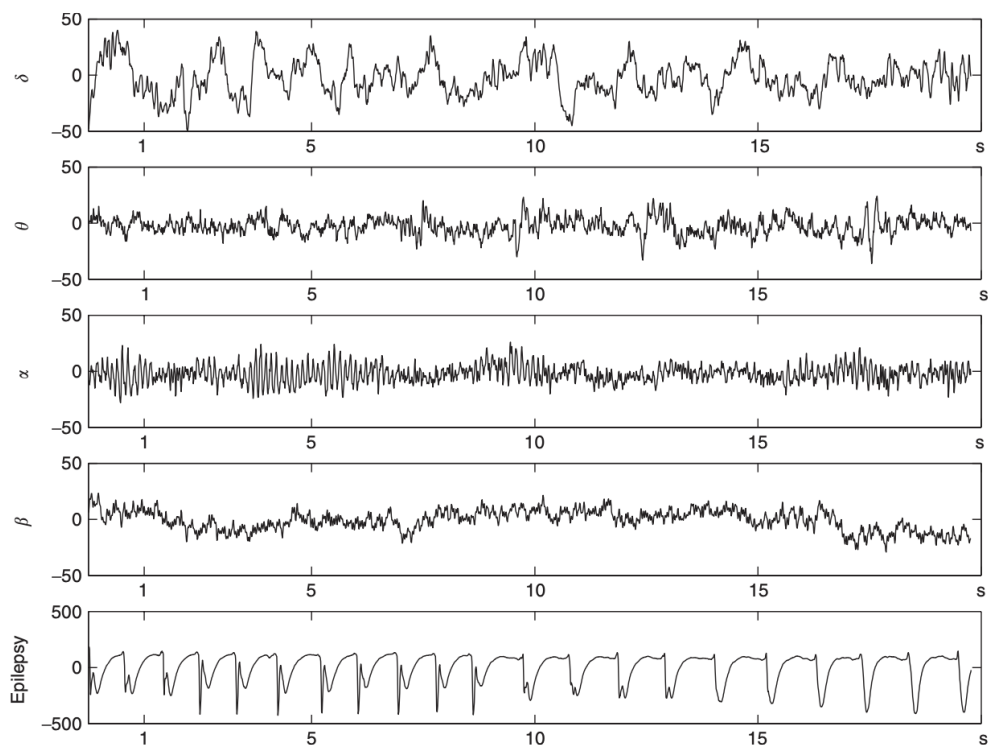


Figura 1.1: Ritmi EEG caratteristici, dall'alto verso il basso: delta (0,5–4 Hz), theta (4–8 Hz), alpha (8–13 Hz) e beta (13–30 Hz). L'ultima traccia rappresenta l'EEG durante una crisi epilettica, in cui la scala di ampiezza è circa un ordine di grandezza maggiore rispetto alle altre tracce.

1.2.2 Basi neurofisiologiche

Nel tessuto nervoso si identificano principalmente due popolazioni cellulari: i neuroni, responsabili della trasmissione dei segnali, e le cellule gliali, che svolgono funzioni di sostegno e modulazione. Entrambe le tipologie cellulari mantengono un potenziale di riposo di circa -80 mV, determinato dalla distribuzione differenziale di ioni tra l'ambiente intracellulare ed extracellulare [6].

I protagonisti principali di questo equilibrio elettrochimico sono il potassio (K^+), il sodio (Na^+), il cloro (Cl^-) e grandi anioni organici. Il calcio (Ca^{2+}), sebbene presente in concentrazioni minori, riveste un ruolo essenziale nella regolazione dei processi cellulari. Il mantenimento del gradiente elettrochimico è garantito da sistemi di trasporto attivo (come la pompa sodio-potassio) che introducono K^+ all'interno della cellula e Na^+ verso l'esterno, utilizzando energia derivata dal metabolismo [6]. La funzione elettrica dei neuroni si manifesta principalmente attraverso due fenomeni:

- Il **potenziale d'azione**, che si attiva quando lo stimolo supera una soglia critica. In questo caso, la membrana diventa improvvisamente permeabile al sodio, consentendo un ingresso massivo di Na^+ che inverte temporaneamente la polarità interna fino a circa $+30$ mV. Successivamente, l'apertura dei canali del potassio permette il deflusso di K^+ e il ripristino del potenziale negativo. Questo evento, dalla durata di circa 1 millisecondo, segue la legge del *tutto o nulla*: stimoli sovrasoglia generano sempre un impulso di intensità costante, mentre stimoli sottosoglia non provocano alcuna risposta [6].
- I **potenziali postsinaptici (PSP)**, che rappresentano variazioni locali e sub-soglia della membrana del neurone postsinaptico. Quando un potenziale d'azione raggiunge la terminazione sinaptica induce il rilascio di neurotrasmettitori, i quali modificano la permeabilità della membrana del neurone successivo. L'ingresso di Na^+ riduce la negatività interna e determina un *potenziale eccitatorio* (EPSP), mentre un incremento della carica negativa interna genera un *potenziale inibitorio* (IPSP). L'ampiezza dei PSP dipende dalla quantità di neurotrasmettitore liberato e generalmente è pari a 5–10 mV con una durata compresa tra 10 e 50 ms. Per raggiungere la soglia e generare un potenziale d'azione, è necessaria la somma di numerosi PSP a livello del corpo cellulare [6].

L'eccitazione dei neuroni postsinaptici genera una distribuzione extracellulare di cariche che può essere descritta come un dipolo, costituito da una regione negativa (sink) e una positiva (source) separate nello spazio [8].

Gli elettrodi non rilevano direttamente l'attività di un singolo neurone, il cui contributo è troppo debole per essere misurato, ma registrano la somma dei dipoli generati da popolazioni neuronali. Inoltre, un dipolo risulta rilevabile solo

se l'elettrodo si trova più vicino a una delle sue due estremità; ciò implica che il segnale elettroencefalografico dipende dalla disposizione spaziale dei neuroni e dall'orientamento dei dipoli.

Affinché il fenomeno sia osservabile su scala macroscopica, è necessario che un ampio numero di neuroni sia organizzato parallelamente e attivo in sincronia. In tal modo, le distribuzioni di carica, che si generano grazie alle correnti ioniche che scorrono lungo la membrana e attraverso gli spazi intra ed extracellulari, sommandosi diventano rilevabili a livello dello scalpo [6][8].

I neuroni piramidali della corteccia cerebrale soddisfano tali condizioni e rappresentano la principale fonte del segnale EEG, grazie alla loro struttura allungata e alla durata relativamente lunga dei potenziali postsinaptici. I potenziali d'azione, al contrario, avendo una durata molto più breve (<2 ms), contribuiscono in misura trascurabile al segnale globale [6][8].

1.2.3 Standard di registrazione

L'elettroencefalogramma (EEG) viene registrato tramite elettrodi applicati sul cuoio capelluto, fissati con adesivi (ad esempio collodio) oppure inseriti in apposite cuffie elastiche. Per garantire una buona qualità del segnale, è fondamentale mantenere la resistenza di contatto al di sotto dei 5 k Ω : a tal fine la cute viene pulita con alcol diluito e sull'elettrodo viene applicata pasta conduttiva.

Il movimento degli ioni, quindi, viene trasformato in una corrente di flusso di elettroni grazie agli elettrodi che costituiscono un'interfaccia tra il tessuto umano e i fili [6].

La corretta localizzazione degli elettrodi è indispensabile sia per interpretare accuratamente una registrazione singola sia per poter confrontare diversi tracciati. A questo scopo è stato introdotto un sistema standardizzato, il cosiddetto **sistema 10–20** (Fig. 1.2), che prevede 19 elettrodi posizionati in punti definiti in base a precisi riferimenti anatomici, più due ulteriori elettrodi auricolari (A1 e A2). La distanza tra gli elettrodi corrisponde al 10–20% della distanza tra i punti di repere [6][7].

Le sigle indicano la regione del capo:

- F = lobo frontale
- P = lobo parietale
- O = lobo occipitale
- T = lobo temporale
- C = elettrodi centrali (posizionati sulla linea mediana del cervello)
- FP = elettrodi in posizione frontale, sopra gli occhi

Un aspetto condiviso tra le diverse tipologie di montaggio è la necessità di gestire gli artefatti, che possono originare da attività muscolare, cardiaca, movimenti oculari, campi elettromagnetici esterni, contatto inadeguato degli elettrodi o movimenti del soggetto. Per identificarli e correggerli in modo efficace, è utile registrare simultaneamente, oltre all'EEG, anche i segnali fisiologici come EMG, ECG ed EOG, che consentono di distinguere le componenti non cerebrali del tracciato [6]. Dal punto di vista tecnico, il segnale EEG viene digitalizzato tramite *convertitori analogico-digitali* a 12 bit. La frequenza di campionamento varia in base al tipo di registrazione: circa 100 Hz per l'EEG spontaneo, alcune centinaia di Hz per i potenziali evento-relati (ERP), e fino a diversi kHz per i potenziali a latenza molto breve. Prima della digitalizzazione, però, sono essenziali ulteriori passaggi che permettono di ottenere un segnale di qualità (Fig 1.3):

- L'*amplificatore* è un elemento essenziale nei sistemi EEG perché consente di massimizzare il rapporto segnale/rumore (SNR) e di preservare la qualità del segnale incrementando la sua ampiezza. L'amplificazione, dunque, consente di attenuare l'impatto che il rumore, introdotto dai cavi, avrebbe sul segnale rilevato allo scalpo e che porterebbe alla sua degradazione.

Un parametro fondamentale è l'impedenza d'ingresso dell'amplificatore, che ne definisce la capacità di acquisire il segnale anche in presenza di contatti elettrodo-scalpo non ottimali. In tali condizioni, infatti, lo strato costituito da capelli e aria agisce come un isolante, attenuando la trasmissione del segnale elettrico. Ciò rende ancora più cruciale il ruolo dell'amplificatore nel preservare l'affidabilità e la qualità della registrazione [8].

- Si utilizzano *filtri passa-basso anti-aliasing* per evitare distorsioni dovute al campionamento e *filtri passa-alto* per rimuovere le componenti indesiderate a frequenze molto basse [6].

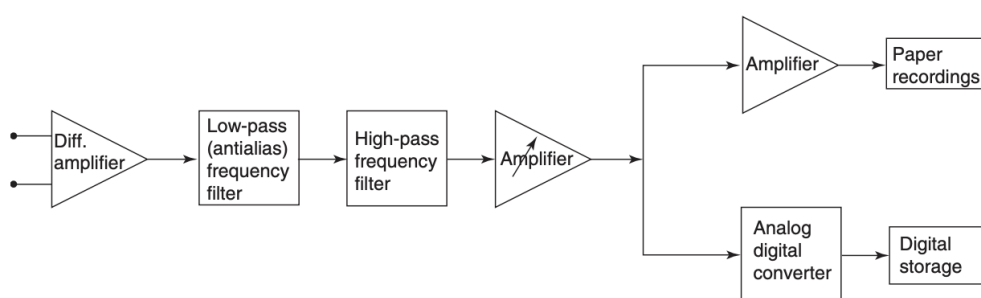


Figura 1.3: Schema a blocchi di un canale EEG: il segnale, acquisito tramite elettrodi e amplificatore differenziale, viene filtrato e amplificato per consentirne la conversione analogico-digitale e la memorizzazione.

1.2.4 Artefatti nel segnale

Gli artefatti comprendono tutte le sorgenti elettriche estranee all'attività corticale che si sovrappongono al tracciato EEG, compromettendo la possibilità di interpretare correttamente l'informazione neurale di interesse [9]. Le categorie di artefatti più comuni che possono emergere durante la registrazione sono quelle di origine fisiologica e quelle di origine non fisiologica o tecnica.

Gli artefatti tecnici possono spesso essere ridotti intervenendo durante la registrazione, garantendo un corretto posizionamento degli elettrodi o utilizzando apparecchiature adeguatamente schermate. Quelli fisiologici, al contrario, sono difficilmente evitabili e rappresentano la principale fonte di disturbo nei tracciati EEG. Per questo motivo, la maggior parte degli algoritmi di pulizia del segnale è progettata proprio per ridurre tali contaminazioni [9]. Di seguito vengono illustrati i tipi di artefatti fisiologici più frequenti.

Artefatti oculari: movimenti oculari e blinking: I movimenti degli occhi generano un segnale misurabile tramite elettrooculogramma (EOG), ed è abbastanza intenso da essere rilevato anche dagli elettrodi EEG. Le interferenze oculari vengono captate in maniera predominante dagli elettrodi frontali, ma possono anche estendersi a regioni più posteriori. L'entità del disturbo varia in base alla distanza dagli occhi e alla direzione dello sguardo. I blink, invece, producono variazioni più rapide e di ampiezza maggiore rispetto ai movimenti oculari lenti, e spesso superano di molto l'ampiezza dell'attività cerebrale di fondo. La presenza di un riferimento EOG registrato simultaneamente all'EEG, dunque, risulta molto utile per la rimozione di tali artefatti [9].

Artefatti muscolari: attività miogena (EMG): Gli artefatti muscolari derivano dall'attività elettrica generata dalla contrazione dei muscoli e sono particolarmente frequenti durante la veglia. La loro forma e ampiezza variano notevolmente in base al tipo di muscolo attivato e all'intensità della contrazione, e ciò rende tali artefatti estremamente eterogenei. Una caratteristica che li rende difficili da correggere è il loro ampio contenuto spettrale: l'EMG può, infatti, sovrapporsi a tutte le principali bande EEG, con un'interferenza particolarmente marcata nella banda beta (15–30 Hz), ma talvolta estendendosi fino a frequenze molto più basse, anche nell'intervallo alfa. Inoltre, l'attività miogena può essere rilevata su tutto lo scalpo a causa della conduzione di volume, indipendentemente dall'area muscolare coinvolta. Un ulteriore aspetto problematico è la sua variabilità temporale: poiché l'attività muscolare può comparire in momenti molto diversi e per ragioni eterogenee, il segnale EMG non si ripete in modo regolare o con una forma stabile e ciò complica ulteriormente sia la fase di identificazione sia quella di rimozione del disturbo dal segnale EEG [9].

Artefatti cardiaci: L'elettrocardiogramma (ECG) riflette l'attività elettrica del cuore e può essere captato dagli elettrodi EEG, con un'ampiezza generalmente ridotta ma molto variabile in funzione del posizionamento degli elettrodi e delle caratteristiche del soggetto. Poiché l'ECG presenta un andamento regolare e ripetitivo, in alcune condizioni può essere scambiato erroneamente per attività epilettiforme, ma il vantaggio principale è che viene spesso registrato insieme all'EEG, fornendo un riferimento utile per la sua eliminazione. Diversa è la situazione dei "pulse artifacts", che si verificano quando un elettrodo è posizionato sopra un vaso pulsante: questi generano onde lente e periodiche che possono assomigliare all'attività EEG e risultano più difficili da identificare. Tale fenomeno tende a presentarsi su un solo elettrodo e, per tale motivo, può essere mitigato tramite un corretto posizionamento dei sensori [9].

Oltre ai fenomeni più comuni, è possibile trovare anche artefatti legati ai potenziali cutanei, come le variazioni di baseline dovute alla sudorazione o alla risposta cutanea simpatica, entrambe caratterizzate da oscillazioni lente di ampiezza variabile. Altri artefatti meno frequenti includono interferenze legate ai movimenti della lingua, alla presenza di restauri dentali in metalli diversi, a variazioni respiratorie o a movimenti del torace e del corpo [9].

1.2.5 Evoluzione e ruolo clinico dell'EEG

Sviluppo fisiologico dell'EEG dall'infanzia all'età adulta. L'elettroencefalogramma (EEG) evolve in modo significativo con l'età e in relazione allo sviluppo di patologie. Nell'interpretazione dei pattern EEG, quindi, deve essere considerato non solo lo stato di vigilanza del soggetto, ma anche la sua età e il livello di maturazione cerebrale.

Durante l'infanzia, l'attività elettrica cerebrale è caratterizzata da una predominanza di ritmi lenti, in particolare nelle aree posteriori della corteccia (regioni occipitali e parietali), legata principalmente alle bande delta e theta, e rappresenta un indice di immaturità funzionale che tende a diminuire progressivamente con l'avanzare dell'età. Intorno ai 10 anni, compare in modo più evidente il ritmo alpha, tipicamente associato a stati di veglia rilassata e a processi cognitivi più complessi, che diventa sempre più regolare e stabile fino a consolidarsi nell'età adulta [6].

Dal punto di vista quantitativo, l'EEG in età pediatrica presenta una potenza assoluta più elevata in tutte le bande di frequenza rispetto a quello in età adulta, dovuta a una maggiore attività complessiva del sistema nervoso in fase di sviluppo. Tuttavia, se si considerano i valori relativi, nei bambini prevalgono le frequenze lente (delta e theta), mentre negli adulti si osserva un incremento delle frequenze rapide (alpha e beta), espressione di una maturazione funzionale e di un'efficienza

sinaptica superiore [10].

Dunque, studi sperimentali evidenziano che, pur essendo complessivamente simile, la distribuzione spaziale dei ritmi EEG nei due casi mostra differenze più marcate nelle bande delta e theta, che risultano particolarmente sensibili allo sviluppo. Inoltre, si osserva una relazione inversa tra l'attività delta, più marcata nei primi anni di vita, e l'attività alpha, che si rafforza e si stabilizza durante la crescita (Fig. 1.4). Questo andamento suggerisce che la maturazione cerebrale segue una traiettoria che procede dalle aree posteriori a quelle anteriori e dalle frequenze lente, tipiche dell'infanzia, a quelle più rapide, caratteristiche dell'età adulta [10].

Il ruolo dell'EEG nelle patologie del sistema nervoso centrale. Come già accennato, l'EEG non è influenzato soltanto dall'età, ma anche da numerose condizioni patologiche che interessano il sistema nervoso centrale. Tra queste, l'encefalite acuta rappresenta un quadro particolarmente rilevante, poiché l'infiammazione cerebrale può determinare alterazioni elettriche caratteristiche che sono utili sia per la diagnosi che per la valutazione prognostica.

Data la complessità della diagnosi, che richiede l'integrazione di dati clinici, laboratoristici e radiologici, l'EEG riveste un ruolo di primo piano: si tratta infatti di un esame rapido, non invasivo ed economico, utilizzabile sia in urgenza sia nel follow-up, in grado di rilevare alterazioni elettrofisiologiche caratteristiche, come rallentamenti diffusi o focali ed eventuali scariche periodiche [5].

Tra le alterazioni EEG osservate nei pazienti encefalitici, particolare attenzione verrà rivolta ai complessi lenti bifasici (CLB). Questi pattern, descritti in diverse condizioni neurologiche e infiammatorie, hanno mostrato una stretta correlazione con la gravità dell'encefalite, tanto da essere utilizzati anche in analisi automatizzate per la stima di indici quantitativi di severità [5].

L'identificazione e lo studio dei CLB offrono, dunque, un contributo significativo per comprendere meglio il ruolo dell'EEG non solo nella diagnosi, ma anche nel monitoraggio e nella valutazione prognostica di questa patologia.

1.3 Complessi Lenti Bifasici

I complessi lenti bifasici (CLB) rappresentano dei pattern elettroencefalografici patologici di grande interesse clinico, frequentemente osservati nei pazienti con processi neuroinfiammatori, in particolare nelle encefaliti, ma descritti anche in altre condizioni infiammatorie o degenerative del sistema nervoso centrale, come sindrome di Rasmussen e sindrome di West .

L'analisi approfondita condotta negli studi [5][11][12][13] ha permesso di definirne con maggiore precisione le caratteristiche tecniche e quantitative: frequenza di comparsa, ampiezza e distribuzione spaziale sono parametri fondamentali che, se

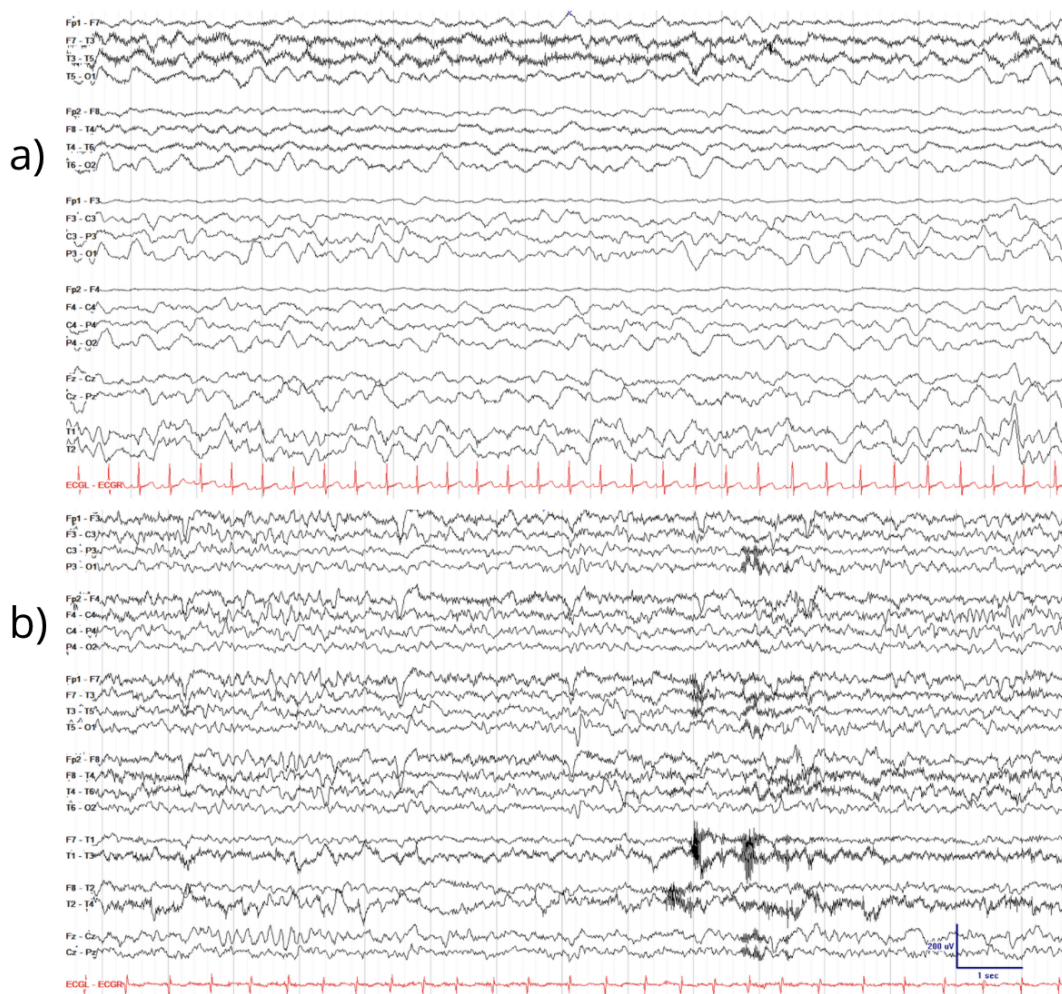


Figura 1.4: Differenze nei ritmi EEG tra a) un bambino di due mesi sveglio in cui si ha una prevalenza delle bande delta mentre il ritmo alfa non ancora sviluppato e b) un bambino di 6 anni sveglio in cui il ritmo alfa aumenta gradualmente

valutati con metodiche tradizionali o con metodi automatizzati di riconoscimento, offrono informazioni rilevanti sul piano diagnostico e prognostico.

La loro identificazione sistematica nei tracciati EEG permette, infatti, di interpretarli non soltanto come una manifestazione aspecifica, ma come marker elettrofisiologici utili alla comprensione dei meccanismi neuropatologici e al monitoraggio della gravità del processo encefalico. Le caratteristiche dei CLB possono essere analizzate su più livelli, integrando aspetti morfologici, quantitativi e topografici.

Tali complessi si manifestano come onde lente, prevalentemente nella banda delta e si presentano come deflessioni bifasiche del segnale EEG, in cui due componenti

Tabella 1.1: Caratteristiche tecniche dei Complessi Lenti Bifasici (CLB)

Struttura	Bifasica con due componenti di polarità opposta
Durata	~ 500 ms (variabile)
Ampiezza	50-200 μV (range tipico)
Caratteristiche temporali	Di natura sporadica, non periodica
Distribuzione spaziale	Localizzazione prevalentemente in regioni frontali

di polarità opposta si susseguono con una durata media di circa 500 millisecondi (Fig. 1.5)[11].

L'ampiezza dei CLB si colloca generalmente tra 50 e 200 μV e diversi studi quantitativi hanno evidenziato una correlazione significativa tra ampiezza e durata temporale del complesso: onde più ampie tendono a manifestarsi con una durata maggiore. I CLB, dunque, non crescono solo in intensità ma anche in estensione temporale, seguendo uno scaling proporzionale che interessa contemporaneamente l'asse dell'ampiezza e quello della durata. Ciò è rilevante perché suggerisce che, al di là della variabilità dimensionale osservata nei tracciati, i CLB condividono una morfologia stereotipata: se normalizzati rispetto alla scala temporale e di ampiezza, i complessi appaiono sovrapponibili tra loro, mantenendo la stessa struttura bifasica di base [11].

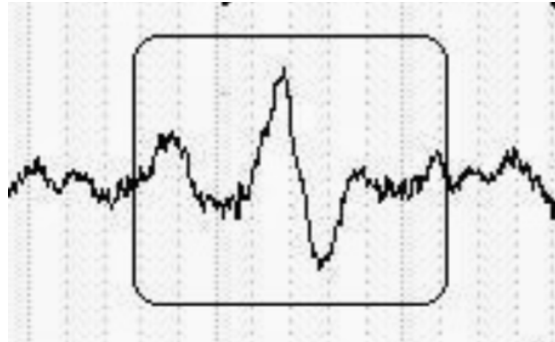


Figura 1.5: Esempio di CLB nel segnale EEG

Una caratteristica distintiva dei CLB rispetto ad altre attività ritmiche patologiche è la loro natura sporadica e non periodica: questi complessi si manifestano come eventi isolati, separati da intervalli di tempo variabili, senza seguire schemi ricorrenti o sequenze pseudo-periodiche. Questa peculiarità è fondamentale per la loro identificazione poiché scariche ripetitive con morfologia simile vengono escluse dalla categoria dei CLB. Infatti, l'analisi dell'intervallo inter-pulse (IPI), definito come il

tempo che separa due complessi lenti bifasici consecutivi, consente di valutare la distribuzione temporale degli eventi e di distinguere l'attività patologica da quella casuale [5][11].

L'analisi sui CLB ha dimostrato che anche la loro distribuzione spaziale non è casuale, con una chiara predominanza nelle regioni frontali, soprattutto nei pazienti con forme più gravi di encefalite. La loro localizzazione, inoltre, tende a riflettere, almeno in parte, le lesioni cerebrali evidenziate dal neuroimaging: nei pazienti con encefalite diffusa i complessi si distribuiscono bilateralmente, mentre nelle forme più circoscritte risultano spesso lateralizzati o confinati a specifiche aree [11][13].

Infine, nei secondi precedenti l'insorgenza di un CLB è stato osservato un incremento dell'attività lenta (onde delta) e una contemporanea riduzione delle componenti più rapide (theta, alpha e beta), indicando una progressiva sincronizzazione delle reti neuronali prima della scarica. Si riscontrano pattern simili anche subito dopo l'evento durante la fase di recupero, sebbene meno pronunciati [5].

Queste caratteristiche suggeriscono che l'analisi dei ritmi EEG intorno ai CLB possa fornire informazioni non solo sulla dinamica elettrica cerebrale, ma anche sullo stato funzionale del sistema nervoso, risultando essenziale per la valutazione della gravità dell'encefalite [12].

Inoltre, su questa base si fonda lo sviluppo di approcci quantitativi e automatizzati finalizzati alla classificazione della severità della malattia, confermando il ruolo primario dell'EEG come strumento diagnostico e di monitoraggio.

Capitolo 2

Materiali e Metodi

La ricerca è stata progettata come un'indagine prospettica a carattere esplorativo, finalizzata a valutare la validità clinica di un software sviluppato per l'identificazione automatica dei complessi lenti bifasici nei tracciati elettroencefalografici di pazienti pediatrici con sospetta encefalite. L'interesse verso tali pattern è motivato dal loro consolidato ruolo come potenziali marcatori elettrofisiologici di processi infiammatori a carico del sistema nervoso centrale. In questo contesto, l'obiettivo principale è stato trasferire nella pratica clinica le evidenze ottenute dagli studi precedenti, fornendo ai medici uno strumento di analisi automatizzata dell'EEG in grado di supportare il processo diagnostico e di favorire:

- una valutazione più oggettiva della severità della patologia
- un supporto decisionale nella personalizzazione del trattamento
- la ripetibilità dell'analisi, riducendo la variabilità legata all'esperienza dei singoli operatori
- un monitoraggio più efficace nel tempo.

2.1 Implementazione Software e Interfaccia Grafica

Per rispondere alle esigenze emerse nello studio, è stato sviluppato e successivamente fornito al reparto di Neurologia Pediatrica dell'Ospedale Regina Margherita di Torino un software dedicato che consente di:

1. rilevare automaticamente l'esatta localizzazione temporale e spaziale (canale di origine) dei complessi lenti bifasici

2. generare report sintetici standardizzati, comprendenti:
 - il numero totale di CLB identificati e la loro ampiezza
 - la loro distribuzione topografica
 - la regolarità temporale della loro comparsa
3. visualizzare i tracciati EEG a cui vengono sovrapposti gli eventi rilevati, in modo da facilitare l'interpretazione del segnale

A tal proposito, per facilitare l'utilizzo clinico del software, è stata implementata un'interfaccia grafica che si apre con una schermata di inserimento dati, la quale è strutturata in campi che guidano l'operatore nella raccolta delle informazioni anamnestiche e cliniche essenziali.

Il modulo include sezioni dedicate ai dati del paziente (nome, cognome, data di nascita, sesso) e ai parametri clinici di base (temperatura, battito cardiaco), tenendo anche traccia della data di esecuzione dell'EEG (Fig. 2.1).

The screenshot shows the 'Encephalitis Diagnostic System' interface, specifically the 'Patient Data Entry Form'. The form is organized into several sections:

- Patient Information:** Contains input fields for 'Patient Name' (placeholder: 'Full patient name'), 'Patient ID' (placeholder: 'Unique patient ID'), 'Age' (placeholder: '0 years'), 'Gender' (a dropdown menu with 'Select' visible), and 'Date of Birth' (placeholder: '25/11/25').
- Visit Information:** Contains a 'Visit Date' dropdown menu with '25/11/25' selected.
- Clinical Data:** Contains input fields for 'Temperature (°C)' (placeholder: 'e.g., 37.5'), 'Heart Rate (bpm)' (placeholder: 'e.g., 55'), and 'Symptom Onset' (a dropdown menu with 'Select' visible).
- Etiology:** Contains four radio button options: 'Bacterial', 'Viral', 'Dysimmune', and 'Other'. The 'Bacterial' option is currently selected.
- Additional Notes:** Contains a text area with the placeholder text 'Add additional notes about etiology (optional)...'.

Figura 2.1: Schermata inserimento dati demografici e clinici del paziente.

Sono presenti, inoltre, ulteriori campi dedicati che consentono l'inserimento dei sintomi clinici e neurologici, utili per l'interpretazione del tracciato, della terapia farmacologica in corso e dei test diagnostici effettuati (Fig. 2.2).

The form is organized into several sections:

- Clinical Symptoms:** A list of checkboxes for Hyperthermia, Fever, Respiratory Problems, Gastrointestinal disorders, and Cutaneous manifestations.
- Neurological Symptoms:** A list of checkboxes for Altered or cerebral consciousness status, Seizures, Focal neurological deficits, CSF pleocytosis, and Cephalgy.
- Additional Symptoms:** A text input field for optional additional symptoms.
- Diagnostic Test:** Three sections: Neuroimaging, Lumbar puncture, and Blood test. Each section has radio buttons for 'Yes' and 'No' and an 'Add Notes' text input field.
- Therapy:** A form with fields for Drug Name, Dosage, Frequency, Start Date, and End Date. It includes an 'Ongoing' checkbox and a 'Notes' text area. Below the fields are 'Remove Drug' and 'Add Drug' buttons.
- EEG File (.edf):** A section with a 'No EEG file selected' message and 'Browse EEG File' and 'Remove File' buttons.

At the bottom of the form are three main action buttons: 'Choose Save Directory', 'Clear Form', and 'Submit for Diagnosis'.

Figura 2.2: Campi dedicati all'inserimento dei sintomi (clinici e neurologici), dei test diagnostici effettuati e della terapia farmacologica in corso.

Una volta completato il form, l'operatore seleziona il tracciato da analizzare e i risultati vengono presentati in una finestra interattiva che visualizza l'EEG con i CLB chiaramente sovrapposti. I controlli di zoom e di scalatura verticale permettono di adattare il tracciato alla visualizzazione desiderata, facilitando l'identificazione di anomalie a diverse ampiezze (Fig. 2.3).

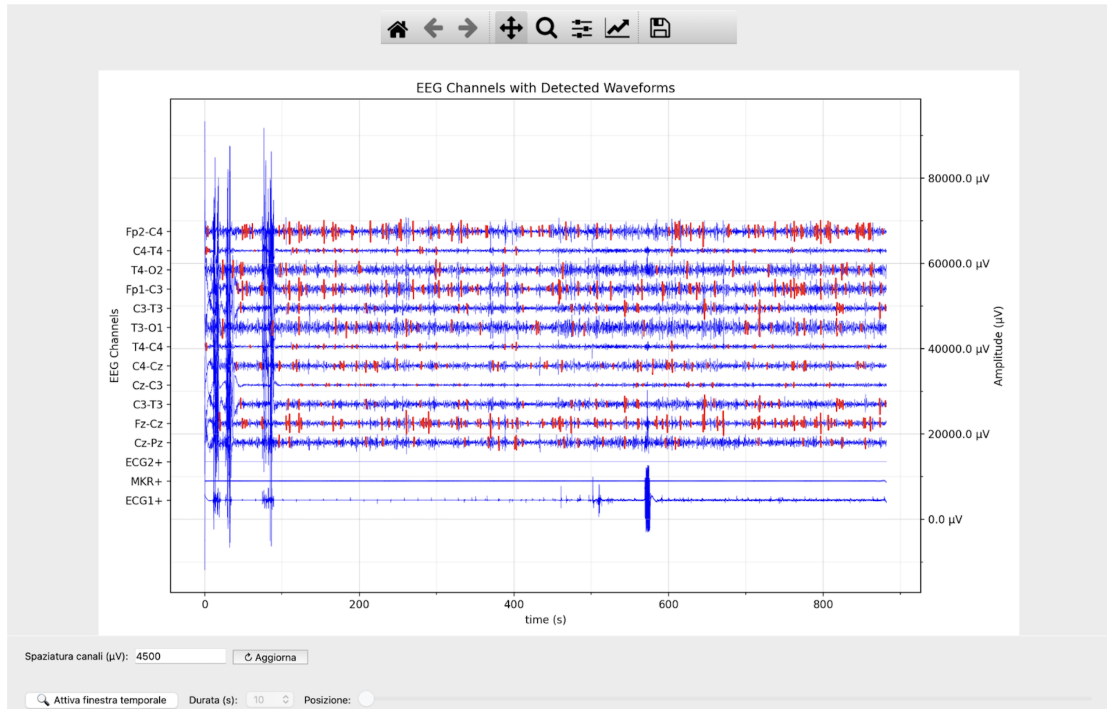


Figura 2.3: Output principale della diagnosi: tracciato EEG (blu) e complessi lenti bifasici sovrapposti (rossi). Si è reso possibile attivare una 'finestra temporale' di durata desiderata (5, 10, 20 o 30 secondi) e scorrere il tracciato utilizzando uno slider orizzontale per navigare tra i diversi istanti temporali. Inoltre, è possibile anche regolare la distanza verticale tra i canali EEG sul display. Aumentando questo valore, si espande la spaziatura tra i canali in modo da visualizzare meglio l'ampiezza e in modo da avvicinare i canali tra di loro nel caso in cui siano troppo distanti per eventuali confronti.

Il software, dunque, collega automaticamente le informazioni del paziente inserite dal medico con i risultati dell'analisi, generando un report unico che facilita la documentazione, l'archiviazione dei risultati e la decisione terapeutica, senza necessità di post-elaborazione manuale, come riportato nelle figure Fig. 2.4 e 2.5.

Clinical Report - Visit 1

Mario Rossi - 2026-02-14

Patient Information

Patient Name:	Mario Rossi	Patient ID:	23456
Age:	5 years	Gender:	Male
Date of Birth:	2026-02-05	Visit Date:	2026-02-14

Clinical Data

Temperature:	38 °C	Heart Rate:	70 bpm
Symptom Onset:	72 hours		

Etiology

- ✓ Viral

Symptoms

Clinical Symptoms

- ✓ Hyperthermia
- ✓ Respiratory Problems
- ✓ Cutaneous manifestations
- ✓ Altered or cerebral consciousness status

Neurological Symptoms

- ✓ Seizures

Additional Symptoms

Si osservano episodi di crisi convulsive generalizzate, movimenti involontari agli arti superiori, difficoltà nella coordinazione motoria e nel linguaggio, sonnolenza marcata e episodi occasionali di disorientamento.

Figura 2.4: Esempio di report clinico strutturato in formato HTML relativo a un paziente, includente parametri vitali e quadro sintomatologico.

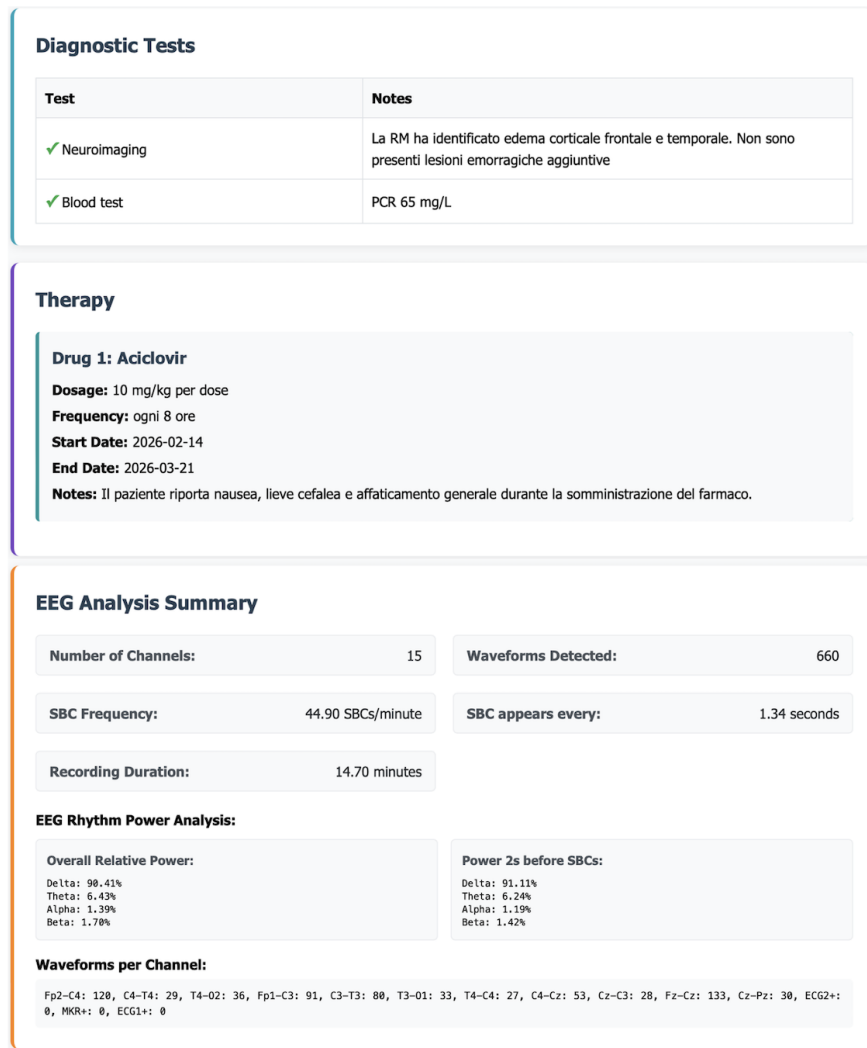


Figura 2.5: Esempio di report clinico strutturato in formato HTML relativo a un paziente, includente risultati di test diagnostici effettuati, dati su trattamento antivirale e riepilogo quantitativo dell'analisi EEG.

2.2 Dati di ricerca

Il presente lavoro di tesi si fonda su due principali fonti di dati elettroencefalografici, ossia un primo dataset di tracciati già sottoposto a studi sperimentali di riferimento e dati clinici prospettici acquisiti presso l’Ospedale Regina Margherita in seguito al trasferimento clinico del software sviluppato. Questa duplice fonte consente di validare il metodo proposto su dati già elaborati in letteratura e di verificarne l’applicabilità clinica in un contesto ospedaliero.

La base principale comprende 128 tracciati EEG spontanei provenienti da una popolazione pediatrica di 10 pazienti affetti da encefalite (età 2–14 anni; 5 maschi e 5 femmine) e 10 controlli (età 1-15 anni; 5 maschi e 5 femmine), la cui acquisizione è stata effettuata mediante un sistema Micromed con frequenza di campionamento di 256 Hz e filtro passa-banda analogico 0.5–70 Hz, utilizzando configurazioni di 10 o 18 canali bipolari in base all'età del soggetto [5][11].

Tra questi, i dieci segnali definiti come "non classificabili" sono stati esclusi, arrivando a considerare, quindi, un database di 108 EEG di soggetti affetti da encefalite, per i quali sono state rese disponibili una o più registrazioni EEG acquisite in diverse fasi della malattia, consentendo di analizzare l'evoluzione temporale delle caratteristiche EEG all'interno degli stessi soggetti.

Inoltre, la gravità della patologia è stata valutata retrospettivamente integrando dati clinici (presenza di crisi epilettiche, deficit neurologici focali, livello di coscienza, temperatura corporea, reperti di neuroimaging e pleiocitosi del liquido cerebrospinale) con la valutazione elettrofisiologica effettuata da neurofisiologi esperti. A ciascun tracciato EEG, dunque, è stato assegnato un punteggio di gravità su una scala a cinque livelli: 0 (normale), 1–4 (patologia lieve/moderata/severa/molto severa), NC (non classificabile). I dati sono stati poi elaborati per classe di gravità e, di conseguenza, i risultati ottenuti sono stati interpretati in funzione del punteggio attribuito [5][11].

La validazione in ambiente ospedaliero, invece, è stata effettuata mediante l'analisi dei tracciati EEG acquisiti con il sistema Ebneuro (Intel Core i5-4570S, 8 GB RAM, SO 64 bit) utilizzando un filtro passa-banda 0.7-70 Hz e una frequenza di campionamento di 256 Hz presso l'Ospedale Regina Margherita di Torino.

2.3 Algoritmo esistente

La prima parte dell'algoritmo su cui si basa il software prevede il *pre-processing* dei dati EEG applicando un filtro passa-banda realizzato attraverso la combinazione di un filtro passa-basso e un filtro passa-alto implementati come filtri di Chebyshev di tipo II:

- Filtro passa-alto: ordine 5, frequenza di taglio 0,1 Hz;
- Filtro passa-basso: ordine 3, frequenza di taglio 30 Hz

Entrambi i filtri sono stati applicati in entrambe le direzioni (forward e backward) per rimuovere lo sfasamento e mantenere la fase zero. Per mantenere tutti i dati all'interno della banda di interesse, inoltre, non è stata implementata nessun'altra elaborazione [11].

L'algoritmo di identificazione si basa sulla conoscenza pregressa dei complessi lenti bifasici derivante da attività cliniche e di ricerca svolte durante gli anni, che hanno

permesso di individuare un prototipo di forma d'onda. I complessi sono stati osservati in numerosi tracciati di pazienti affetti da condizioni neuroinfiammatorie, sia acute sia croniche, tra cui encefalite, infezione da virus dell'immunodeficienza umana (HIV), sclerosi multipla e sindrome di Rasmussen. Lo studio comparativo dei diversi EEG, però, ha evidenziato una variabilità nelle ampiezze dei CLB inter-paziente e intra-paziente: alcuni episodi emergevano nettamente rispetto all'attività elettrica di fondo, rendendo necessaria una normalizzazione dell'ampiezza mediante il valore quadratico medio (RMS) del canale considerato [11].

Inoltre, sono state considerate anche derivazioni di tipo differenziale, nella quale la stessa morfologia del complesso bifasico può apparire invertita, senza che ciò implichi una variazione della sua natura fisiopatologica. Un'ulteriore variabilità è stata riscontrata nella durata del fenomeno: complessi di ampiezza maggiore tendevano a presentare anche durate più prolungate. Per cui, pur avendo forme d'onda analoghe, i complessi appaiono diversamente scalati sia sull'asse dell'ampiezza sia su quello temporale.

Nella pratica sono stati utilizzati una serie di *matched filters* per identificare i complessi lenti bifasici e l'algoritmo è stato costruito sulla base dei seguenti step [11]:

1. Vengono considerate 10 scale temporali della forma d'onda prototipo distribuite linearmente nel range tra 0.25 e 3 e applicate al prototipo stesso;
2. È stata implementata la cross-correlazione normalizzata dell'EEG da ciascun canale e la forma d'onda scalata è stata calcolata secondo la formula:

$$C(t) = \frac{\int x(\tau) w(t + \tau) d\tau}{\|x\|_2 \|w\|_2} \quad (2.1)$$

dove t indica la variabile temporale, $x(t)$ è l'EEG del canale considerato, $w(t)$ è la forma d'onda del prototipo in scala e $\|\cdot\|_2$ è il valore RMS dell'argomento. Si osservi che l'integrale al numeratore della formula viene implementato numericamente come somma finita di campioni, man mano che i dati EEG sono campionati. Il valore risultante della correlazione normalizzata può variare tra -1 e 1 : un valore pari a -1 indica una corrispondenza perfetta con la forma d'onda invertita ($-w(t)$), mentre un valore pari a 1 indica una perfetta corrispondenza con la forma d'onda prototipo. Tuttavia, una corrispondenza perfetta con la forma prototipo scalata è irrealistica, sia perché il numero di fattori di scala considerati è limitato, sia perché il segnale è affetto da rumore. Per tale motivo, e per tenere conto di tali possibili discrepanze, è stata adottata una soglia del 90% sul valore assoluto di $C(t)$, così da includere anche le forme d'onda che risultano simili non solo al prototipo, ma anche alla sua versione invertita.

3. Nella fase successiva è stata valutata l'ampiezza delle forme d'onda individuate, considerando come complessi solo quelli con ampiezza confrontabile con quella caratteristica del canale in esame. A tal fine, è stato calcolato l'involuppo del segnale EEG e sulla distribuzione cumulativa dell'involuppo sono poi state definite due soglie: il 20° percentile come ampiezza minima e il 99° percentile, moltiplicato per 1.1, come ampiezza massima. Le soglie adottate si sono dimostrate efficaci nel contenere l'influenza di outlier dovuti ad artefatti o rumore e, essendo determinate sulla base della singola registrazione EEG, rendono il criterio di selezione dei complessi appropriato anche quando i livelli di segnale variano da un canale all'altro.

Dopo la rilevazione automatica, si è reso necessario un *post-processing* per ridurre il numero di falsi positivi identificati e garantire che solo le forme d'onda che rappresentano eventi fisiologici reali siano incluse nell'analisi successiva. Il post processing si basa su tre criteri principali che valutano la validità dei complessi: l'emergenza dal rumore di fondo, l'ampiezza fisiologicamente accettabile e la validità del canale di registrazione.

Innanzitutto, è stato calcolato il valore di RMS delle forme d'onda nel loro intervallo temporale, che identifica l'ampiezza effettiva dell'evento, e il valore di RMS in una finestra temporale che comprende 250 ms prima e 250 ms dopo la forma d'onda per stimare il livello di attività di fondo. Affinchè un CLB venga mantenuto, il valore del rapporto tra i due parametri viene stabilito superiore a 1.1. Ciò assicura che l'evento abbia un'ampiezza almeno del 10% superiore all'attività di fondo circostante, garantendo che non si tratti di fluttuazioni casuali del segnale. Per escludere forme d'onda con ampiezza eccessiva che potrebbero rappresentare artefatti, inoltre, viene impostata una soglia adattiva basata sulla distribuzione delle ampiezze, che è pari alla media più tre volte la deviazione standard. Tutti i CLB con valori di RMS superiori a questo valore, dunque, vengono scartati.

Infine, nelle configurazioni EEG a 12 canali, i canali 2 e 5 possono contenere segnali duplicati a causa del tipo di montaggio utilizzato. Per evitare di identificare più volte lo stesso evento fisiologico, le forme d'onda provenienti da questi due canali vengono automaticamente escluse dall'analisi.

2.4 Metodologie di analisi dei complessi lenti bifasici

Dopo aver descritto l'algoritmo per l'identificazione automatica dei complessi lenti bifasici, in questo paragrafo vengono illustrati i metodi complessivi proposti negli studi precedenti ([11] [5]) che, nel loro insieme, definiscono la base metodologica su cui si innesta il presente lavoro di tesi e sulla quale vengono sviluppate ulteriori analisi e valutazioni aggiuntive.

In particolare, il primo studio si concentra sulla caratterizzazione quantitativa dei complessi lenti bifasici nei tracciati EEG pediatrici e sulla valutazione della loro correlazione con la gravità clinica dell'encefalite, mentre il secondo estende tale analisi sviluppando un metodo quantitativo di classificazione in grado di supportare i clinici nella diagnosi, nella valutazione della gravità e nel follow-up dei pazienti. A completamento di questo quadro metodologico, nella presente tesi vengono inoltre richiamati e discussi due ulteriori studi ([12] [13]) che, pur non costituendo il nucleo centrale del lavoro, contribuiscono a rafforzare l'interpretazione fisiopatologica dei complessi lenti bifasici e a chiarirne il ruolo nel contesto dell'encefalite.

In particolare, uno di questi studi analizza la relazione tra la localizzazione spaziale delle sorgenti dei CLB e la distribuzione delle lesioni cerebrali evidenziate dalla risonanza magnetica, mentre l'altro estende l'analisi all'ambito della connettività funzionale dell'EEG, investigando le variazioni delle interazioni tra aree cerebrali in prossimità dei CLB.

Tali contributi vengono quindi introdotti con l'obiettivo di fornire una visione più completa del significato clinico ed elettrofisiologico dei CLB, affiancando alla loro rilevanza diagnostica e quantitativa anche l'analisi della loro distribuzione e delle dinamiche funzionali associate.

2.4.1 CLB come marker di severità clinica: risultati dell'analisi quantitativa

Nel primo studio di riferimento ([11]), l'algoritmo di identificazione automatica dei complessi lenti bifasici è stato applicato al dataset di tracciati EEG pediatrici precedentemente descritto e comprendente sia soggetti di controllo sani sia pazienti encefalitici.

Una volta identificati i CLB utilizzando l'algoritmo illustrato, lo studio si è focalizzato sull'estrazione di caratteristiche quantitative finalizzate alla loro descrizione statistica e ciascuna normalizzata per il numero di canali effettivamente registrati e per la durata del tracciato. In particolare, sono stati analizzati:

1. Numero totale di CLB per canale e per secondo;
2. Numero di CLB per canale e per secondo nei canali frontali;
3. Somma delle ampiezze RMS dei CLB per canale e per secondo;
4. Somma delle ampiezze RMS dei CLB per canale e per secondo nei canali frontali.

Tali indici sono stati utilizzati per confrontare i tracciati EEG di soggetti sani con quelli di pazienti affetti da encefalite, con l'obiettivo di verificare se l'output dell'algoritmo presentasse differenze sistematiche tra le due condizioni e se fosse

in grado di fornire informazioni statisticamente significative sul grado di severità clinica associato all'EEG.

A tale scopo, l'effetto del punteggio di severità sugli indici considerati è stato valutato mediante il test non parametrico di Kruskal–Wallis in presenza di risultati significativi, mentre sono state effettuate analisi post-hoc tramite il test dei ranghi con segno di Wilcoxon per l'identificazione di differenze significative ($p < 0,05$) o altamente significative ($p < 0,01$) tra i diversi livelli di severità.

Successivamente, è stato introdotto anche un post-processing avanzato basato su tecniche di clustering, con l'obiettivo di approfondire la struttura delle onde identificate: i complessi sono stati raggruppati mediante un algoritmo di k-means utilizzando come caratteristiche la posizione del canale, il segno, l'ampiezza e la durata dell'evento. Di questi, sono stati considerati solo i cluster contenenti un numero sufficiente di elementi, ipotizzando che la ripetizione di complessi con morfologia simile potesse indicare l'attivazione ricorrente delle stesse sorgenti cerebrali. Per ciascun cluster, poi, sono stati calcolati segnali medi mediante l'allineamento temporale dei complessi appartenenti alla stessa classe, al fine di analizzarne la forma d'onda media e la loro distribuzione sui diversi canali EEG.

Un'ulteriore analisi riguarda la distribuzione spaziale dei complessi lenti bifasici identificati. In particolare, gli stessi indici quantitativi utilizzati per l'analisi statistica globale (numero di CLB e ampiezza in termini di RMS) sono stati successivamente considerati a livello del singolo canale al fine di indagarne la distribuzione spaziale sullo scalpo. Per consentire il confronto tra tracciati di durate differenti, entrambe le grandezze sono state normalizzate rispetto alla durata della registrazione, ottenendo indici espressi rispettivamente come numero di complessi per secondo e ampiezza RMS cumulativa per secondo. Poiché i tracciati EEG analizzati sono stati acquisiti con configurazioni differenti in termini di numero di canali (10 o 18), la distribuzione spaziale dei parametri calcolati è stata stimata mediante interpolazione cubica dei valori misurati sui canali disponibili. Tale procedura ha permesso di ricostruire mappe topografiche sullo scalpo confrontabili tra tracciati e soggetti diversi.

Le mappe topografiche così ottenute per ciascun tracciato, poi, sono state mediate all'interno di gruppi di EEG appartenenti alla stessa condizione clinica, consentendo di ottenere una rappresentazione media della distribuzione spaziale dei complessi lenti bifasici per ciascun gruppo considerato.

L'analisi topografica ha messo in evidenza differenze sistematiche nella distribuzione spaziale dei CLB tra i diversi gruppi clinici. In particolare:

- Nei soggetti di controllo, gli eventi identificati come CLB risultano rari, di bassa ampiezza, distribuiti in modo irregolare nel tempo e privi di una localizzazione

spaziale coerente, suggerendo un'identificazione casuale di forme d'onda simili al prototipo;

- Nei pazienti con encefalite, in particolare nelle forme clinicamente più severe, le onde apparivano con maggiore frequenza, mostrando una distribuzione temporale più strutturata, ampiezze più elevate e una chiara predominanza nei canali frontali.

L'indagine tramite clustering ha confermato che:

- Nei pazienti con encefalite severa, numerosi CLB presentano morfologia simile e tendono a ripetersi nel tempo, suggerendo l'attivazione persistente di sorgenti corticali specifiche;
- Nei soggetti sani i pochi eventi identificati risultano più eterogenei e non organizzati in cluster stabili.

Infine, l'analisi condotta sull'intero dataset ha rivelato una relazione sistematica e quantificabile tra le caratteristiche dei CLB identificati e il punteggio di severità clinica associato agli EEG analizzati.

In particolare, il numero di complessi e la loro ampiezza media aumentano in modo sistematico con l'incremento del livello di severità clinica.

L'applicazione del test non parametrico di Kruskal–Wallis ha confermato un effetto statisticamente significativo del punteggio di severità su tutti gli indici considerati; i confronti post-hoc hanno mostrato differenze altamente significative ($p < 0,01$) tra condizioni cliniche distanti e differenze significative ($p < 0,05$) tra livelli adiacenti in diversi casi.

Un risultato di particolare rilievo è emerso dall'analisi dell'ampiezza delle onde identificate: questo indice ha permesso di distinguere statisticamente tutte le condizioni cliniche considerate, suggerendo che l'ampiezza media delle onde rappresenti un marker particolarmente robusto della severità della patologia.

A supporto dei risultati ottenuti dall'analisi trasversale, è stata condotta un'ulteriore analisi longitudinale sui pazienti per i quali erano disponibili registrazioni EEG ripetute nel tempo. In questo contesto, è stato esaminato l'andamento temporale degli indici estratti (numero totale di complessi, numero di complessi nei canali frontali, ampiezza totale e ampiezza nei canali frontali) in relazione all'evoluzione del punteggio di severità clinica. L'analisi ha mostrato che tutti e quattro gli indici aumentavano in modo monotono all'aumentare del punteggio di gravità, evidenziando una forte correlazione tra la frequenza e l'ampiezza dei CLB e l'evoluzione clinica della patologia.

Tali risultati indicano che gli indici derivati dall'identificazione automatica dei CLB non solo discriminano efficacemente i diversi livelli di severità in un'analisi trasversale, ma risultano anche sensibili alle variazioni cliniche nel tempo, rendendoli

potenzialmente utili per il monitoraggio longitudinale dei pazienti.

2.4.2 Validazione di un classificatore automatico per la valutazione della gravità della patologia

Nel secondo studio di riferimento ([5]), le caratteristiche quantitative estratte dai complessi lenti bifasici nel lavoro precedente, e ritenute fondamentali ai fini della diagnosi della patologia, sono integrate con descrittori relativi ai ritmi EEG, indicativi dello stato funzionale cerebrale.

L'obiettivo, in questo caso, è stato costruire un approccio di classificazione multi-classe per valutare la gravità della patologia assegnando automaticamente un punteggio ai tracciati EEG analizzati. Il metodo è stato sviluppato e validato sullo stesso database di EEG pediatrici già descritto.

Dopo aver identificato automaticamente i CLB, nello studio sono state analizzate le principali componenti ritmiche dell'EEG, in particolare i ritmi delta, theta, alfa e beta. Per ciascun ritmo è stata calcolata la potenza istantanea e la potenza relativa, successivamente mediata su due differenti intervalli temporali: l'intero tracciato EEG e finestre temporali di 2 secondi precedenti l'insorgenza dei complessi lenti bifasici. Tale scelta è motivata dall'ipotesi che l'attività EEG possa subire variazioni specifiche immediatamente prima della comparsa delle onde.

L'analisi statistica, infatti, ha confermato che le potenze relative dei ritmi differiscono significativamente tra l'intero EEG e le finestre pre-CLB, con un aumento del contributo delle basse frequenze prima dell'evento.

Sulla base di precedenti analisi, nello studio sono state considerate diverse caratteristiche di input per la classificazione della gravità, che comprendono il numero di CLB identificati, la loro ampiezza cumulativa espressa in termini di valore quadratico medio (RMS) e la distribuzione spaziale dei CLB (con particolare attenzione ai canali frontali), aggiungendo a queste le potenze relative medie dei ritmi EEG, sia sull'intero tracciato sia nei 2 secondi precedenti l'insorgenza dei complessi.

Per la classificazione multi-classe, sono stati testati diversi approcci, tra cui un modello ECOC basato su macchine a vettori di supporto, un classificatore Naïve Bayes e un modello ad albero binario (Binary Tree Model, BTM). Tra questi, il BTM ha mostrato le migliori prestazioni, motivo per il quale è stato selezionato. Sulla base di un parametro scelto specifico, tale modello divide in maniera sequenziale i dati in due gruppi. L'addestramento del BTM è stato effettuato considerando tutte le possibili combinazioni delle caratteristiche estratte, utilizzando l'indice di Gini come criterio di divisione. La selezione del modello ottimale, poi, è avvenuta mediante validazione incrociata a 10 fold.

Per ridurre la complessità del classificatore e il rischio di overfitting, l'albero finale è stato sottoposto a potatura, selezionando il modello più piccolo e con un errore di classificazione entro un errore standard dal minimo. Le prestazioni del metodo sono state, infine, valutate mediante un approccio leave-one-out, particolarmente indicato in presenza di un numero limitato di campioni.

I risultati dello studio hanno mostrato che le caratteristiche selezionate dal modello di classificazione sono significativamente correlate alla gravità dell'encefalite. In particolare:

- Numero di CLB: il numero di complessi localizzati nei canali frontali aumenta progressivamente con il peggioramento della patologia, confermando il ruolo dei CLB come marker elettrofisiologici della severità dell'encefalite.
- Potenze dei ritmi sull'intero tracciato EEG: l'analisi spettrale condotta sull'intero EEG mostra, all'aumentare della gravità clinica, un incremento della potenza relativa del ritmo delta e una progressiva riduzione dei ritmi alfa e beta, indicativi di un rallentamento globale dell'attività cerebrale. Il ritmo theta presenta variazioni intermedie ma comunque significative in funzione della severità.
- Potenze dei ritmi nella finestra pre-CLB: l'analisi delle finestre temporali di due secondi precedenti l'insorgenza dei CLB evidenzia un incremento della potenza relativa del ritmo delta e una diminuzione delle potenze relative dei ritmi theta, alfa e beta rispetto ai valori calcolati sull'intero tracciato EEG. Le riduzioni dei ritmi alfa e theta risultano statisticamente significative e dipendenti dal livello di severità dell'encefalite.
- Differenza tra analisi globale e pre-CLB: il contributo del ritmo delta risulta significativamente maggiore nelle finestre temporali pre-CLB rispetto all'intero tracciato EEG, mentre i ritmi più rapidi (alfa e beta) risultano ulteriormente soppressi prima della comparsa dei CLB, indicando un rallentamento transitorio dell'attività cerebrale che precede l'emergere dei complessi patologici e che si accentua con l'aumentare della gravità clinica.

Tabella 2.1: Andamento dei ritmi EEG in funzione della gravità dell'encefalite

Ritmo EEG	Intero tracciato EEG	Finestra pre-CLB (2 s)
Delta	↑	↑↑
Theta	↓	↓
Alfa	↓	↓↓
Beta	↓	↓

Il classificatore finale ha raggiunto un'accuratezza pari a circa il 76% nella classificazione su cinque livelli di gravità, con la maggior parte degli errori limitata a una differenza di un solo livello. Raggruppando i punteggi in tre classi di gravità, l'accuratezza di classificazione è risultata superiore all'80%, confermando la validità dell'approccio proposto come supporto oggettivo alla valutazione clinica dell'encefalite.

2.4.3 Analisi della connettività funzionale

Al fine di rafforzare ulteriormente le evidenze sulla correlazione tra i complessi lenti bifasici e l'encefalite, lo studio di Chiarion e Mesin ([12]) estende l'analisi dell'EEG investigando le variazioni della connettività funzionale cerebrale in prossimità dei CLB, confrontando finestre temporali contenenti un complesso con periodi lontani da tali eventi. L'obiettivo, dunque, è valutare se tali variazioni siano influenzate dal grado di severità dell'encefalite.

In particolare, gli autori si propongono di verificare se l'insorgenza di un'onda sia associata a una modifica transitoria dell'organizzazione topologica della rete cerebrale, misurata attraverso indici di teoria dei grafi applicati alle matrici di connettività funzionale.

Questo studio nasce anche da osservazioni precedenti che hanno mostrato un rallentamento delle oscillazioni EEG prima e dopo l'insorgenza di un CLB, suggerendo che il cervello attraversi una fase di preparazione e recupero attorno a questi eventi e, dunque, la presenza una dinamica cerebrale non stazionaria.

Di conseguenza, l'ipotesi di fondo è che i complessi lenti bifasici non rappresentino fenomeni isolati, ma siano il risultato di una coordinazione anomala dell'attività neuronale tra diverse regioni cerebrali, che può essere descritta e quantificata mediante l'analisi della connettività funzionale.

Per perseguire questo obiettivo, lo studio analizza EEG pediatrici di pazienti con encefalite utilizzando una misura di connettività basata sulla correlazione incrociata dei ritmi EEG, costruendo reti funzionali sulle quali vengono calcolati indici topologici globali quali strength, clustering coefficient, efficienza globale e characteristic path length.

Il confronto sistematico tra condizioni Far-CLB e During-CLB, nonché tra diversi livelli di severità clinica, consente di valutare in modo quantitativo l'impatto delle onde sull'organizzazione funzionale del cervello.

Alla fine, i risultati dello studio mostrano che la connettività funzionale dell'EEG presenta variazioni statisticamente significative in prossimità dei complessi lenti bifasici, rispetto a periodi lontani da tali eventi.

In particolare, gli indici topologici della rete cerebrale evidenziano un aumento della strength, del clustering coefficient e dell'efficienza globale, accompagnato da una riduzione della characteristic path length durante le finestre temporali contenenti

un CLB. Tali variazioni risultano più marcate nelle bande di frequenza a bassa frequenza, in particolare nelle componenti delta e theta, mostrando anche una dipendenza dal grado di severità dell'encefalite.

Questi risultati, dunque, confermano che l'insorgenza di un complesso lento bifasico è associata a una riorganizzazione transitoria della connettività funzionale cerebrale, suggerendo che i CLB riflettano una modifica globale delle interazioni tra diverse regioni del cervello piuttosto che un fenomeno puramente locale.

L'analisi della connettività funzionale fornisce pertanto un'ulteriore caratterizzazione elettrofisiologica dei CLB, rafforzandone il ruolo come marker dell'encefalite e introducendo nuovi elementi quantitativi per l'interpretazione dell'EEG in questo contesto clinico.

2.4.4 Relazione tra lesione e localizzazione dei CLB

Oltre alla loro frequenza e ampiezza, un aspetto di particolare interesse clinico riguarda la localizzazione delle aree cerebrali coinvolte nella loro generazione. In questo contesto si inserisce lo studio di Valerio, Rivera e Mesin [2], che si propone di indagare la relazione tra la distribuzione spaziale delle sorgenti dei CLB e la localizzazione delle lesioni cerebrali osservate tramite risonanza magnetica (MRI) in pazienti affetti da encefalite.

Lo studio intende esplorare la possibilità che l'analisi delle sorgenti dei complessi rappresenti uno strumento complementare all'imaging neuroradiologico, potenzialmente utile per ottenere informazioni sulla topografia dell'infiammazione cerebrale in modo non invasivo. Vengono presi in esame due casi clinici pediatrici di encefalite, per i quali erano disponibili sia registrazioni EEG sia immagini di risonanza magnetica.

In una prima fase, i CLB vengono identificati automaticamente mediante l'algoritmo precedentemente descritto e, successivamente, viene applicata una tecnica di localizzazione delle sorgenti EEG per stimare le aree cerebrali coinvolte nella generazione dei CLB. A causa del numero limitato di canali EEG disponibili (12 o 18 a seconda del caso), viene utilizzato un approccio di *minimum norm estimation* (MNE), che consente di stimare la distribuzione spaziale delle sorgenti corticali responsabili dell'attività EEG selezionando, tra tutte le soluzioni compatibili con i segnali registrati, quella caratterizzata dalla minima energia complessiva delle sorgenti.

Le analisi vengono effettuate su finestre temporali di mezzo secondo centrate sull'insorgenza delle onde, filtrando i segnali EEG nella banda 0.5–5 Hz per focalizzarsi sulle componenti a bassa frequenza di interesse. Le sorgenti attive durante i CLB vengono confrontate con quelle stimate in finestre temporali di background prive di CLB, valutando la significatività delle differenze mediante test statistici non parametrici. Infine, la distribuzione spaziale delle sorgenti dei CLB viene confrontata

qualitativamente con la localizzazione delle lesioni identificate nelle immagini MRI, valutate da un neuroradiologo esperto.

Nel primo caso clinico, caratterizzato da lesioni cerebrali diffuse compatibili con una encefalomyelite acuta disseminata (ADEM), l'analisi delle sorgenti dei CLB mostra una distribuzione spaziale ampia e bilaterale, con un aumento significativo dell'intensità delle sorgenti rispetto al background in gran parte delle regioni corticali considerate. Le aree di maggiore attivazione risultano prevalentemente localizzate nelle regioni frontali e parieto-occipitali, coerentemente con la diffusione delle lesioni osservate alla MRI.

Nel secondo caso clinico, in cui le lesioni risultano prevalentemente localizzate nell'emisfero sinistro, l'analisi delle sorgenti dei complessi evidenzia una marcata lateralizzazione dell'attività, con un aumento significativo dell'intensità delle sorgenti soprattutto nelle regioni frontali dell'emisfero sinistro. Anche in questo caso, l'attività associata ai CLB risulta significativamente superiore rispetto al background.

Nel complesso, i risultati mostrano che la distribuzione spaziale delle sorgenti delle onde riflette, almeno in parte, la distribuzione e l'asimmetria delle lesioni cerebrali, pur non coincidendo esattamente con la loro localizzazione anatomica. Gli autori osservano, inoltre, che le sorgenti identificate risultano prevalentemente superficiali e frontali, un aspetto attribuito sia alle caratteristiche della tecnica EEG sia ai limiti della procedura di localizzazione delle sorgenti. Nonostante tali limitazioni, lo studio suggerisce che l'analisi delle sorgenti dei CLB possa fornire indicazioni utili sulla topografia dell'attività infiammatoria cerebrale, rafforzando il ruolo dell'EEG come strumento complementare alla MRI nella valutazione dei pazienti con encefalite.

2.5 Processing dei dati

Sulla base dei metodi descritti nei lavori precedenti ([5][11]), sono stati replicati alcuni degli approcci proposti, a partire dall'identificazione automatica dei complessi lenti bifasici, e sono stati successivamente calcolati parametri quantitativi finalizzati alla caratterizzazione delle onde dal punto di vista morfologico, temporale e spaziale. Tali parametri rappresentano gli indicatori principali per la valutazione della gravità dell'encefalite e consentono di condurre un'analisi EEG oggettiva e ripetibile. Nei paragrafi successivi verranno descritti in modo dettagliato i parametri estratti e le modalità con cui sono stati calcolati.

Innanzitutto, è stata calcolata la *frequenza di comparsa* dei complessi espressa come numero di CLB per minuto e viene calcolata dividendo il numero totale di

complessi identificati per la durata della registrazione EEG (in minuti) e normalizzata rispetto al numero di canali utilizzati. Da tale parametro viene estratto anche l'intervallo medio tra i CLB, che indica il numero di secondi che intercorrono mediamente tra un complesso e quello successivo. Tale valore consente di quantificare la presenza del fenomeno nel tempo e rappresenta uno degli indici più importanti per valutare la severità dell'attività patologica. Durante gli studi condotti, infatti, è stato dimostrato come il rate aumenti significativamente passando da soggetti sani a pazienti con encefalite di grado severo [11].

Successivamente, per ogni coppia di CLB consecutivi è stato calcolato l'intervallo temporale tra le rispettive insorgenze (*Inter-Pulse Interval, IPI*), ossia un indicatore chiave per distinguere forme d'onda effettivamente rilevanti dal punto di vista fisiopatologico da identificazioni spurie dovute a forme d'onda occasionalmente simili. La distribuzione degli IPI fornisce informazioni aggiuntive cruciali attraverso la deviazione standard, che è indice della regolarità temporale con cui i CLB si manifestano durante la registrazione EEG. L'analisi consente, infatti, di valutare la natura dell'attività rilevata:

- La presenza di un picco della distribuzione degli IPI a valori inferiori a circa 1 secondo suggerisce una ricorrenza strutturata e pseudo-periodica dell'attività. Questo comportamento è tipico dei pazienti con encefalite, nei quali i CLB derivano da generatori neurali che presentano scariche con una cadenza relativamente regolare, riflettendo un'attività patologica organizzata [11];
- Nei soggetti sani, gli IPI mostrano valori ampiamente variabili e privi di pattern distintivi. Le forme d'onda intercettate come simili ai CLB risultano sporadiche, prive di ricorrenza temporale e non clinicamente rilevanti [11].

Per rendere maggiormente interpretabili tali informazioni, è stato costruito l'istogramma della distribuzione degli IPI, utile per valutare la struttura temporale dell'attività rilevata e per osservare in modo immediato se gli intervalli tra complessi successivi seguono un andamento coerente oppure se sono dispersi in modo irregolare (Fig. 2.6).

Infine, è stata rappresentata graficamente la *distribuzione spaziale* dei complessi lenti bifasici utilizzando mappe topografiche scalp-based. Per ciascun elettrodo, dunque, è stata associata la posizione corrispondente nel sistema internazionale 10–20. Per ogni canale EEG, è stato calcolato il numero totale di CLB rilevati al fine di identificare quali aree corticali mostrano una maggiore generazione o propagazione dell'attività patologica associata ai complessi, e quindi individuare le regioni del cervello maggiormente coinvolte nel processo infiammatorio. I valori ottenuti sono stati proiettati su una mappa bidimensionale del cuoio capelluto mediante un'interpolazione cubica, al fine di ottenere una rappresentazione topografica

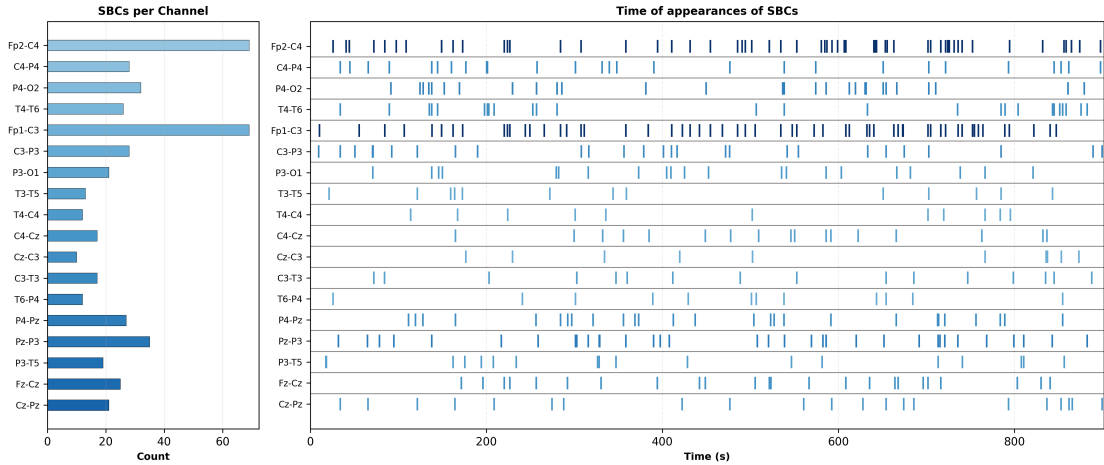


Figura 2.6: Esempio di distribuzione dei complessi lenti bifasici nel tracciato EEG di paziente con encefalite in cui sono stati rilevati 481 forme d’onda. A sinistra, istogramma del numero totale di CLB identificati per ciascun canale EEG. A destra, rappresentazione temporale delle occorrenze dei CLB lungo la durata della registrazione, con indicazione dei tempi di comparsa per ogni canale. La figura evidenzia sia la distribuzione spaziale degli eventi, con una maggiore concentrazione in specifici canali, sia la loro distribuzione temporale.

omogenea anche in presenza di un numero ridotto di canali e di rendere confrontabili i risultati anche quando vengono utilizzate configurazioni differenti di elettrodi. L’interpolazione genera una superficie continua che evidenzia i gradienti di densità di CLB tra regioni differenti della testa. Il risultato, poi, è stato visualizzato sotto forma di mappa cromatica, in cui colori più intensi indicano una maggiore presenza di complessi in quella regione (Fig. 2.7).

Per quantificare l’intensità dei complessi identificati, per ciascun CLB è stato calcolato il valore di **Root Mean Square (RMS)**, ottenuto applicando la formula:

$$\text{RMS} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i^2} \quad (2.2)$$

dove x_i rappresenta il valore del segnale EEG in ciascun campione del complesso e N il numero totale di campioni nella finestra temporale corrispondente. Per ogni complesso sono stati memorizzati il tempo di occorrenza, il canale, la frequenza e il valore di RMS (ad es.: Time: 39.84 s; Channel: C4–T4; Sample: 10198; RMS: 126.6 μV). Quest’ultimo fornisce una misura robusta dell’ampiezza dei CLB, poiché riflette l’energia del segnale in modo meno sensibile ai picchi isolati e al rumore di fondo, rappresentando quanto il complesso emerge rispetto al rumore di fondo.

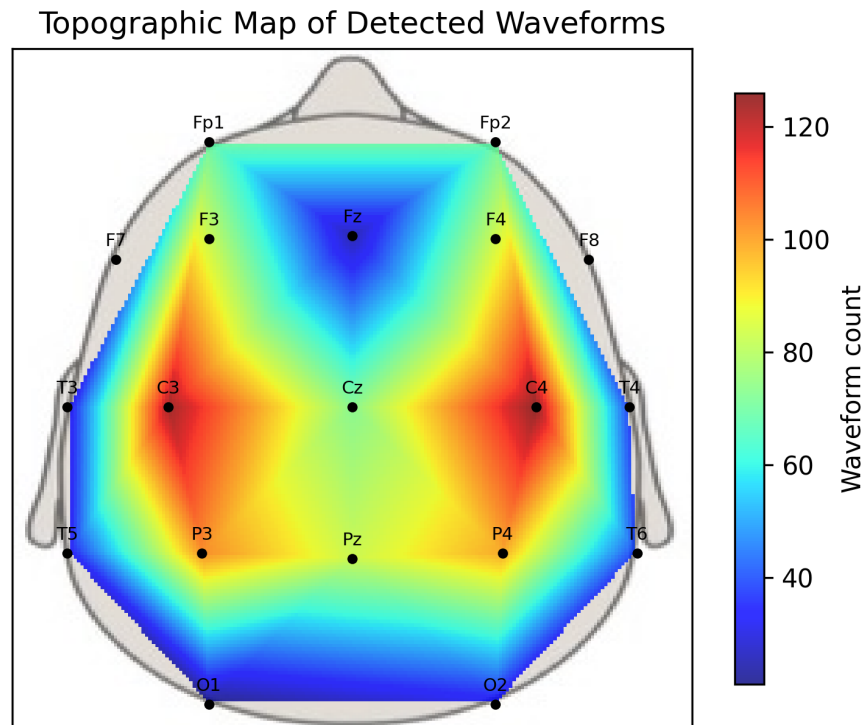


Figura 2.7: *Mappa topografica della distribuzione spaziale dei complessi lenti bifasici identificati.* La mappa rappresenta il numero di eventi rilevati su ciascun canale EEG, proiettato sul cuoio capelluto mediante interpolazione cubica. I colori indicano la densità dei CLB, con valori più elevati associati alle aree caratterizzate da una maggiore frequenza di occorrenza.

Dal punto di vista clinico, rappresenta un indicatore rilevante della forza del generatore neuronale e del grado di alterazione dell'attività elettrica cerebrale, in quanto è associato ai processi neuroinfiammatori ed è in grado di distinguere oscillazioni di bassa intensità o aspecifiche da attività anomala più marcata e potenzialmente patologica.

Insieme ad esso, viene calcolato anche l'*RMS cumulativo*, che rappresenta la somma degli RMS di tutti i complessi identificati in un tracciato EEG, normalizzata per la durata della registrazione e il numero di canali. Ai fini della classificazione e della valutazione della gravità dell'encefalite, tale parametro risulta essere più significativo e discriminativo, in quanto integra sia la frequenza di comparsa dei complessi sia la loro energia. Infatti, studi precedenti ([5][11]) hanno mostrato che l'analisi quantitativa dell'ampiezza dei CLB, integrata con altri indici consente una caratterizzazione più completa e multidimensionale dell'attività EEG associata al processo neuroinfiammatorio.

2.5.1 Post-processing avanzato

Calcolo delle potenze: Per caratterizzare l'andamento dei principali ritmi EEG in relazione ai CLB, il segnale è stato decomposto nelle bande delta (1–4 Hz), theta (4–8 Hz), alpha (8–13 Hz) e beta (13–30 Hz). Al fine di garantire stabilità numerica durante il filtraggio, i segnali sono stati preliminarmente normalizzati e successivamente riportati alla scala originaria. L'estrazione delle bande è stata effettuata mediante filtri passa-banda Chebyshev di tipo I ordine sei, applicati in modo bidirezionale per annullare distorsioni di fase e in modo da ottenere serie temporali che includessero intervalli di frequenza specifica [5]. Per le bande a bassa frequenza sono stati adottati parametri più conservativi per ridurre il ripple e limitare potenziali instabilità nelle transizioni di banda.

La potenza istantanea è stata stimata come quadrato del segnale filtrato e successivamente regolarizzata tramite un filtraggio passa-basso con frequenza di taglio pari a un quarto della frequenza inferiore della banda del ritmo considerato. Anche in questo caso sono stati utilizzati filtri anti-causali di Chebyshev di tipo I a fase zero di ordine sei, al fine di ottenere un profilo temporale più stabile [5].

Nel corso dello sviluppo della pipeline di analisi automatica dei dati EEG sono stati implementati criteri di robustezza, con l'obiettivo di garantire l'affidabilità dei risultati anche in condizioni non ideali. In particolare, per limitare l'influenza di valori anomali e artefatti, sono stati imposti limiti massimi e minimi in modo che valori troppo alti o bassi vengano limitati automaticamente entro soglie sicure. Inoltre, sono stati inseriti controlli sistematici sull'integrità dei dati (come la rimozione di valori NaN, Inf, ecc..) e una validazione dei parametri dei filtri, con l'aggiunta di strategie che consentono di adattare e portare a termine il calcolo anche di fronte a dati particolarmente rumorosi o non conformi agli standard attesi. Grazie a questi accorgimenti, l'algoritmo è in grado di produrre risultati affidabili sia in situazioni ottimali, sia nell'eventualità di condizioni cliniche o tecniche critiche.

Infine, la potenza relativa di ciascun ritmo è stata ottenuta rapportando la potenza della banda di interesse alla somma delle potenze delle quattro bande considerate, ottenendo così l'andamento temporale e rappresentando il contributo in percentuale di quel ritmo rispetto all'attività totale dell'EEG [5], secondo la formula (2.3). Tali serie sono state analizzate sia sull'intera traccia, per stimare la distribuzione spettrale globale, sia su finestre di 2 s antecedenti ciascun complesso, con l'obiettivo di individuare eventuali variazioni dei ritmi immediatamente precedenti l'esordio del complesso [5].

Tutte le misure sono state archiviate in formato strutturato per consentire analisi successive.

$$\text{RelPow}^{\text{banda}}(t) = \frac{\text{Pow}^{\text{banda}}(t)}{\sum_{\text{tutte le bande}} \text{Pow}^{\text{banda}}(t)} \quad (2.3)$$

Clustering: Per raggruppare forme d'onda simili all'interno dello stesso tracciato EEG, viene implementato un algoritmo di clustering, in particolare il k-means, che opera su una base canale-per-canale, in quanto forme d'onda provenienti da diversi canali EEG possono presentare morfologie diverse pur derivando dallo stesso processo patologico [11]. Per ogni forma d'onda identificata sono state estratte caratteristiche discriminative:

- la posizione, rappresentata dall'indice del canale EEG di origine;
- il segno della forma d'onda, che può assumere valori da -1 a +1;
- la durata, ottenuta calcolando il rapporto tra il numero di campioni della forma d'onda e la frequenza di campionamento;
- l'ampiezza, quantificata mediante l'RMS.

Il numero di cluster è stato aumentato iterativamente fino a quando il valore RMS massimo all'interno di ogni classe risultava inferiore al 10% della media delle caratteristiche normalizzate. Una volta completato il clustering, vengono considerati validi solo i cluster contenenti almeno 8 forme d'onda, in modo da distinguere pattern significativi dal rumore sporadico [11].

Applicando questa procedura a tracciati EEG di pazienti affetti da encefalite, sono stati identificati cluster in cui la ripetizione dello stesso motivo morfologico rappresenta un'indicazione di rilevanza clinica, suggerendo che la forma d'onda riflette un evento patologico ricorrente piuttosto che un'identificazione casuale (Fig. 2.8).

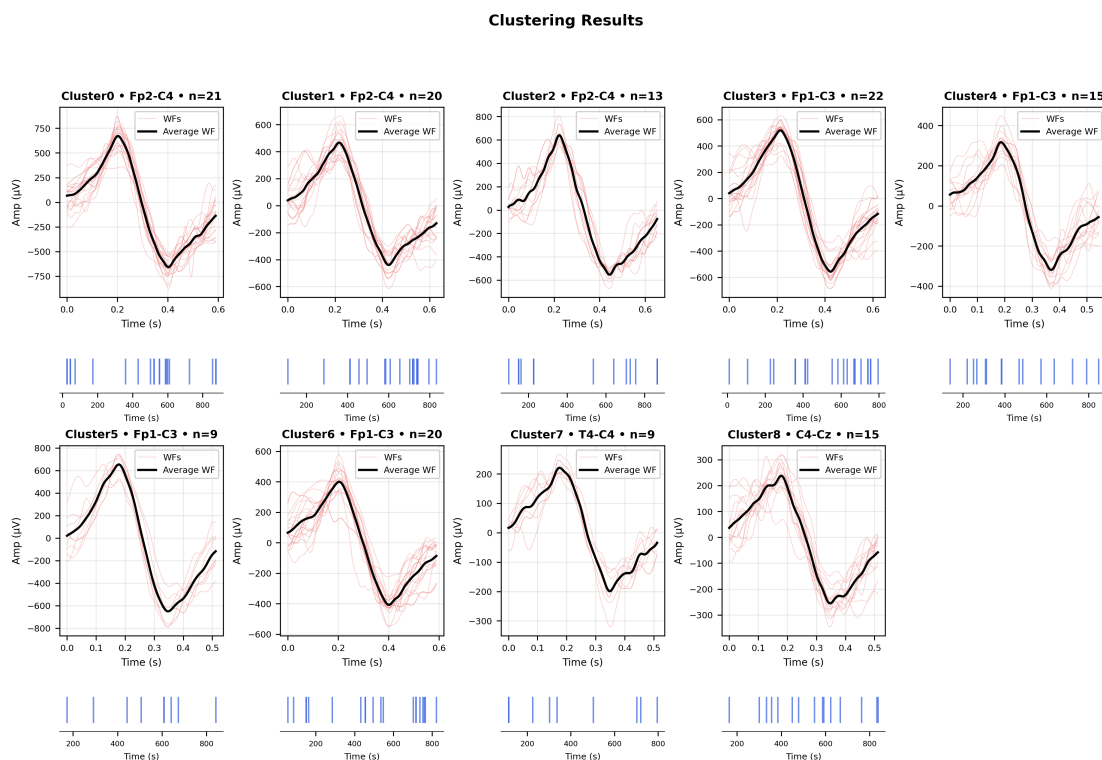


Figura 2.8: Risultato dell'analisi di clustering dei complessi lenti bifasici. Per ciascun cluster identificato vengono mostrate le singole forme d'onda allineate temporalmente (in rosso) e la corrispondente forma d'onda media (in nero), calcolata come media dei complessi appartenenti al cluster. La forma media è rappresentata in funzione del tempo, con l'ampiezza (μV) e la durata (s) indicate sugli assi. Per ciascun cluster sono indicati il canale EEG su cui sono stati rilevati i complessi e il numero totale di forme d'onda che compongono il raggruppamento. Al di sotto di ciascun cluster, inoltre, sono riportati gli istanti temporali di occorrenza dei complessi lungo la durata della registrazione EEG, fornendo una rappresentazione della distribuzione temporale degli eventi appartenenti a ciascun cluster.

Capitolo 3

Risultati

Nella presente sezione vengono riportati i risultati delle analisi quantitative effettuate sui tracciati EEG. A partire dai parametri estratti (frequenza di comparsa dei CLB, valori di RMS, distribuzione spaziale dei CLB nelle diverse aree corticali, potenze spettrali e distribuzione degli IPI), sono stati elaborati i dati con un duplice scopo: da un lato verificare se i pattern osservati nei tracciati del campione in esame risultano coerenti con quanto descritto nei precedenti studi sull'encefalite, dall'altro valutare l'affidabilità e la capacità discriminativa dell'algoritmo sviluppato, verificando che le misure ottenute siano in grado di riflettere la gravità clinica dell'attività patologica. A tal fine, per la maggior parte delle analisi riportate di seguito, sono stati considerati i tracciati EEG a cui, in sede clinica, è stata attribuita una maggiore gravità della patologia (punteggio di gravità da 1 a 4), così da massimizzare la sensibilità nel rilevare le anomalie attese. Il dataset, in questo caso, comprende 80 tracciati EEG provenienti da 10 pazienti di gravità da lieve a molto severa e sottoposti a monitoraggio longitudinale nel corso di più visite cliniche.

Successivamente, verranno presentati casi studio di pazienti encefalitici per i quali è disponibile l'intero follow-up clinico durante il corso della patologia, i cui dati sono stati acquisiti grazie al trasferimento clinico del software in ambito ospedaliero, al fine di illustrare l'applicabilità del sistema in contesti reali e la sua utilità nella pratica clinica.

3.1 Distribuzione spaziale dei CLB

L'analisi quantitativa sui CLB è stata condotta con l'obiettivo di valutare la loro distribuzione regionale e la loro relazione con la severità del quadro clinico. In particolare, l'attenzione è stata focalizzata sulle regioni frontali, poiché principalmente coinvolte nei processi fisiopatologici associati al peggioramento dell'encefalite.

In questo caso, per ogni visita di ciascun paziente sono stati presi in considerazione i seguenti parametri:

- durata complessiva della registrazione, espressa in minuti;
- numero di eventi CLB rilevati per ciascun canale EEG.

Ogni canale EEG è stato classificato in base alla sua localizzazione anatomica secondo il sistema internazionale 10–20. In particolare, sono stati definiti come canali frontali i seguenti elettrodi: Fp1, Fp2, F3, F4, F7, F8, Fz.

Tutti gli altri canali EEG validi sono stati raggruppati nella categoria “Altro”, comprendente regioni centrali, parietali, temporali e occipitali. Questa classificazione ha permesso di confrontare in modo sistematico l’attività dei complessi nelle regioni frontali rispetto al resto della superficie corticale.

Per consentire un confronto affidabile tra registrazioni EEG caratterizzate da diversa durata e da un differente numero di canali analizzati, la frequenza di comparsa delle onde è stata espressa in termini di *tasso normalizzato*, definito come numero di eventi CLB per minuto e per canale.

$$\text{Tasso CLB} = \frac{\text{Numero di CLB}}{\text{Durata (min)} \times \text{Numero di canali}} \quad (3.1)$$

Tale misura consente di descrivere l’attività in modo uniforme, riducendo l’influenza delle caratteristiche tecniche della registrazione sui risultati e rendendo confrontabili i valori ottenuti tra diverse regioni corticali, registrazioni e soggetti.

Poiché a ciascun paziente è associato un numero diverso di tracciati EEG, i risultati sono stati sintetizzati a livello individuale calcolando, per ogni soggetto, un tasso medio di CLB nelle regioni frontali e un tasso medio nelle altre regioni corticali.

Questa procedura permette di rappresentare ciascun soggetto mediante una coppia di misure appaiate, consentendo un confronto diretto tra la distribuzione frontale e quella non frontale degli eventi CLB, effettuato mediante *test di Wilcoxon per ranghi con segno per campioni appaiati*.

La scelta di un approccio non parametrico è risultata appropriata alla luce delle caratteristiche dei dati analizzati e della struttura del campione: il numero di pazienti inclusi nello studio è limitato e la distribuzione dei tassi dei CLB mostra un’elevata variabilità interindividuale, con valori spesso asimmetrici. In aggiunta, la natura appaiata delle osservazioni consente al test di Wilcoxon di valutare direttamente le differenze tra le due condizioni all’interno dello stesso individuo.

Il test verifica se la mediana di tali differenze si discosta significativamente da zero: per ciascun paziente viene calcolata la differenza tra il tasso di CLB frontale e quello non frontale; le differenze nulle vengono escluse, mentre le restanti vengono ordinate in base al loro valore assoluto e trasformate in ranghi. A ciascun rango viene attribuito il segno della differenza originale, permettendo di valutare se le

differenze positive e negative si bilanciano oppure se una delle due condizioni tende a prevalere in modo sistematico [14].

L'analisi è stata implementata in Python eseguendo un test bilaterale, che valuta la presenza di una differenza significativa tra i tassi dei CLB nelle regioni frontali e quelli nelle altre regioni corticali, senza specificare la direzione della differenza, e un test unilaterale, che valuta specificamente se il tasso dei CLB è maggiore nelle regioni frontali.

Il livello di significatività statistica è stato fissato a $\alpha = 0.05$ e i risultati sono stati interpretati secondo le convenzioni standard, considerando $p < 0,05$ come significativo, $p < 0,01$ molto significativo e $p < 0,001$ altamente significativo.

Dall'analisi dei tassi medi dei CLB per paziente si osserva che, complessivamente, 7 pazienti su 10 (70%) presentano un tasso medio più elevato nelle regioni frontali, mentre in 3 pazienti, in modo più o meno evidente, si osserva il pattern opposto.

Dal confronto dei valori medi per paziente emerge che la mediana del tasso frontale è pari a 1.085 CLB/min/canale, mentre quella del tasso nelle altre regioni è 0.757 CLB/min/canale, con un rapporto mediano di circa 1.43.

In altre parole, il tasso dei CLB nelle regioni frontali risulta mediamente superiore di circa il 43% rispetto alle altre aree cerebrali.

La Figura 3.1 riassume graficamente i risultati mediante un boxplot con dati appaiati per ciascun paziente in cui è evidente una tendenza complessiva verso tassi dei CLB più elevati nelle regioni frontali rispetto alle altre regioni. Solo in una minoranza dei casi si osserva il pattern opposto, riflettendo eterogeneità clinica o differenze nelle modalità di registrazione.

Infine, il test di Wilcoxon per campioni appaiati fornisce ulteriori informazioni sulla significatività statistica:

- Il test bilaterale restituisce $p = 0.08398$, leggermente al di sopra della soglia convenzionale. Ciò indica che non si può affermare con certezza statistica che i tassi di CLB siano diversi tra frontali e altre regioni se non si specifica la direzione della differenza;
- Il test unilaterale, invece, con ipotesi alternativa Frontale $>$ Altro, produce $p=0.04199$, inferiore a 0.05, confermando che il tasso di CLB è significativamente maggiore nelle regioni frontali quando si considera la direzione specifica prevista.

Nel complesso, i risultati sono coerenti con l'ipotesi di una prevalenza dei complessi lenti bifasici nelle regioni frontali nei pazienti affetti da encefalite. Il mancato raggiungimento della significatività nel test bilaterale può essere attribuito alla limitata numerosità campionaria, mentre l'esito del test unilaterale risulta in linea con l'ipotesi alla base dello studio, supportata dai dati presenti in letteratura che suggeriscono una predominanza frontale di tali pattern.

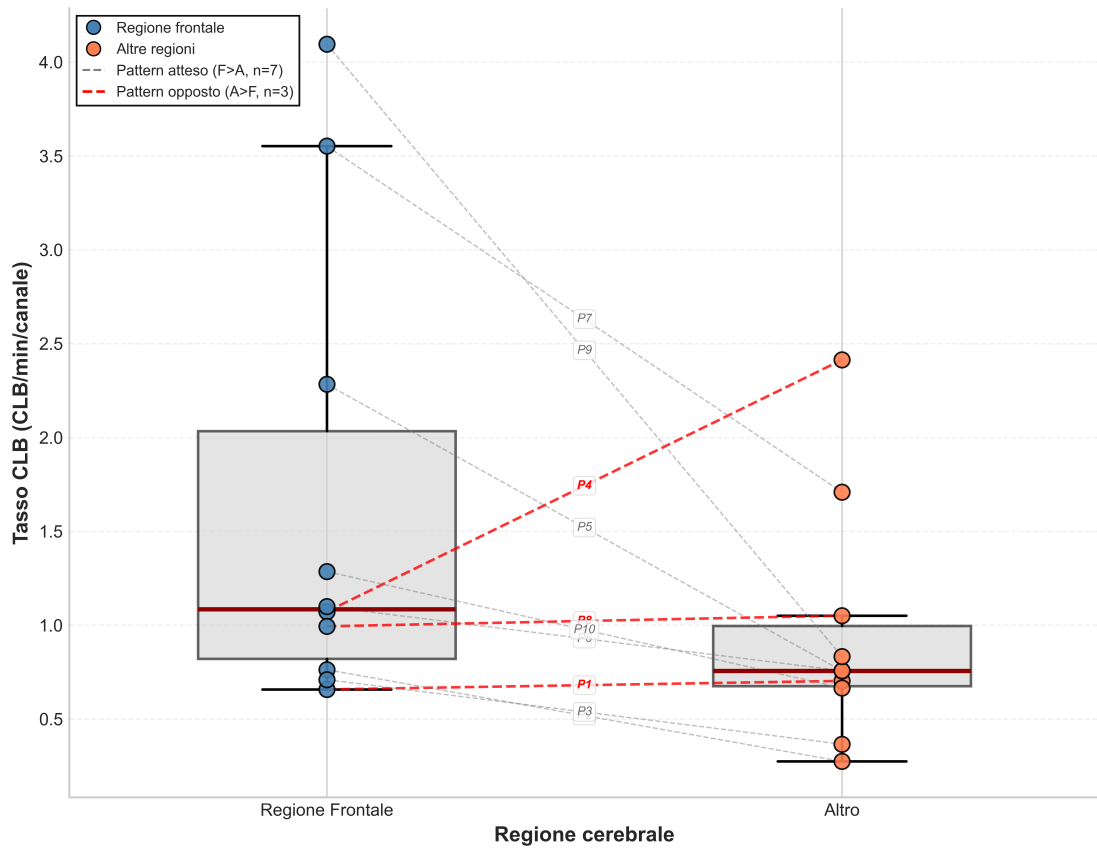


Figura 3.1: La figura mostra la distribuzione dei tassi medi di CLB per paziente nelle regioni frontali (punti blu) e nelle altre regioni corticali (punti arancioni), rappresentata mediante boxplot con dati appaiati. I punti individuali, collegati da linee tratteggiate, consentono di visualizzare il confronto intra-individuale. In rosso sono riportati i pazienti in cui il pattern risulta essere opposto a quello atteso.

3.2 Relazione tra frequenza di comparsa dei CLB e valore di RMS

Per analizzare la relazione tra frequenza di comparsa dei CLB e RMS cumulativo è stata utilizzata la *correlazione di Spearman*, implementata in Python e calcolata, in questo specifico caso, sull'insieme dei 108 tracciati disponibili relativi ai soggetti patologici, con l'obiettivo di individuare un'eventuale tendenza monotona tra le due grandezze durante l'intero follow-up clinico, al fine di confermare le evidenze già descritte in letteratura.

La correlazione di Spearman è una misura statistica non parametrica utilizzata per valutare l'intensità e la direzione di un'associazione monotona tra due variabili

quantitative. Non richiede l'assunzione di normalità dei dati o di una relazione lineare tra le variabili, poiché si basa sul confronto dei ranghi dei valori piuttosto che sui valori assoluti. Il coefficiente di Spearman ρ assume valori compresi tra -1 e $+1$, dove valori prossimi agli estremi indicano una forte associazione monotona, mentre valori prossimi allo zero suggeriscono una relazione debole o assente [15]. In questo caso, dunque, è stata scelta per i seguenti motivi:

- Assenza di linearità: una prima ispezione visiva dei risultati ottenuti ha rivelato una relazione monotona ma non lineare tra le variabili, con maggiore dispersione dei dati a intervalli brevi tra un CLB e quello consecutivo e minore dispersione a intervalli lunghi;
- Robustezza agli outlier: alcuni complessi rilevati hanno valori di RMS molto elevati che potrebbero influenzare eccessivamente un modello lineare. La correlazione di Spearman, basandosi sui ranghi, è robusta a questi valori estremi;
- Obiettivo dell'analisi: l'interesse non è quantificare una relazione lineare, ma verificare se esiste una tendenza coerente per cui CLB più frequenti si associano a RMS maggiori, indipendentemente dalla forma matematica esatta di questa relazione.

I risultati ottenuti (Fig. 3.2) evidenziano che, dei 10 pazienti analizzati, 6 hanno mostrato una correlazione di Spearman negativa e statisticamente significativa tra la frequenza di comparsa dei CLB e l'RMS cumulativo, con valori di ρ compresi tra -0.60 e -1.00 e valori di $p < 0.05$.

In particolare, PATIENT_0002 e PATIENT_0007 hanno mostrato correlazioni quasi perfette ($\rho = -1.00$ e $\rho = -0.95$, rispettivamente), mentre PATIENT_0008 ha confermato il trend anche con un campione molto ampio ($\rho = -0.60$, $p < 0.001$). Solo tre pazienti hanno mostrato correlazioni negative forti, ma non statisticamente significative (PATIENT_0003: $\rho = -0.57$, $p = 0.051$; PATIENT_0005: $\rho = -0.80$, $p = 0.104$; PATIENT_0006: $\rho = -0.70$, $p = 0.188$), probabilmente a causa della dimensione campionaria limitata.

In ogni caso, tutti i pazienti hanno mostrato correlazioni negative ($\rho < 0$), confermando l'ipotesi secondo cui quando i complessi lenti bifasici si manifestano con maggiore frequenza, l'ampiezza RMS tende ad aumentare e suggerendo, in tal modo, l'esistenza di un legame biologico sottostante.

Dopo aver analizzato i risultati a livello individuale, è stato condotto un test binomiale per valutare se la correlazione negativa statisticamente significativa osservata in 6 pazienti su 10 possa essere attribuita al caso oppure rappresenti un effetto biologicamente rilevante a livello di popolazione. Il test assume come ipotesi nulla H_0 che, in assenza di un reale meccanismo biologico sottostante, ciascun paziente abbia una probabilità pari a 0.5 di mostrare una correlazione negativa

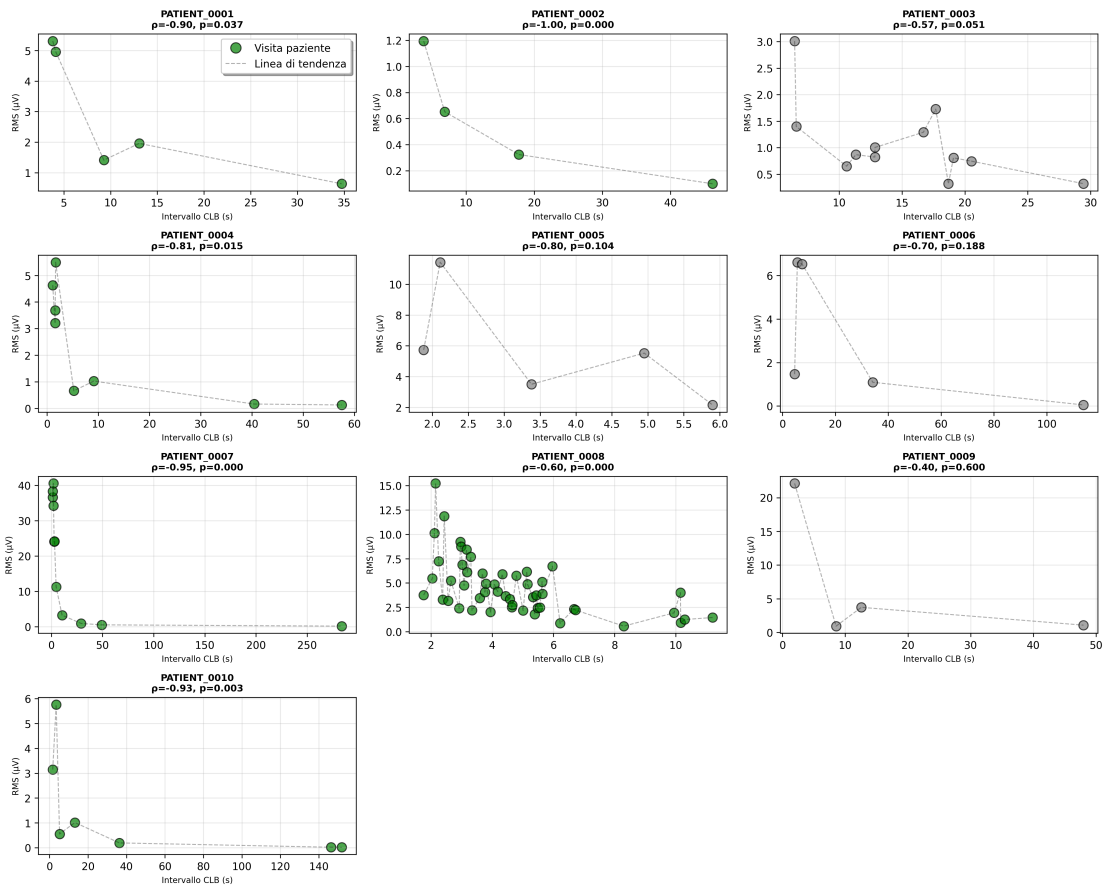


Figura 3.2: *Analisi per-paziente della relazione tra l'intervallo dei CLB e l'ampiezza RMS. Ogni pannello rappresenta un singolo paziente e mostra la relazione tra frequenza di comparsa dei CLB (asse x, in secondi) e l'ampiezza RMS cumulativa (asse y, in μV). I punti verdi indicano osservazioni che presentano un trend negativo statisticamente significativo ($\rho < 0$, $p < 0.05$), mentre i punti grigi indicano osservazioni di pazienti senza un trend significativo. La linea tratteggiata rappresenta la linea di tendenza stimata per ciascun paziente.*

statisticamente significativa. Il test binomiale restituisce un valore di $p=0.377$ non raggiungendo, dunque, la significatività statistica ed evidenziando che la tendenza osservata non sia universale, ma confinata a specifici sottogruppi di pazienti.

La mancanza di significatività statistica a livello di popolazione, combinata con il trend riscontrato nei singoli pazienti, suggerisce che la variabilità emersa possa riflettere un'eterogeneità interindividuale piuttosto che una reale assenza del fenomeno, riconducibile a differenze genetiche, variabilità anatomica o a stadi differenti della patologia.

3.3 Andamento dei ritmi EEG

Nel presente studio è stato verificato se il rallentamento dell'attività cerebrale osservato globalmente nell'encefalite si accentua ulteriormente nella finestra di due secondi che precede i CLB. Dunque, sono state confrontate le potenze relative delle bande EEG (delta, theta, alpha, beta) calcolate sull'intero tracciato con quelle della finestra pre-CLB. Per verificare la significatività statistica delle variazioni di potenza, è stato utilizzato il *t-test a un campione*.

L'analisi dei boxplot per singolo paziente (Fig 3.3,3.4,3.5,3.6) ha prodotto risultati che confermano parzialmente le ipotesi di partenza, evidenziando pattern coerenti, ma con variabilità inter-paziente significativa.

La maggioranza delle visite analizzate mostra il pattern completo atteso, ossia un incremento del ritmo delta associato a una riduzione di theta, alpha e beta nella finestra pre-CLB rispetto all'intero tracciato. Tali osservazioni supportano fortemente l'ipotesi che il rallentamento cerebrale globale si accentui transitoriamente prima dell'emergenza dei complessi.

Il ritmo theta, invece, presenta un comportamento più variabile, visibile nelle osservazioni che mostrano un incremento anziché una riduzione. Tale variabilità potrebbe essere il risultato di diverse fasi evolutive dell'encefalite o di una possibile presenza di dinamiche più complesse nei 2 secondi pre-CLB rispetto alle altre bande.

Per quanto riguarda i ritmi alpha e beta, si osserva una riduzione consistente in tutte le visite; tale evidenza suggerisce che essi possano rappresentare marcatori più robusti dell'attività cerebrale associata all'encefalite.

Infine, dal *t-test a un campione* effettuato sulle 62 registrazioni è emerso che tutti i parametri spettrali hanno dimostrato variazioni statisticamente significative ($p < 0.001$) nella finestra pre-CLB.

In particolare, per il ritmo delta è stata osservata una variazione media positiva di +1.27% ($\pm 1.51\%$) e tale incremento è altamente significativo ($t = 7.51$, $p < 0.001$).

Il ritmo theta presenta una variazione media di -0.42% ($\pm 0.71\%$) e statisticamente significativa ($t = -5.28$, $p < 0.001$). Sebbene la riduzione sia meno marcata rispetto al ritmo delta, essa è comunque presente in quasi il 70% delle visite, suggerendo una riduzione transitoria del ritmo pre-evento.

Il ritmo alpha mostra una riduzione media di -0.37% ($\pm 0.70\%$) e statisticamente significativa ($t = -4.77$, $p < 0.001$), indicando una soppressione coerente del ritmo alfa nella finestra pre-CLB.

Il ritmo beta manifesta la riduzione più pronunciata e consistente, con variazione media di -0.47% ($\pm 0.70\%$) ($t = -6.02$, $p < 0.001$), presente nel 95% delle visite.

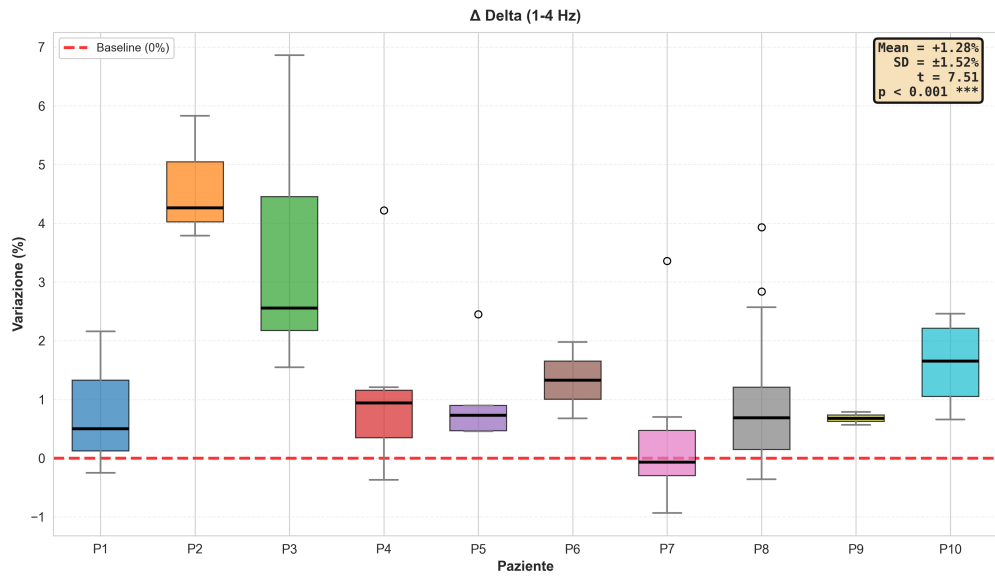


Figura 3.3: Variazioni della potenza Delta (1-4 Hz) nella finestra pre-CLB. Incremento medio +1.28% ($t=7.51$, $p<0.001$). La linea tratteggiata indica la baseline (0%)

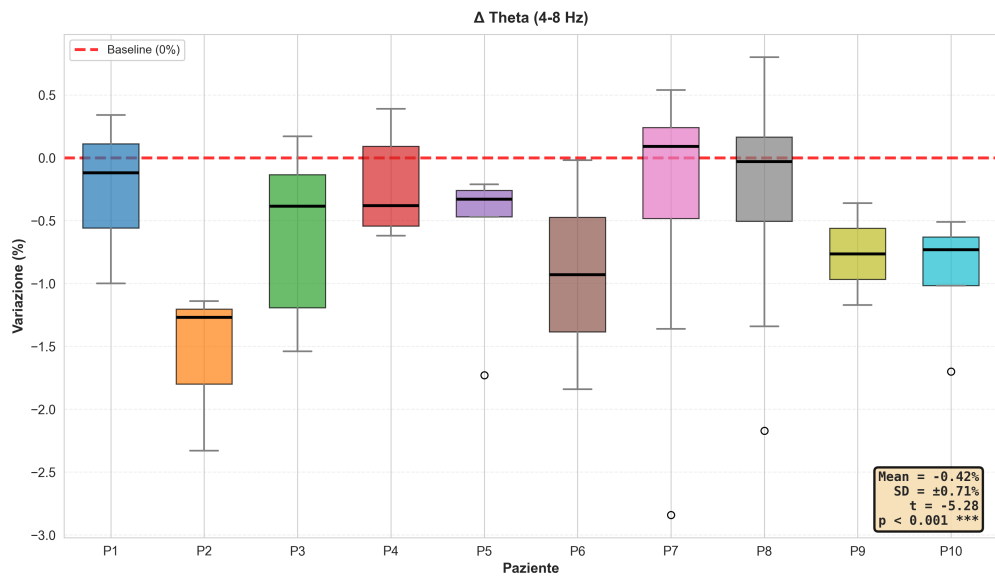


Figura 3.4: Variazioni della potenza Theta (4-8 Hz) nella finestra pre-CLB. Riduzione media -0.42% ($t=-5.28$, $p<0.001$), con maggiore variabilità inter-paziente.

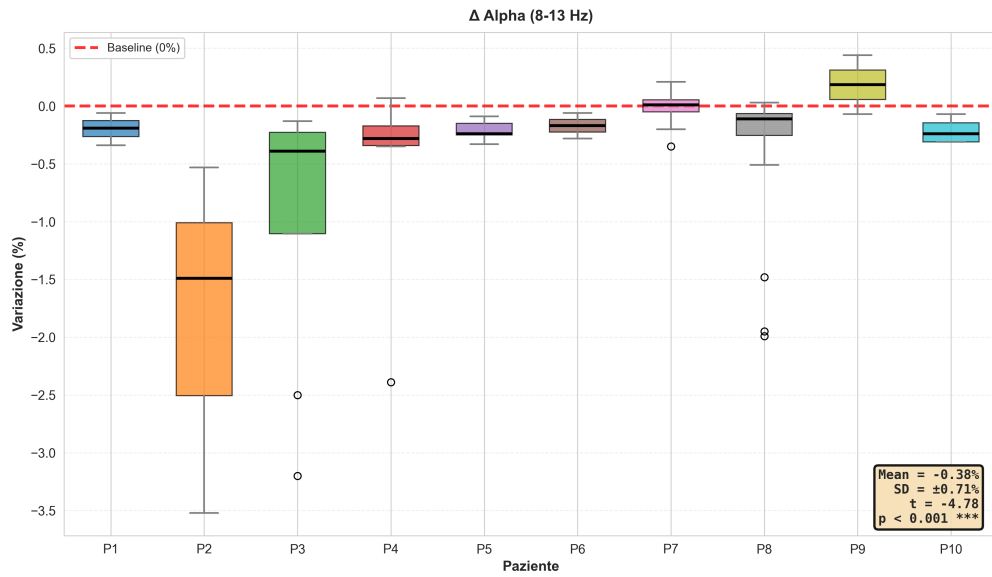


Figura 3.5: Variazioni della potenza Alpha (8-13 Hz) nella finestra pre-CLB. Riduzione media -0.38% ($t=-4.78$, $p<0.001$), presente nell'85% delle visite.

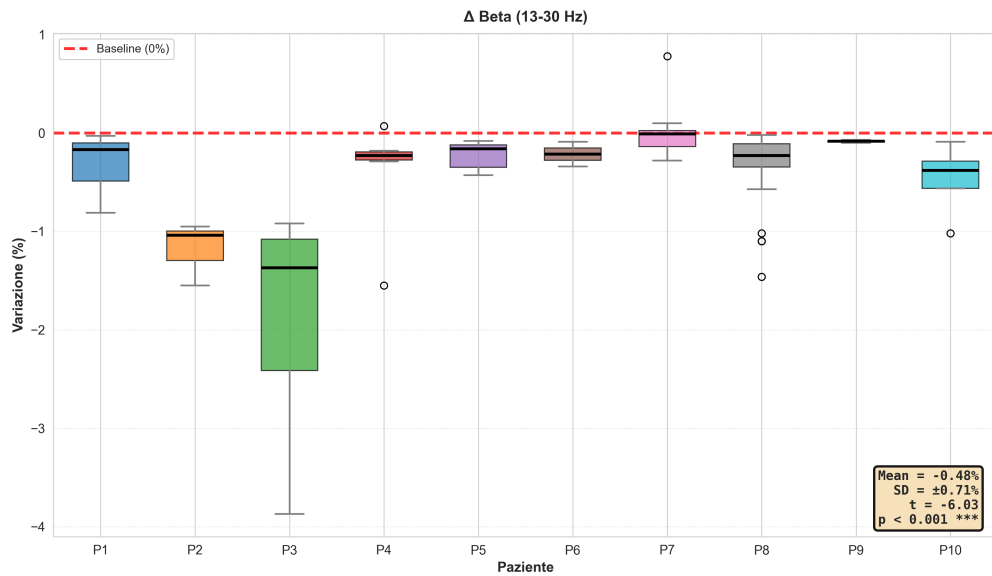


Figura 3.6: Variazioni della potenza Beta (13-30 Hz) nella finestra pre-CLB. Riduzione media -0.48% ($t=-6.03$, $p<0.001$), dimostrandosi il marker più consistente (95% dei casi).

3.4 Distribuzione degli IPI

L'analisi quantitativa della distribuzione degli IPI è stata condotta pre-processando i tracciati mediante l'estrazione automatizzata dei parametri temporali descrittivi della distribuzione degli IPI:

- Media (Mean IPI), parametro corrispondente alla frequenza di comparsa dei complessi lenti bifasici;
- Mediana (Median IPI), definito come il valore centrale della distribuzione ordinata degli intervalli inter-pulse. Questo parametro è un indicatore quantitativo della ricorrenza temporale tipica delle scariche: valori bassi indicano scariche raggruppate, mentre valori elevati indicano scariche temporalmente distanziate.
- Deviazione Standard (Std IPI), che fornisce informazioni sulla dispersione degli IPI: un valore elevato indica alta variabilità negli intervalli, con alternanza tra scariche molto ravvicinate e scariche distanziate, riflettendo un'attività cerebrale instabile;
- Coefficiente di Variazione (CV), la cui interpretazione distingue due tipi di attività: quando il CV è ≤ 1.0 , l'attività risulta regolare e periodica, con intervalli inter-pulse omogenei e prevedibili; al contrario, valori di CV > 1.0 indicano un'attività sporadica e aperiodica, caratterizzata da intervalli inter-pulse molto eterogenei e da un'alternanza tra scariche ravvicinate e pause prolungate.

Al fine di approfondire l'eterogeneità osservata nei diversi tracciati, è stata condotta un'analisi individuale sulla distribuzione degli IPI per ciascun paziente, permettendo di identificare comportamenti elettrofisiologici specifici e casi con caratteristiche atipiche rispetto al profilo prevalente.

Come evidenziato dallo scatter plot in figura 3.7, la maggioranza dei pazienti ha mostrato pattern IPI pienamente coerenti con le evidenze riportate negli studi precedentemente descritti per i tracciati di gravità moderata-alta, caratterizzati da:

- Presenza di raggruppamento temporale: il 15% delle visite mostra un clustering ultra-intenso, con intervalli tipici inferiori a 1 secondo; circa il 34% delle visite presenta, invece, un clustering moderato, con scariche frequenti ma leggermente più distanziate, comprese tra 1 e 2 secondi. Un'ulteriore porzione di pazienti evidenzia un'attività moderata, con intervalli di 2–4 secondi, mentre una minoranza mostra un'attività sporadica a bassa frequenza, con intervalli superiori a 4 secondi, pur mantenendo un'elevata irregolarità (CV > 1.0);

- Attività sporadica e altamente irregolare rilevata in tutti i tracciati analizzati, indipendentemente dalla frequenza di comparsa delle scariche, evidenziata da un valore di CV maggiore di 1.

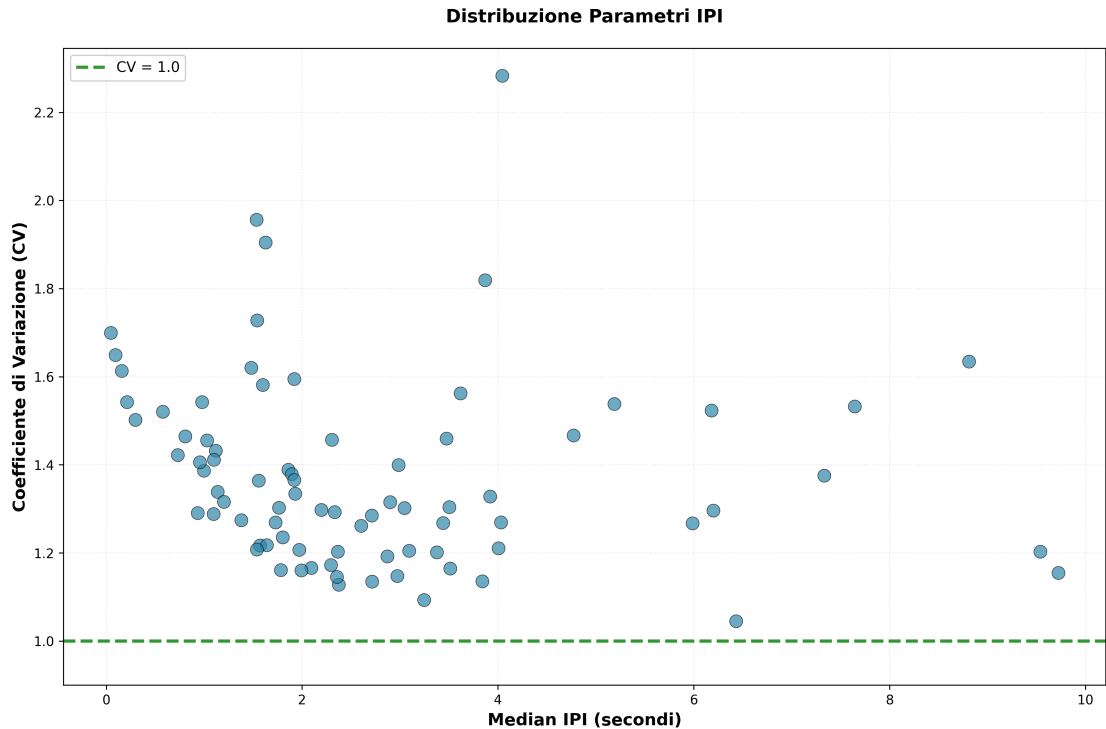


Figura 3.7: Lo scatter plot rappresenta la distribuzione di 80 tracciati EEG in uno spazio bidimensionale definito da due parametri: il Median IPI sull'asse orizzontale (range 0–10 secondi) e il Coefficiente di Variazione sull'asse verticale (range 1.0–2.3). Ogni punto blu rappresenta una visita clinica. La linea verde tratteggiata orizzontale è posizionata a $CV = 1.0$.

3.5 Raggruppamento dei CLB in cluster

Analizzando tutti i tracciati EEG disponibili mediante il software e, in seguito all'applicazione dell'algoritmo di clustering k-means combinato ai criteri di selezione delle forme d'onda precedentemente descritti, è stato rilevato un numero considerevole di cluster, parte dei quali sono rappresentati in figura 3.8.

Ciascun cluster raggruppa forme d'onda morfologicamente simili, rivelando pattern elettrofisiologici ben strutturati e caratteristiche quantificabili che potrebbero fornire informazioni clinicamente rilevanti sulla condizione patologica del paziente.

L'analisi visiva dei cluster rilevati dall'algoritmo mette in evidenza una struttura bifasica consistente delle forme d'onda. Ogni cluster, infatti, presenta la caratteristica sequenza di due onde con polarità invertita, corrispondente alla definizione classica di complesso lento bifasico. Le singole forme d'onda seguono strettamente il profilo di quella media, e ciò prova che il criterio matematico implementato nell'algoritmo ha funzionato correttamente e che, dunque, i membri di ciascun cluster sono omogenei e rappresentano manifestazioni ripetute dello stesso fenomeno elettrofisiologico.

La maggior parte dei cluster presenta ampiezze variabili nel range tipico dei CLB, generalmente comprese tra 50 e 200 μV [11]. Nonostante ciò, si osserva un'eterogeneità inter-cluster: alcuni, infatti, mostrano ampiezze particolarmente elevate, superiori ai 500-1000 μV , suggerendo una forte attività delle sorgenti neurali corrispondenti; altri, invece, presentano ampiezze nell'ordine di alcune centinaia di microvolt, riflettendo generatori con minore intensità.

La scala temporale riportata negli assi orizzontali di ciascun grafico permette di caratterizzare la durata dei CLB identificati. Sebbene la maggior parte dei cluster presenti forme d'onda con durata complessiva nell'ordine di 400-700 millisecondi, anche in questo caso, si osserva una variabilità inter-cluster: alcuni presentano durate brevi (300-400 ms), con complessi rapidi e ampiezze generalmente ridotte, mentre altri mostrano durate prolungate (600-800 ms), spesso associate ad ampiezze più elevate.

La durata temporale riscontrata e la relazione osservata tra ampiezza e durata, dunque, riflettono le evidenze presenti in letteratura, secondo cui complessi di maggiore ampiezza tendono ad avere una maggiore estensione temporale.

Infine, si osservano numerosi cluster originati da derivazioni frontali e fronto-centrali, rimanendo in linea con i risultati riportati nei precedenti paragrafi. Questa predominanza frontale rappresenta una caratteristica distintiva clinicamente significativa, in quanto la distribuzione non è casuale ma è indice di una maggiore concentrazione dei processi infiammatori encefalitici nelle aree anteriori del cervello.

3.6 Confronto controlli vs patologici

Di seguito sono riportati tre esempi di tracciati EEG di durata confrontabile, relativi ad un unico paziente patologico registrato in due differenti condizioni cliniche (quadro severo e quadro con manifestazioni moderate) e ad un soggetto di controllo. Per ogni registrazione è stata applicata la medesima procedura di analisi automatica implementata nel software, e nelle figure 3.9, 3.10 e 3.11 sono riportate delle porzioni di 120 secondi di tracciato per mettere in evidenza come, anche in pochi minuti di registrazione, la densità dei complessi che emergono vari significativamente al variare della condizione clinica.

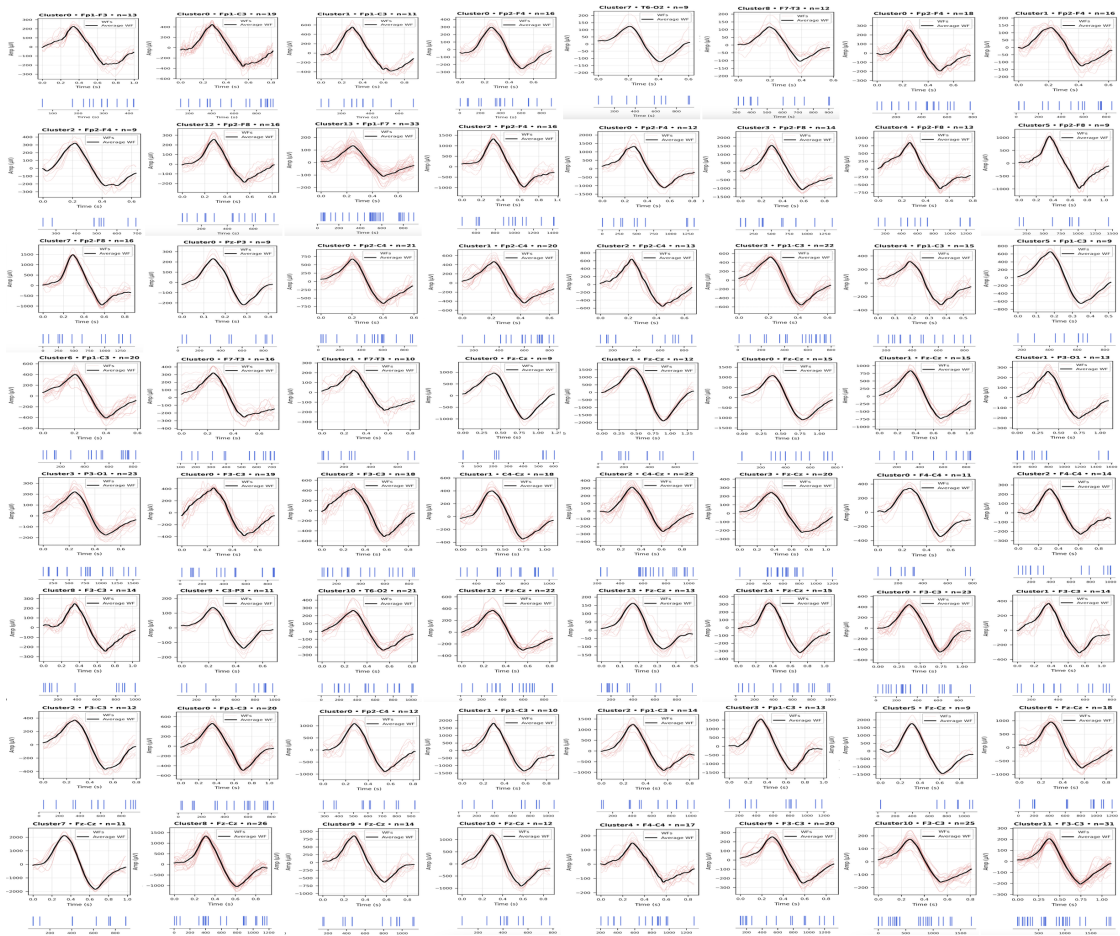


Figura 3.8: Alcuni dei cluster rilevati dal software sui 108 tracciati EEG relativi ai soggetti patologici.

Nel tracciato del soggetto patologico a cui è stata assegnata gravità severa (Fig. 3.9), il software rileva un numero elevato di CLB per minuto (593 CLB totali in 16 minuti di registrazione), riflettendo in maniera coerente il punteggio assegnato in sede clinica; nel tracciato di gravità moderata dello stesso soggetto (Fig. 3.10), il numero di complessi identificati risulta essere ridotto (113 CLB totali in 17 minuti di registrazione), pur rimanendo nettamente superiore rispetto al controllo, il cui tracciato è visibilmente caratterizzato da un'attività elettrica fisiologica (Fig. 3.11). In questo caso, infatti, vengono individuati soltanto 4 CLB nell'intera registrazione di 15 minuti, verosimilmente attribuibili a falsi positivi o ad artefatti. Per quantificare in modo sistematico questa differenza su tutto il campione, per ciascuno dei 10 pazienti encefalitici è stata presa in considerazione la visita a cui in sede clinica era stato attribuito lo score di gravità più elevato; le 10 registrazioni

totali, poi, sono state confrontate con le 10 registrazioni dei soggetti di controllo, caratterizzati da tracciati EEG fisiologici. Per ogni tracciato sono stati estratti parametri quantitativi relativi ai CLB (numero totale di eventi, frequenza di comparsa e RMS cumulativo), i cui valori sono riportati in tabella 3.1, e le distribuzioni ottenute nei due gruppi sono state poi confrontate mediante *test di Mann-Whitney* non parametrico. Il test di Mann-Whitney U è considerato l'alternativa non parametrica al t-test per campioni indipendenti e viene applicato per verificare le differenze tra due gruppi di dati non parametrici [16], come in questo specifico caso. L'analisi ha evidenziato differenze statisticamente significative tra pazienti encefalitici e controlli per tutte le metriche considerate, ossia per il numero totale di CLB rilevato ($p < 0.001$), il tasso di comparsa delle onde per minuto ($p < 0.001$) e il valore di RMS cumulativo ($p < 0.001$). Questo risultato è la conferma che, sulla base degli indici quantitativi, il software è in grado di discriminare in modo robusto EEG patologici da EEG di soggetti sani, in accordo con il livello di severità attribuito al quadro clinico dei pazienti.

Tabella 3.1: *Parametri quantitativi dei CLB nei 10 pazienti patologici, considerando il tracciato con gravità maggiore, e nei 10 soggetti di controllo.*

Paziente	Gruppo	Numero CLB	CLB/min	RMS(μ V)
1	Patologico	127	15.88	1.19
2	Patologico	320	17.76	3.50
3	Patologico	529	37.92	3.69
4	Patologico	150	9.29	3.01
5	Patologico	1181	36.64	3.15
6	Patologico	338	15.24	2.01
7	Patologico	165	10.69	6.61
8	Patologico	236	15.73	5.31
9	Patologico	291	22.16	24.10
10	Patologico	626	31.07	22.11
11	Controllo	4	0.26	0.02
12	Controllo	0	0.00	0.00
13	Controllo	38	0.61	0.25
14	Controllo	0	0.00	0.00
15	Controllo	72	3.84	0.97
16	Controllo	103	5.11	2.32
17	Controllo	3	0.19	0.12
18	Controllo	48	4.17	0.51
19	Controllo	8	0.55	0.26
20	Controllo	4	0.06	0.01

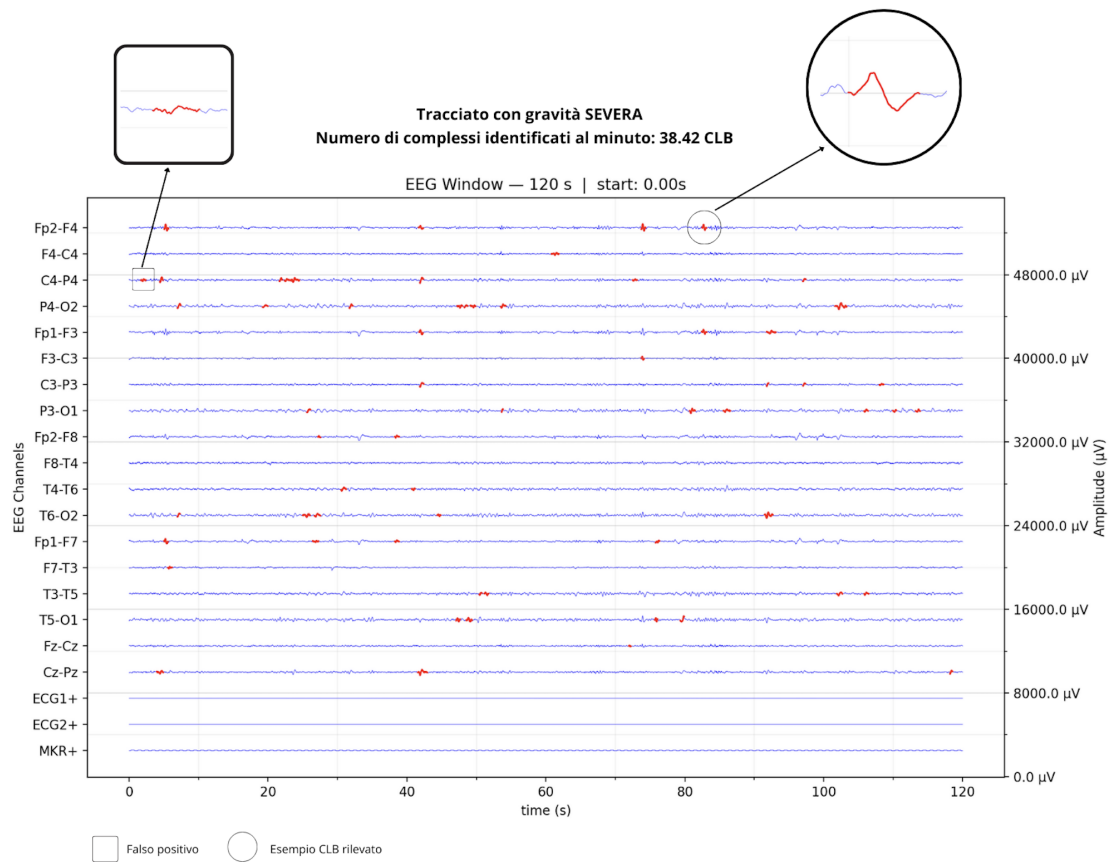


Figura 3.9: *Porzione di tracciato EEG relativo a soggetto patologico con gravità severa, che evidenzia un'elevata densità di CLB per minuto; in figura sono riportati esempi di CLB correttamente rilevati e falsi positivi.*

3.7 Validazione clinica: casi studio di pazienti con encefalite

Nella presente sezione vengono analizzati alcuni casi studio clinici, al fine di dimostrare la capacità del software di monitorare l'evoluzione dell'attività patologica nel tempo.

Caso studio 1: Il primo caso riguarda un paziente di 4 anni sottoposto a monitoraggio clinico intensivo nel corso di un mese, durante il quale sono state effettuate 4 visite mediche con acquisizione dei tracciati EEG.

Al momento della presentazione clinica, il paziente presentava febbre (38 °C), ipertermia, disturbi gastrointestinali e alterazione dello stato di coscienza, accompagnati da crisi convulsive ricorrenti, motivo per il quale è stato sottoposto alla

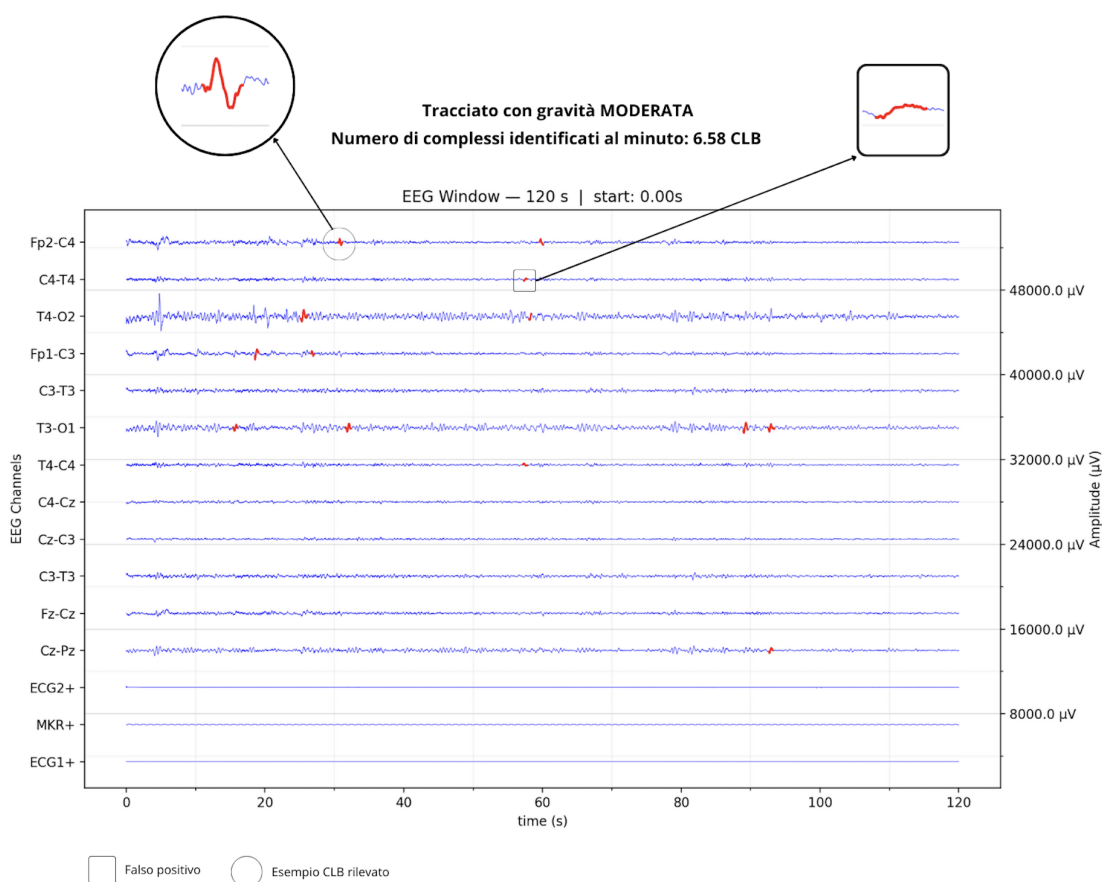


Figura 3.10: Porzione di tracciato EEG relativo a soggetto patologico con gravità moderata, con un numero minore di CLB identificati al minuto; in figura sono riportati esempi di CLB correttamente rilevati e falsi positivi.

somministrazione di un benzodiazepinico ad azione anticonvulsivante.

Durante le prime due visite cliniche svolte in giorni consecutivi, con somministrazione farmacologica ripetuta anche nel secondo giorno, il software ha rilevato un numero considerevole di complessi lenti bifasici caratterizzati da una frequenza di comparsa medio-alta, associata ad un raggruppamento delle scariche (valori di Median IPI attorno ai 6 secondi) e ad attività sporadica degli eventi patologici. In aggiunta, è stato riscontrato un incremento del ritmo delta seguito da una riduzione dei ritmi theta, alpha e beta, sinonimo di funzionamento neuronale rallentato e disorganizzato [5].

La sintomatologia clinica è rimasta costante nel corso dei giorni di monitoraggio e, al terzo giorno dall'esordio, il software ha documentato un lieve peggioramento del tracciato EEG, evidenziato da un aumento del numero di pattern e, di conseguenza, da una maggiore ricorrenza dei complessi rispetto alle visite precedenti.

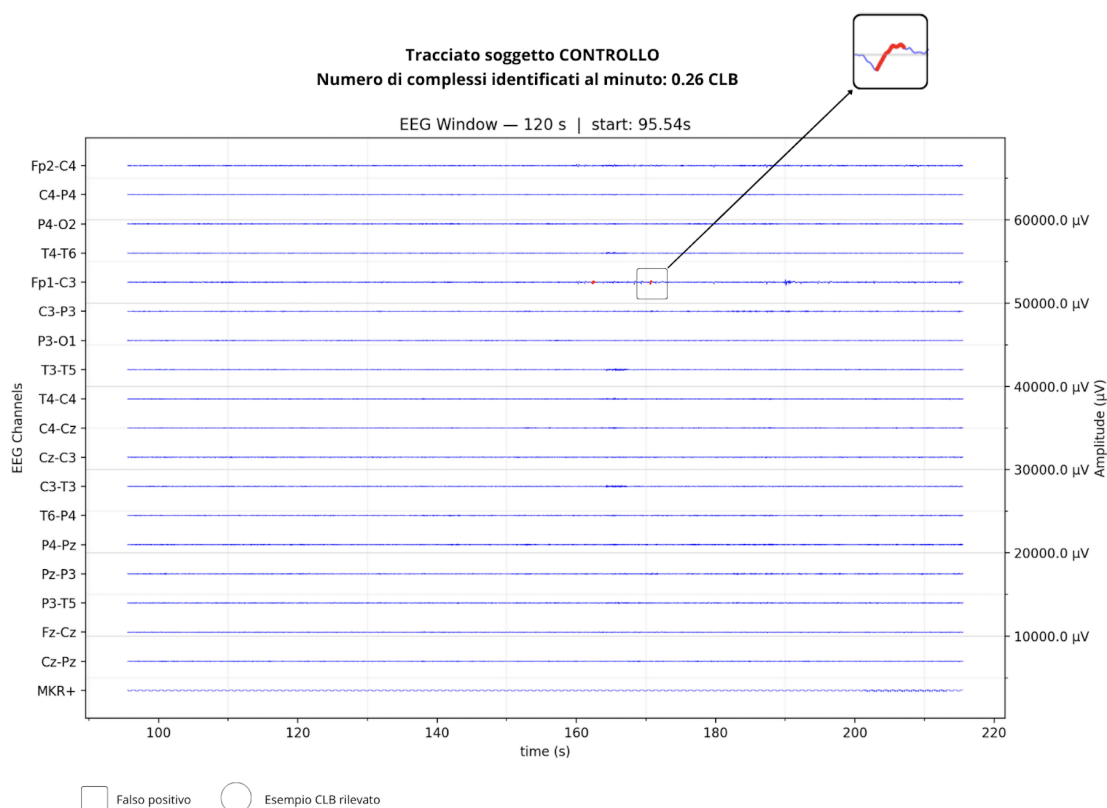


Figura 3.11: *Porzione di tracciato EEG relativo a soggetto di controllo, che riporta un andamento fisiologico; in figura è riportato un esempio di complesso rilevato ed attribuibile ad un falso positivo.*

Alla quarta visita, effettuata dopo un mese dalla prima, è stato osservato un miglioramento significativo del quadro clinico, prevedibile grazie alle terapie farmacologiche somministrate durante il follow-up e peraltro confermato dall'analisi da cui emerge questa evoluzione positiva. Il software, infatti, ha rilevato 46 eventi in quasi 40 minuti di registrazione, in netta riduzione rispetto alle valutazioni precedenti. La distribuzione temporale e spaziale dei CLB e l'andamento dei ritmi EEG nel corso delle visite sono riportati nelle figure 3.12 e 3.16.

A conclusione del percorso di monitoraggio, è stato eseguito un esame di neuroimaging che ha rilevato una lieve iperintensità aspecifica della sostanza bianca, segno interpretabile come esito residuo dell'infiammazione pregressa.

Caso studio 2: Il secondo caso riguarda un paziente di 3 anni presentatosi alla prima visita con esordio sintomatologico di 24 ore. Al momento della valutazione clinica, il paziente presentava ipertermia (37,5 °C), tachicardia (135 bpm), disturbi gastrointestinali e crisi convulsive. I test diagnostici hanno mostrato l'assenza di alterazioni strutturali cerebrali al neuroimaging, liquor cerebrospinale negativo, escludendo segni di infezione diretta del sistema nervoso centrale, e valore PCR lievemente elevato (4,5 mg/L).

Data una presentazione clinica compatibile con encefalite, il paziente è stato sottoposto ad una terapia multimodale comprendente agenti antivirali, copertura antibiotica empirica (interrotta per negatività batteriologica delle analisi), corticosteroidi ad azione antinfiammatoria e protezione gastrica.

Il secondo giorno di visita è stato effettuato un tampone naso-faringeo (NPT), risultato positivo per rhino/enterovirus, identificando una causa virale dei sintomi, motivo per il quale la terapia è stata semplificata con mantenimento della sola copertura antivirale e sospensione dei corticosteroidi.

Durante le prime due visite, dunque, l'elaborazione del segnale EEG ha documentato un profilo coerente con la diagnosi medica, con un tracciato caratterizzato da CLB con frequenza di comparsa elevata e da attività degli eventi sporadica.

Alla terza visita, effettuata cinque giorni dopo l'esordio clinico, il paziente presentava una completa remissione della sintomatologia clinica e neurologica, senza necessità di terapia farmacologica. Anche i parametri laboratoristici confermavano la risoluzione del processo infiammatorio, con PCR ridotto a 0,3 mg/L. Inoltre, l'analisi del tracciato ha rivelato l'assenza di pattern patologici significativi, indicativo della guarigione clinica e di un'attività cerebrale equilibrata, coerente con l'osservazione da parte del neurologo.

La distribuzione temporale e spaziale dei CLB e l'andamento dei ritmi EEG nel corso delle visite sono riportati nelle figure 3.13 e 3.17.

Caso studio 3: Il terzo paziente è un bambino di soltanto un anno, che al momento della visita si presenta con un quadro clinico complesso caratterizzato da ipertermia (38,5 °C), problemi respiratori, disturbi gastrointestinali, manifestazioni cutanee, alterazione dello stato di coscienza e crisi convulsive.

Al paziente è stata prescritta una terapia antibiotica endovenosa ad ampio spettro per il trattamento di un'infezione grave che prevede il coinvolgimento del sistema nervoso centrale, associata a terapia corticosteroidica per il controllo dell'infiammazione e dell'edema cerebrale e ad una terapia anticonvulsivante per il controllo e la prevenzione delle crisi epilettiche.

La combinazione tra i sintomi descritti e la cura somministrata orienta, in questo caso, verso una possibile meningoencefalite batterica [17].

Nel corso della prima visita, l'analisi dell'EEG ha evidenziato un numero elevato di complessi lenti bifasici, che si ripetevano in maniera non strutturata con alta

frequenza e una concentrazione spaziale piuttosto varia.

Anche nella seconda visita, effettuata due giorni dopo la prima, i sintomi sono persistiti con la prosecuzione della sola terapia antibiotica. Il software nella seconda registrazione ha rilevato un numero più basso di pattern rispetto a quello precedente, associato, però, ad un rallentamento molto più marcato dell'attività cerebrale nei 2 secondi prima dell'insorgenza dell'onda, testimoniato dall'incremento di quasi il 5% della potenza del ritmo delta.

Per quanto riguarda i sintomi e la terapia, non si riscontrano differenze tra la seconda e la terza visita, effettuata dopo due giorni, ma si nota un ulteriore aumento dei CLB rilevati soprattutto nei primi 10 minuti di registrazione e un andamento cerebrale rallentato, evidenziato dal pattern spettrale atteso.

La distribuzione temporale e spaziale dei CLB e l'andamento dei ritmi EEG nel corso delle visite sono riportati nelle figure 3.14 e 3.18.

Caso studio 4: Il quarto paziente analizzato è un bambino di 6 anni che riporta alla prima visita sintomi comparsi da 24 ore, quali ipertermia, tachicardia (100 bpm), stato di coscienza alterato e crisi convulsive. L'eziologia dell'encefalite, in questo caso, è virale, confermata dalla positività al SARS-CoV-2. Dai test diagnostici, inoltre, emerge un valore di PCR pari a 95,2 mg/L, sintomo di un processo infettivo in corso. Nella stessa giornata, dunque, è stato prescritto al paziente un farmaco anticonvulsivante e sedativo a breve durata, associato ad un anestetico per indurre sedazione profonda continua. Simultaneamente, l'EEG analizzato attraverso il software registra un andamento fortemente disorganizzato, con CLB ricorrenti a cadenza molto elevata (4 CLB/minuto).

L'evoluzione clinica è caratterizzata da un rapido miglioramento notato già dal giorno successivo, in cui permane soltanto ipertermia, mentre non vengono riportate manifestazioni convulsive, verosimilmente grazie ai farmaci somministrati; anche i marcatori infiammatori ematici mostrano, nel corso della seconda visita, un trend decrescente (PCR 67,5 mg/L). In questa fase, infatti, l'EEG documenta una sostanziale riduzione del numero di onde rilevate, seppur con una frequenza di comparsa dei CLB altamente irregolare e non strutturata.

Nel corso delle visite successive (a 72 ore e a una settimana dall'esordio), non vengono riportati ulteriori sintomi clinici nel fascicolo, mentre l'analisi EEG, nonostante un apparente miglioramento, continua a documentare un alto numero di complessi identificati dal software, che si ripetono con una frequenza piuttosto elevata, indicativa di un'alterazione dell'attività cerebrale persistente. Infine, durante l'ultima visita registrata, sono emersi dagli esami di neuroimaging alcuni noduli di eterotopia corticale tra i corni frontali, ossia un disturbo della migrazione neuronale caratterizzato da noduli di sostanza grigia localizzati in sede periventricolare e di cui l'epilessia rappresenta il sintomo principale [18].

Poiché non è documentata la guarigione del paziente, la scoperta dell'eterotopia

nodulare periventricolare (PNH) offre una possibile spiegazione della persistenza del tracciato disorganizzato: i CLB rilevati nelle ultime visite possono, infatti, essere interpretati come espressione di un'attività cerebrale anomala non solo correlata al processo infiammatorio derivante dall'encefalite, ma anche favorita dalla maggiore vulnerabilità strutturale legata alla PNH.

La distribuzione temporale e spaziale dei CLB e l'andamento dei ritmi EEG nel corso delle visite sono riportati nelle figure 3.15 e 3.19.

Volendo analizzare nel dettaglio i risultati quantitativamente, nei primi due casi studio si osserva un parallelismo piuttosto netto tra i parametri ottenuti dall'analisi (riportati nelle tabelle 3.2 e 3.3) e il quadro clinico alla visita.

Nel primo paziente, durante le visite iniziali, la persistenza di sintomi importanti (febbre, alterazione dello stato di coscienza, crisi convulsive) coincide con un'alta frequenza di CLB e valori di RMS elevati; solo quando la sintomatologia si attenua nell'ultima visita, i CLB diventano più rari e distanziati e l'RMS si riduce in maniera marcata.

Nel secondo paziente, la fase acuta con febbre, tachicardia e crisi convulsive è accompagnata da un'elevata densità di CLB e da RMS alti nelle prime due registrazioni, mentre con la normalizzazione del segnale elettroencefalografico, alla terza visita il tracciato mostra quasi completa scomparsa dei complessi e un RMS vicino ai valori di fondo.

Nel complesso, questi andamenti confermano ancora una volta una chiara relazione monotona tra frequenza di comparsa dei CLB e valori di RMS grandezze e, in particolare, la loro riduzione simultanea segue perfettamente il miglioramento clinico, suggerendo che questi indici elettrofisiologici riflettano in modo sensibile lo stato di gravità e l'evoluzione dei sintomi encefalitici nel singolo paziente.

Per quanto riguarda il terzo e il quarto caso studio (tabella 3.4 e 3.5), invece, non sono disponibili informazioni relative alle eventuali guarigioni dei pazienti e al decorso clinico successivo alle ultime visite documentate. Nonostante questa limitazione, i due casi rimangono di valore per la validazione del software, poiché l'analisi EEG fornisce i dati necessari per caratterizzare la dinamica dell'attività cerebrale patologica, indipendentemente dall'outcome clinico finale. In generale, anche in questi due casi si osserva che alle visite in cui il numero di CLB identificati è più elevato corrispondono valori più alti di RMS cumulativo, suggerendo una relazione diretta tra quantità di eventi patologici e ampiezza complessiva dell'attività elettrica anomala registrata.

Tabella 3.2: *Caratteristiche tracciato Caso Studio 1*

Visita	Durata registrazione (min)	Numero CLB identificati	Intervallo medio tra due CLB consecutivi (sec)	Median IPI (sec)	RMS cumulativo (μV)
VISITA 1	36.60	129	17.02	6.26	2.07
VISITA 2	34.20	116	17.69	9.68	1.37
VISITA 3	36.00	186	11.61	6.59	1.74
VISITA 4	36.00	42	51.43	28.85	0.22

Tabella 3.3: *Caratteristiche tracciato Caso Studio 2*

Visita	Durata registrazione (min)	Numero CLB identificati	Intervallo medio tra due CLB consecutivi (sec)	Median IPI (sec)	RMS cumulativo (μV)
VISITA 1	23.45	140	10.05	5.89	3.79
VISITA 2	15.00	180	5.00	2.43	5.30
VISITA 3	18.00	6	180.00	105.9	0.13

Tabella 3.4: *Caratteristiche tracciato Caso Studio 3*

Visita	Durata registrazione (min)	Numero CLB identificati	Intervallo medio tra due CLB consecutivi (sec)	Median IPI (sec)	RMS cumulativo (μV)
VISITA 1	35.45	213	9.99	5.81	3.59
VISITA 2	26.20	40	39.39	20.11	0.54
VISITA 3	31.00	170	10.94	5.94	2.01

Tabella 3.5: *Caratteristiche tracciato Caso Studio 4*

Visita	Durata registrazione (min)	Numero CLB identificati	Intervallo medio tra due CLB consecutivi (sec)	Median IPI (sec)	RMS cumulativo (μV)
VISITA 1	28.33	114	14.91	7.76	1.89
VISITA 2	30.02	41	43.93	17.87	0.84
VISITA 3	37.38	220	10.15	3.94	1.98
VISITA 4	25.00	154	9.74	4.28	1.60

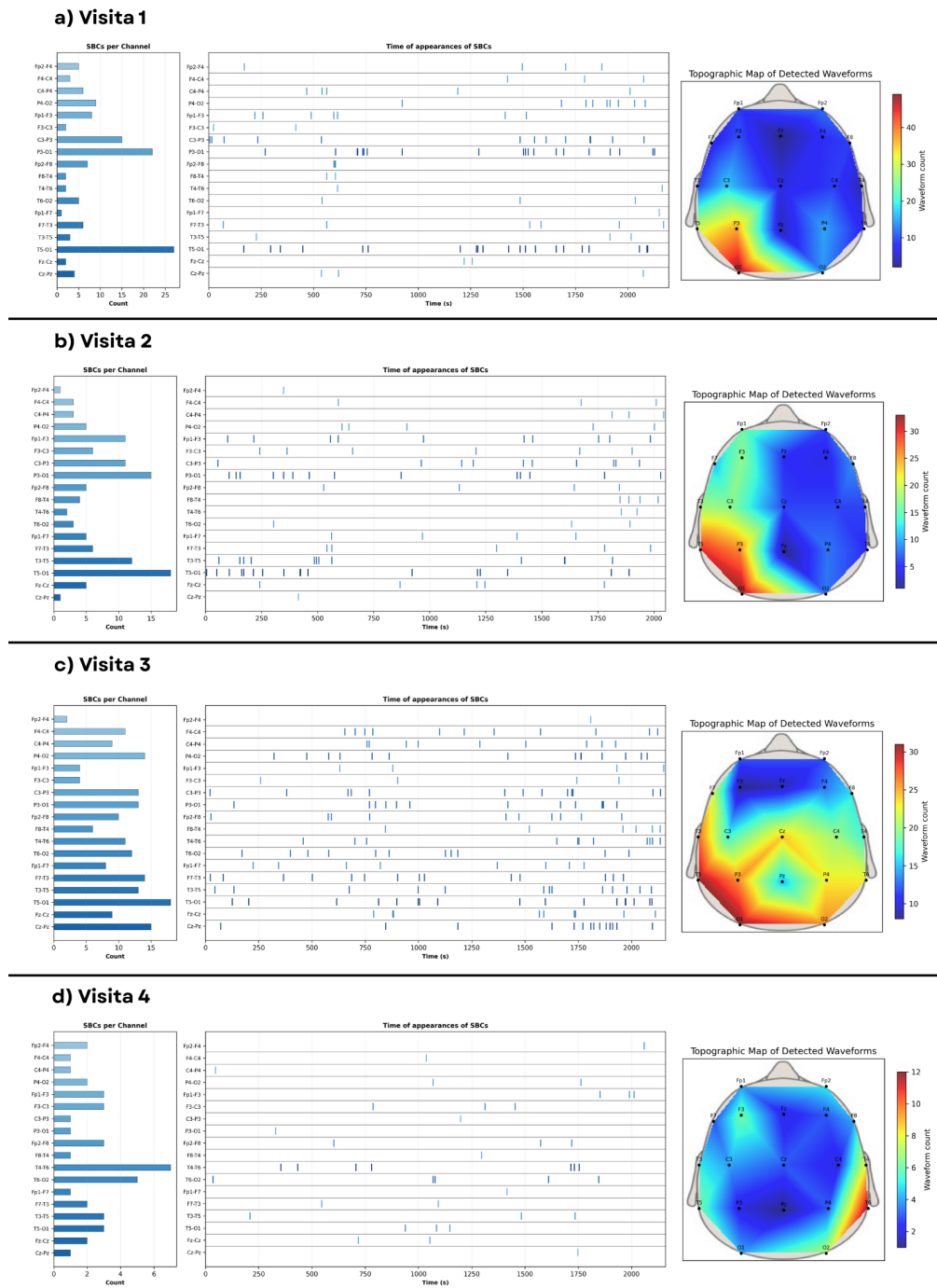
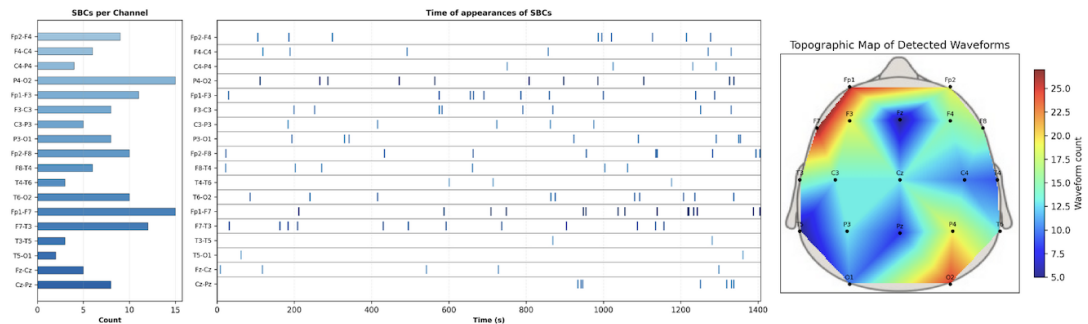
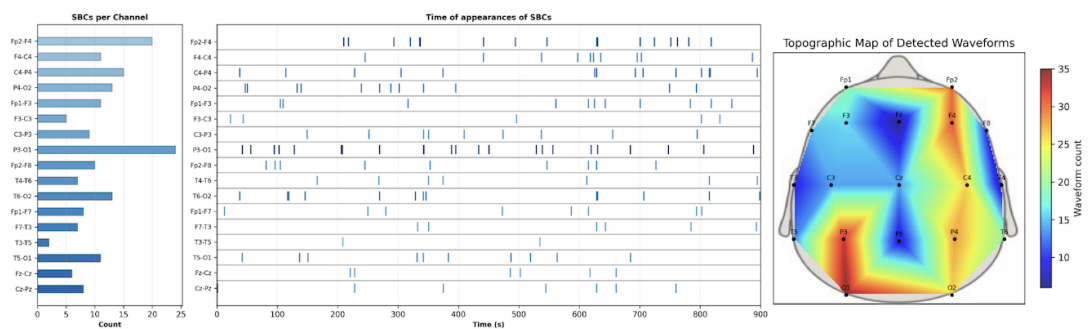


Figura 3.12: Confronto delle quattro registrazioni EEG relative al **Caso Studio 1**: distribuzione dei CLB per canale, andamento temporale e mappa topografica della loro distribuzione spaziale.

a) Visita 1



b) Visita 2



c) Visita 3

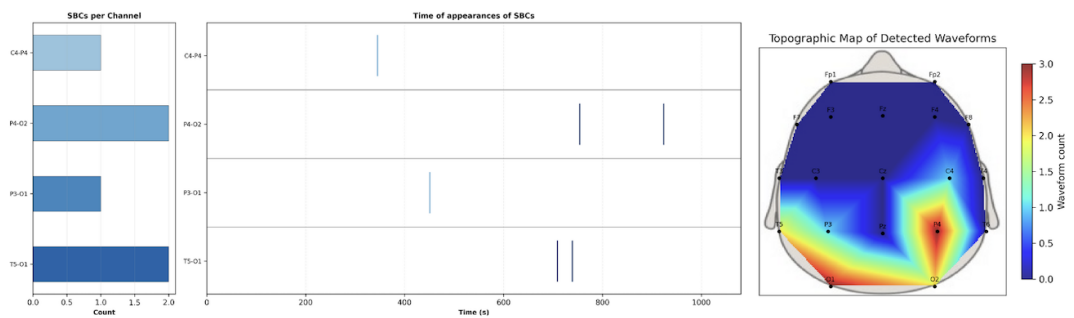


Figura 3.13: Confronto delle tre registrazioni EEG relative al *Caso Studio 2*: distribuzione dei CLB per canale, andamento temporale e mappa topografica della loro distribuzione spaziale.

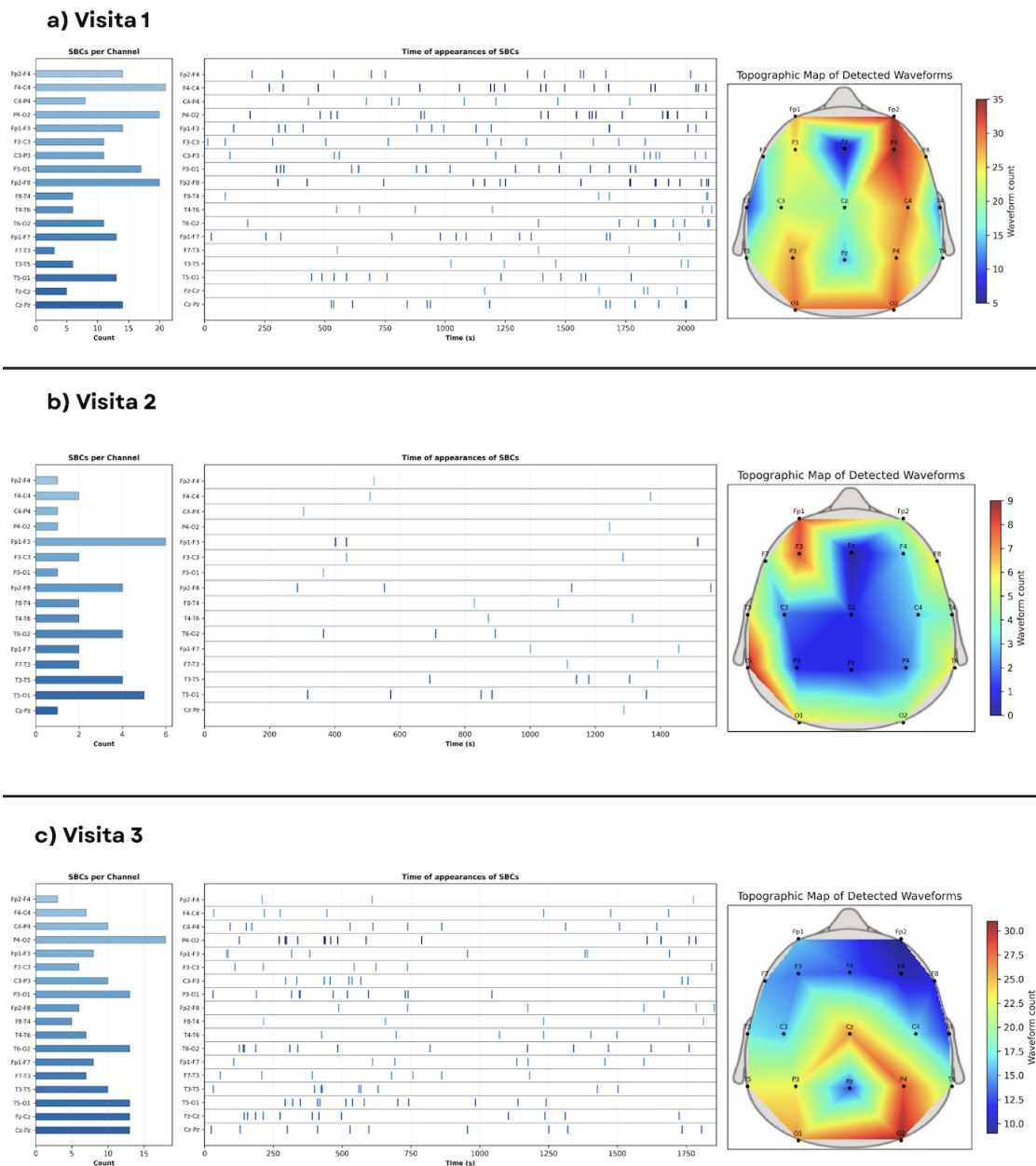


Figura 3.14: Confronto delle tre registrazioni EEG relative al **Caso Studio 3:** distribuzione dei CLB per canale, andamento temporale e mappa topografica della loro distribuzione spaziale.

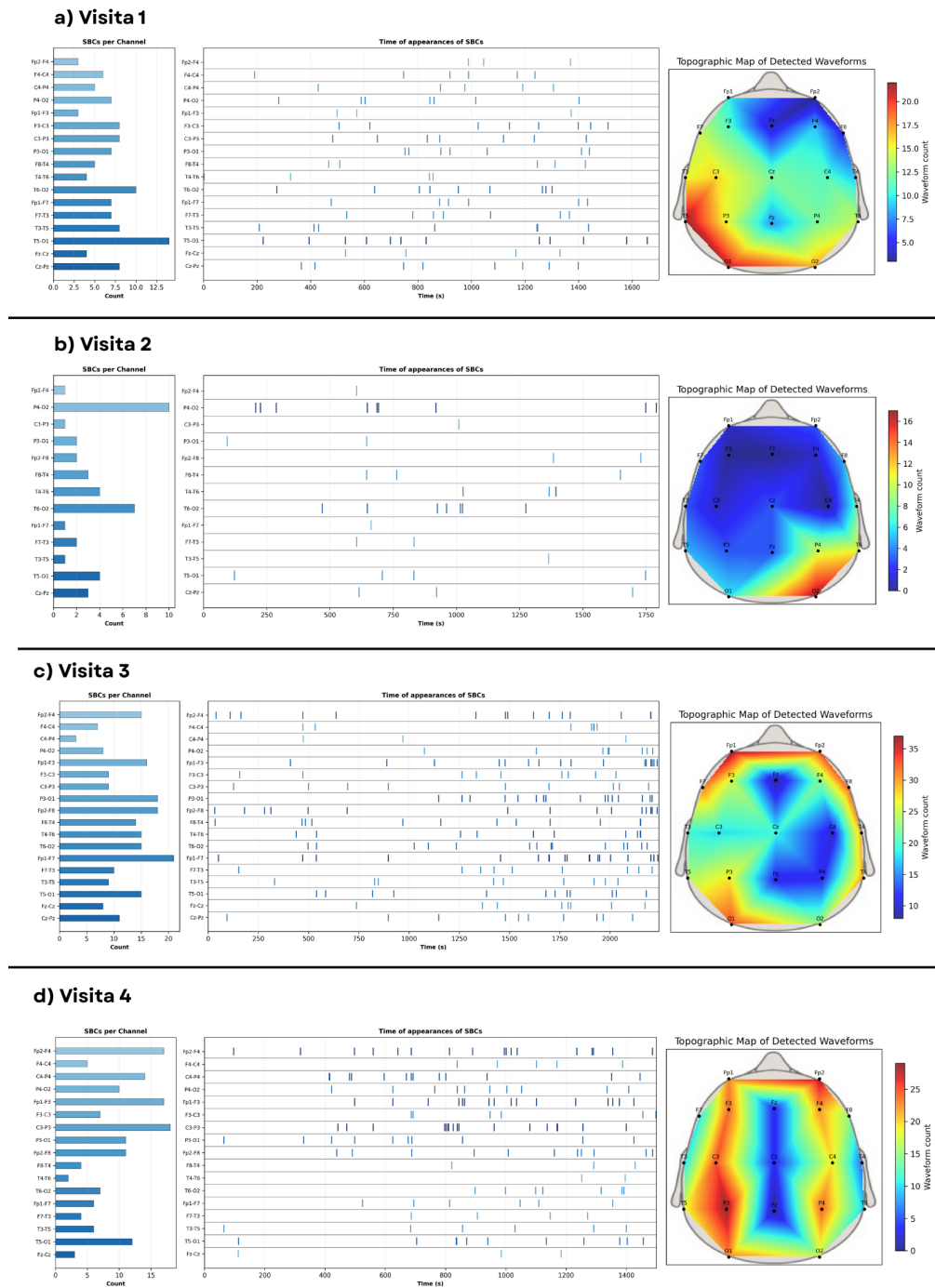


Figura 3.15: Confronto delle quattro registrazioni EEG relative al **Caso Studio 4**: distribuzione dei CLB per canale, andamento temporale e mappa topografica della loro distribuzione spaziale.

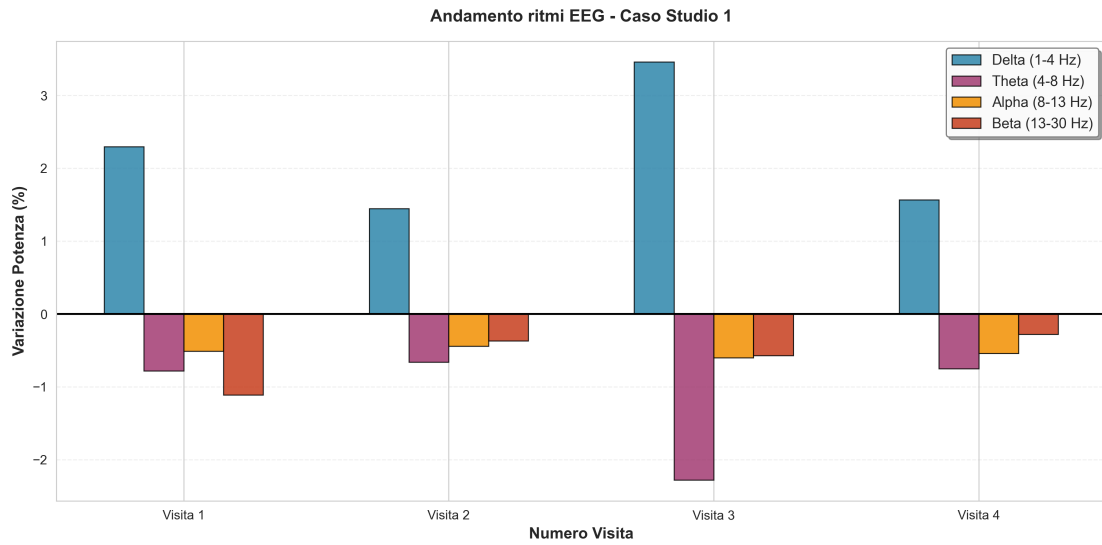


Figura 3.16: *Variazioni di potenza EEG nelle bande Delta, Theta, Alpha e Beta nei 2 secondi precedenti i CLB durante le visite di follow-up del **Caso Studio 1**. L'asse Y rappresenta la variazione percentuale rispetto alla potenza complessiva.*

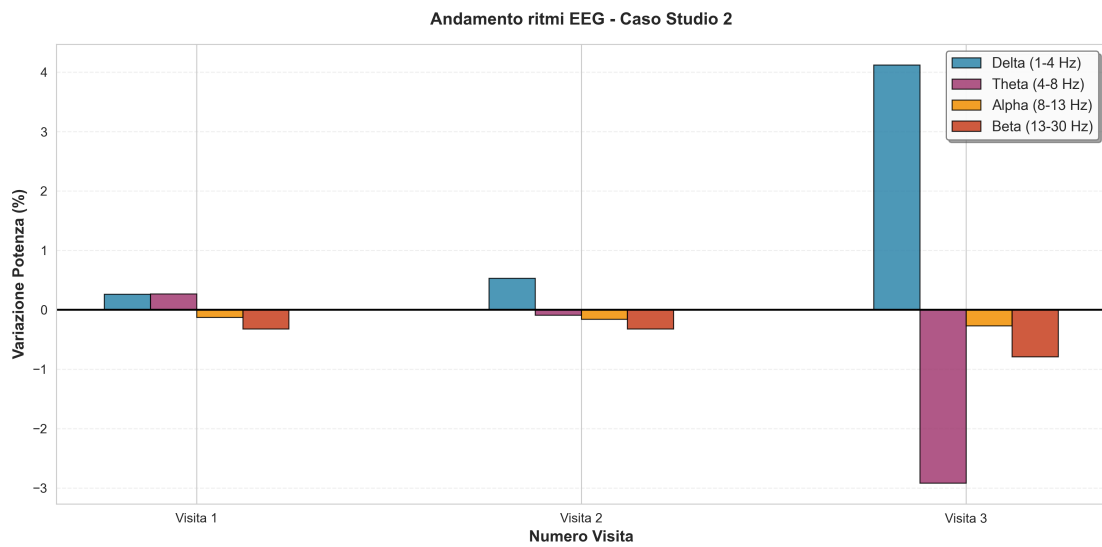


Figura 3.17: *Variazioni di potenza EEG nelle bande Delta, Theta, Alpha e Beta nei 2 secondi precedenti i CLB durante le visite di follow-up del **Caso Studio 2**. In questo caso, il ritmo Theta dimostra di avere un comportamento variabile durante la Visita 1 rispetto a quello atteso, come dimostrato in figura 3.4.*

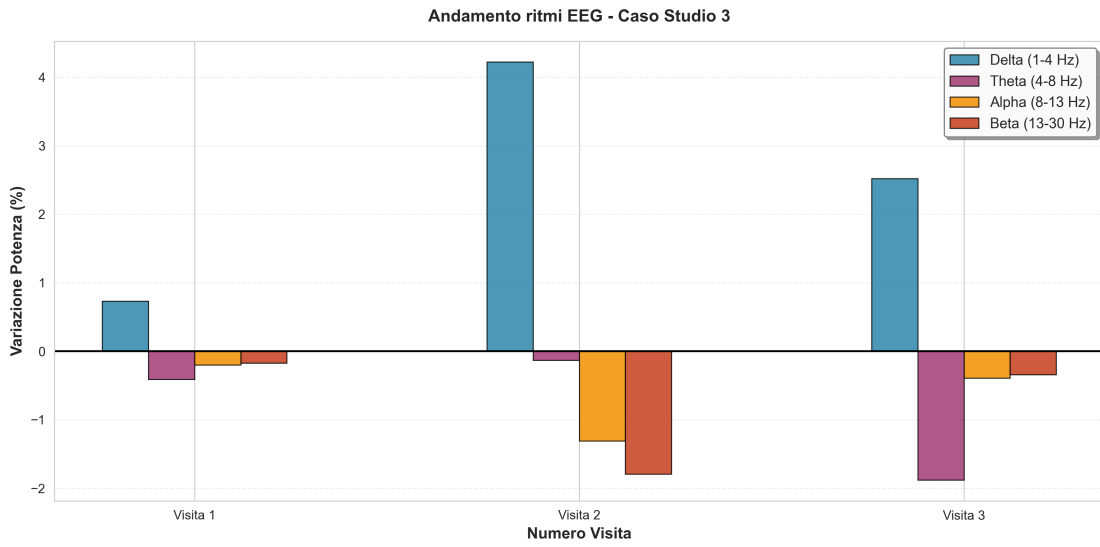


Figura 3.18: Variazioni di potenza EEG nelle bande Delta, Theta, Alpha e Beta nei 2 secondi precedenti i CLB durante le visite di follow-up del **Caso Studio 3**.

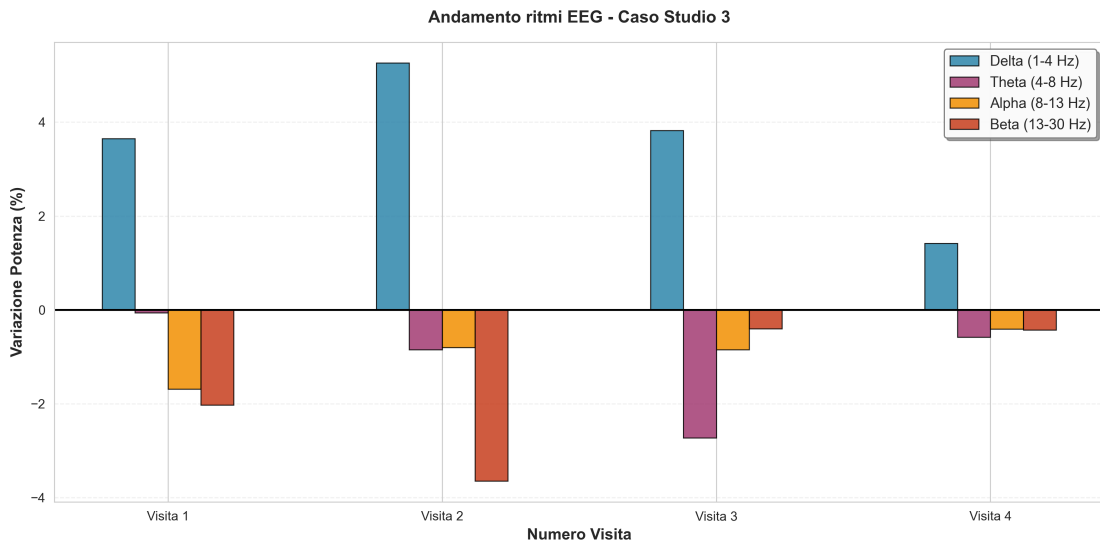


Figura 3.19: Variazioni di potenza EEG nelle bande Delta, Theta, Alpha e Beta nei 2 secondi precedenti i CLB durante le visite di follow-up del **Caso Studio 4**.

Capitolo 4

Discussione

La scelta di automatizzare la diagnosi dell'encefalite utilizzando come strumento di rilevazione l'elettroencefalogramma risponde ad un'esigenza clinica fondamentale, ossia la necessità di avere un metodo di supporto diagnostico che sia affidabile, accessibile, sicuro ed economico. A differenza della puntura lombare per l'analisi del liquido cerebrospinale, procedura lunga ed invasiva che comporta anche dei rischi, l'EEG non presenta controindicazioni e può essere ripetuto anche quotidianamente. Ciò consente di effettuare un monitoraggio dinamico dello stato neuroinfiammatorio, che non sarebbe praticabile con metodiche invasive o costose. Al contrario, la risonanza magnetica, gold standard per l'imaging cerebrale, richiede tempi di acquisizione significativamente più lunghi (30-60 minuti) e stabilità clinica del paziente. L'acquisizione di un tracciato EEG, invece, richiede tipicamente 10-20 minuti, con la possibilità di ottenere informazioni preliminari anche nei primi 4-5 minuti quando la patologia è severa e quando, nel caso specifico dell'encefalite, sono presenti numerosi complessi lenti bifasici. Ancor di più, un'analisi automatizzata ridurrebbe ulteriormente i tempi di diagnosi, fornendo report quantitativi in tempo quasi-reale. Questa tempestività è fondamentale quando le decisioni terapeutiche, spesso in condizioni di incertezza diagnostica, devono essere assunte rapidamente. Dunque, un aspetto clinicamente rilevante è il potenziale del software di ridurre il ricorso a procedure invasive quando l'informazione fornita dall'EEG è discriminante. Ad esempio, di fronte ad un paziente che presenta sintomatologia compatibile con encefalite e un segnale EEG che mostra numerosi pattern tipici della patologia, il clinico potrebbe avere maggiore consapevolezza nell'iniziare una specifica terapia senza attendere i risultati della puntura lombare o degli esami di neuroimaging. In questo contesto, il presente studio rappresenta un primo passo verso una visione clinica innovativa, e l'obiettivo è stato dimostrare come il segnale EEG, opportunamente analizzato attraverso metodi di riconoscimento automatizzato di pattern specifici, rifletta fedelmente la condizione patologica del paziente e come l'analisi quantitativa possa guidare verso decisioni cliniche adeguate grazie alla replicabilità

dei risultati.

Innanzitutto, è stata dimostrata una relazione monotona e statisticamente significativa tra la frequenza di comparsa dei complessi e l'ampiezza RMS cumulativa nel corso del follow-up clinico. Sebbene la relazione presenti una variabilità inter-paziente a causa dell'eterogeneità biologica intrinseca della patologia, tutti i pazienti hanno mostrato una correlazione negativa tra intervallo inter-pulse e ampiezza, suggerendo che quando i complessi si manifestano con maggiore frequenza, tendono ad aumentare in ampiezza. Questa associazione supporta l'ipotesi secondo cui l'intensità e la frequenza dei CLB riflettano il livello di infiammazione cerebrale.

L'analisi dell'attività ritmica EEG ha confermato che il rallentamento dell'attività cerebrale caratteristico dell'encefalite si accentua ulteriormente nei secondi immediatamente precedenti l'insorgenza di un complesso. In particolare, è stato osservato un incremento statisticamente significativo della potenza nella banda delta e una contemporanea soppressione dei ritmi più veloci (theta, alfa, beta) nelle finestre temporali pre-evento rispetto all'intero tracciato. Queste variazioni spettrali sono risultati coerenti nella quasi totalità dei tracciati analizzati e suggeriscono una sincronizzazione neuronale che precede l'emergenza dell'evento. Il ritmo beta si è dimostrato il marker più robusto, presente in oltre il 90% delle registrazioni, mentre i ritmi alfa e theta mostrano soppressione coerente con maggiore variabilità inter-individuale.

L'analisi topografica ha messo in evidenza una distribuzione spaziale non casuale dei CLB, con marcata predominanza nelle regioni frontali, e particolarmente accentuata nei pazienti con gravità clinica severa.

Anche gli intervalli tra onde consecutive sono stati oggetto di analisi e dallo studio è emerso un'attività caratterizzata da irregolarità e sporadicità in tutti i tracciati analizzati dei soggetti in fase di encefalite acuta. Questa cadenza irregolare distingue i CLB da altre attività ritmiche patologiche periodiche, supportando il modello fisiopatologico di attività neuronale sincronizzata anomala.

Applicando l'algoritmo di clustering, inoltre, è stato dimostrato che il prototipo di complesso lento bifasico è una forma d'onda morfologicamente stabile e identificabile con coerenza nel tracciato, sebbene con variabilità in termini di ampiezza, durata e distribuzione topografica. Anche in questo caso, è emersa una predominanza di cluster originati da derivazioni frontali e fronto-centrali, riflettendo aree cerebrali specifiche con attività neuroinfiammatoria predominante.

Il confronto tra il soggetto patologico e il soggetto di controllo ha evidenziato

come il numero di CLB rilevati aumenti progressivamente con la gravità del quadro clinico, mentre nel soggetto sano le rilevazioni risultano quasi assenti. Questo risultato supporta ulteriormente la validità del software, che si dimostra sensibile alle alterazioni patologiche e tendente a rilevare un numero contenuto di falsi positivi in condizioni non patologiche.

Inoltre, dal confronto è emersa una differenza statisticamente significativa tra i due gruppi rispetto al numero di CLB al minuto e al valore di RMS, suggerendo che la diversa ricorrenza dei complessi lenti bifasici in essi osservata rifletta una reale differenza neurofisiologica tra EEG patologici e normali.

Un elemento importante per confermare la rilevanza clinica di questi risultati è stato ottenuto dal follow-up longitudinale dei pazienti dell'Ospedale Regina Margherita, dai cui tracciati è emersa una relazione temporale stretta tra l'evoluzione clinica della patologia e i parametri estratti dal software.

Durante le fasi acute in cui il paziente presentava sintomi come febbre, alterazione della coscienza e crisi, i tracciati mostravano elevata frequenza di CLB, ritmi marcatamente rallentati e ampiezze elevate delle onde; nella fase di guarigione post trattamento terapeutico, invece, i CLB scomparivano progressivamente, l'attività EEG si normalizzava, e l'RMS cumulativo diminuiva marcatamente.

Ciò conferma ulteriormente che i parametri estratti riflettono lo stato istantaneo di gravità della patologia e sono dei potenziali indicatori elettrofisiologici della patologia. In alcuni casi, inoltre, i CLB sono emersi come marker di un'alterazione generale dell'andamento del tracciato, la cui presenza potrebbe essere indicativa di un funzionamento anomalo anche al di fuori del contesto specifico dell'encefalite.

Sebbene siano stati ottenuti risultati importanti, ci sono delle limitazioni che devono essere riconosciute e considerate nella corretta interpretazione dei risultati. Il primo aspetto riguarda la variabilità clinica intrinseca della popolazione: l'encefalite pediatrica è una patologia eterogenea sia dal punto di vista eziologico (infettiva, autoimmune, post-infettiva) sia dal punto di vista delle manifestazioni cliniche e neuroinfiammatorie. Il campione studiato presenta una variabilità considerevole nella severità clinica, nell'età dei pazienti (range 2-14 anni) e nella fase evolutiva della malattia al momento della registrazione EEG. Questa eterogeneità comporta variabilità nei pattern EEG osservati e nella relazione tra parametri EEG quantitativi e gravità clinica.

E' importante ricordare, inoltre, che la qualità del segnale EEG è influenzata da artefatti di varia origine (muscolare, oculare, cardiaco) e l'impossibilità di rimuoverli completamente costituisce una fonte di bias nell'identificazione automatica dei CLB, potendo generare falsi positivi (artefatti identificati come CLB) o falsi negativi (CLB mascherati da artefatti), nonostante nell'algoritmo siano state implementate soglie di controllo.

Un ulteriore limite che ha riguardato questo studio è stato sicuramente una dimensione campionaria circoscritta, motivo per il quale la ricerca ha mantenuto un carattere esplorativo, con l'obiettivo di raccogliere evidenze sull'utilità clinica del software e di identificare i parametri EEG più discriminanti. Questa limitazione implica che i risultati, sebbene promettenti, non consentono di arrivare a conclusioni definitive sull'efficacia diagnostica sull'intera popolazione, ma rimangono comunque validi nella coorte studiata. A ciò si lega la necessità di un'interpretazione soggettiva dell'output del software, che rimane responsabilità del medico. Infatti, in assenza di soglie predefinite e validate, il software fornisce informazioni che supportano la decisione clinica, ma che, al momento, non è in grado di sostituire completamente la valutazione basata su dati laboratoristici, neuroimaging e storia clinica evolutiva.

Capitolo 5

Conclusioni

L'encefalite è una condizione neuroinfiammatoria severa, caratterizzata da alterazioni dell'attività elettrica cerebrale [1] e, nonostante sia una patologia rara, continua a rappresentare una causa rilevante di mortalità e morbilità neurologica a livello globale. L'incidenza annuale è stimata intorno a 5–8 casi ogni 100.000 abitanti, con una maggiore prevalenza in età pediatrica, in particolare nel primo anno di vita, e con un'eziologia prevalentemente infettiva. Tuttavia, sebbene l'encefalite infettiva costituisca la forma più comune, l'encefalite autoimmune mediata da autoanticorpi anti-NMDAR è più frequente nei bambini rispetto a qualsiasi altra forma [19].

Nei pazienti pediatrici, l'encefalite si presenta con disturbi neuropsichiatrici combinati (epilessia, alterazioni cognitive, comportamentali e motorie), piuttosto che con sindromi focali ben definite, conseguenza dello sviluppo incompleto delle reti neuronali e dei processi di mielinizzazione ancora in corso [10]. Ne deriva un quadro clinico eterogeneo, di fronte al quale si applica un approccio multidisciplinare e una combinazione di dati clinici, biochimici e strumentali per una diagnosi precoce, in modo da limitare conseguenze neurologiche permanenti.

Nell'ambito delle indagini diagnostiche, l'elettroencefalografia ha un ruolo predominante grazie alla sua non invasività, rapidità di esecuzione ed economicità, fornendo informazioni in tempo reale sull'attività cerebrale. Tra i pattern patologici osservati nei pazienti affetti da encefalite, i complessi lenti bifasici emergono come marker elettrofisiologici significativi: si tratta di onde lente bifasiche con durata approssimativa di 500 millisecondi, ampiezza compresa tra 50-200 μV e distribuzione spaziale prevalentemente nelle regioni frontali dello scalpo [5][11][13][12].

Il presente lavoro di tesi, dunque, ha validato l'applicabilità clinica di un software in grado di riconoscere automaticamente tali pattern e di caratterizzarli quantitativamente, consentendo di effettuare una valutazione quasi oggettiva della severità patologica grazie ai risultati ottenuti riproducibili.

Lo studio, infatti, ha confermato i CLB come marcatori che possono essere efficacemente integrati nella valutazione diagnostica tradizionale dell'encefalite del clinico;

inoltre, l'utilizzo ospedaliero del software ha documentato una convergenza tra i parametri EEG rilevati automaticamente e l'evoluzione del quadro clinico durante le diverse fasi della patologia, e ciò suggerisce che tale approccio possa condurre verso una gestione terapeutica più tempestiva e personalizzata.

Le evidenze raccolte, però, hanno rivelato alcune criticità metodologiche che richiederebbero approfondimenti e, dunque, per consolidare il valore clinico del software e trasformarlo da strumento esplorativo a risorsa diagnostica affidabile e applicabile in pratica clinica, sarebbe opportuno condurre ulteriori approfondimenti reclutando un numero maggiore di pazienti.

Innanzitutto, potrebbe essere migliorata la robustezza del software rispetto alle variabilità del segnale testando l'effetto della presenza di rumore e artefatti sulle performance dell'algoritmo di rilevazione. Questo permetterebbe di identificare in quali condizioni il software è altamente affidabile e in quali, invece, i risultati sono influenzati da fattori esterni.

Di conseguenza, una seconda possibilità sarebbe definire la specificità diagnostica del software: in questo studio è stata dimostrata la capacità di identificare i CLB in pazienti con encefalite, ma non è stato quantificato il tasso di falsi positivi, ossia quanto frequentemente l'algoritmo identifica complessi "simili ai CLB" in pazienti con condizioni neurologiche alternative. Applicare il software a tracciati EEG di pazienti con diagnosi diverse (epilessia, disturbi del sonno) permetterebbe di caratterizzare in maniera più specifica il profilo di tali pattern nell'encefalite rispetto ad altre patologie, evidenziando differenze quantitative nei parametri estratti e migliorando, di conseguenza, la sensibilità del software nell'identificazione.

Parallelamente, un valore aggiunto sarebbe quantificare attraverso uno studio comparativo il vantaggio di un'analisi automatizzata rispetto all'interpretazione clinica tradizionale. Far analizzare gli stessi tracciati EEG sia a neurologi esperti, con il classico approccio di lettura visiva, sia al software, permetterebbe di confrontare direttamente il tempo impiegato per produrre un'interpretazione diagnostica, la riproducibilità dei risultati tra operatori diversi e la capacità di riflettere la reale gravità clinica della patologia.

Nel loro insieme, questi ulteriori studi fornirebbero evidenze concrete sull'affidabilità, robustezza e specificità del software, creando una base scientifica necessaria per il suo inserimento nei protocolli diagnostici ospedalieri.

Bibliografia

- [1] Ellul Mark e Solomon Tom. «Acute encephalitis – diagnosis and management». In: *Clinical Medicine* 18 (2018), pp. 155–159. DOI: 10.7861/clinmedicine.18-2-155.
- [2] Satinder Aneja e Suvasini Sharma. «Diagnosis and Management of Acute Encephalitis in Children». In: *Indian J Pediatr.* 18 (Jan 2019), pp. 70–75. DOI: 10.1007/s12098-018-2775-0.
- [3] Kumar R. «Understanding and managing acute encephalitis». In: (2020). DOI: 10.12688/f1000research.20634.1.
- [4] Tania Cellucci et al. «Clinical approach to the diagnosis of autoimmune encephalitis in the pediatric patient». In: *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 7.2 (mar. 2020), e663. DOI: 10.1212/NXI.0000000000000663.
- [5] Luca Mesin, Massimo Valerio e Gorgio Capizzi. «Automated diagnosis of encephalitis in pediatric patients using EEG rhythms and slow biphasic complexes». In: *Phys Eng Sci Med* 43.3 (set. 2020), pp. 997–1006. DOI: 10.1007/s13246-020-00893-0.
- [6] Katarzyna Blinowska e Piotr Durka. «Electroencephalography (eeg)». In: *Wiley encyclopedia of biomedical engineering* 10 (2006).
- [7] L. Mesin. *Neuromuscular System Engineering*. ilmiolibro self publishing, 2019.
- [8] Alice F. Jackson e Donald J. Bolger. «The neurophysiological bases of EEG and EEG measurement: A review for the rest of us». In: *Psychophysiology* 51.11 (2014), pp. 1061–1071. DOI: <https://doi.org/10.1111/psyp.12283>.
- [9] Jose Urigüen e Begoña Zapirain. «EEG artifact removal—state-of-the-art and guidelines». In: *Journal of Neural Engineering* 12 (apr. 2015), p. 031001. DOI: 10.1088/1741-2560/12/3/031001.
- [10] Catarina Paulino, Angelica Flores e Carlos Gomez. «Developmental Changes in the EEG Rhythms of Children and Young Adults». In: *Journal of Psychophysiology* 25 (gen. 2011), pp. 143–158. DOI: 10.1027/0269-8803/a000052.

-
- [11] Luca Mesin, Massimo Valerio, Annette Beaumanoir e Giorgio Capizzi. «Automatic identification of slow biphasic complexes in EEG: an effective tool to detect encephalitis». In: *Biomedical Physics & Engineering Express* 5.4 (mag. 2019), p. 045006. DOI: 10.1088/2057-1976/ab2086.
- [12] Giovanni Chiarion e Luca Mesin. «Functional Connectivity of EEG in Encephalitis during Slow Biphasic Complexes». In: *Electronics* 10.23 (2021). ISSN: 2079-9292. DOI: 10.3390/electronics10232978. URL: <https://www.mdpi.com/2079-9292/10/23/2978>.
- [13] Massimo Valerio, Stefano Rivera e Luca Mesin. «The relation between lesions and localization of sources of slow biphasic complexes in encephalitis». In: *Neuroimmunology and Neuroinflammation* 8.1 (2021). ISSN: 2349-6142. URL: <https://www.oaepublish.com/articles/2347-8659.2020.30>.
- [14] «Statistica non parametrica». In: *Biostatistica in Radiologia: Progettare, realizzare e scrivere un lavoro scientifico radiologico*. Milano: Springer Milan, 2008, pp. 83–99. ISBN: 978-88-470-0605-8. DOI: 10.1007/978-88-470-0605-8_6. URL: https://doi.org/10.1007/978-88-470-0605-8_6.
- [15] Elliot McClenaghan. *Spearman Rank Correlation*. Technology Networks, Applied Sciences. Last updated May 8, 2024. 2024. URL: <https://www.technologynetworks.com/applied-sciences/articles/spearman-rank-correlation-385744>.
- [16] Thomas W. MacFarland e Jan M. Yates. «Mann–Whitney U Test». In: *Introduction to Nonparametric Statistics for the Biological Sciences Using R*. Cham: Springer International Publishing, 2016, pp. 103–132. DOI: 10.1007/978-3-319-30634-6_4. URL: https://doi.org/10.1007/978-3-319-30634-6_4.
- [17] Luisa Galli e Manuela L’Erario. «Meningoencefaliti». In: *Rianimazione in età pediatrica*. Milano: Springer Milan, 2012, pp. 397–409. ISBN: 978-88-470-2059-7. DOI: 10.1007/978-88-470-2059-7_37. URL: https://doi.org/10.1007/978-88-470-2059-7_37.
- [18] Giorgio Battaglia, Tiziana Granata, Laura Farina, Ludovico D’Incerti, Silvana Franceschetti e Giuliano Avanzini. «Periventricular Nodular Heterotopia: Epileptogenic Findings». In: *Epilepsia* 38.11 (1997), pp. 1173–1182. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1997.tb01213.x>.
- [19] Enrica Masocco. «Encefalite in età pediatrica: una sfida diagnostica. Studio retrospettivo monocentrico». Tesi di laurea. Padova: Università degli Studi di Padova, Scuola di Medicina e Chirurgia, 2023.