

POLITECNICO DI TORINO

Corso di Laurea Ingegneria Biomedica



Tesi Magistrale

Validazione clinica di un software per l'identificazione
automatica dei complessi lenti bifasici nell'EEG di pazienti
con encefalite

Supervisore

Luca MESIN

Candidato

Pietro REGIS

Luglio 2026

Table of Contents

1	Introduzione	1
1.1	Definizione e inquadramento dell'encefalite	1
1.1.1	Eziologia e diagnosi dell'encefalite	2
1.2	EEG	3
1.2.1	Fondamenti fisiologici del segnale EEG	3
1.2.2	Tecniche di acquisizione del segnale EEG	4
1.2.3	Amplificazione e filtraggio del segnale EEG	6
1.2.4	Digitalizzazione del segnale EEG	7
1.2.5	Artefatti nei segnali EEG	8
1.2.6	Ruolo dell'EEG nella diagnosi dell'encefalite	10
1.3	Complessi Lenti Bifasici	11
2	Materiali e Metodi	14
2.1	Dati e acquisizione del segnale EEG	14
2.2	Interfaccia Utente	16
2.3	Algoritmo per la rilevazione automatica dei CLB	18
2.4	Estrazione dei parametri quantitativi e plot	20
2.4.1	Parametri temporali	20
2.4.2	Parametri morfologici	21
2.4.3	Parametri spaziali	23
2.4.4	Parametri spettrali	25
2.4.5	Visualizzazione del tracciato EEG e sovrapposizione dei CLB	27
2.4.6	Modalità di Salvataggio dei Dati	28
3	Risultati	30
3.1	Analisi della distribuzione spaziale dei CLB	30
3.2	Analisi correlazione tra frequenza di comparsa e RMS	33
3.3	Dinamica delle bande EEG	36
3.4	Relazione tra frequenza di comparsa dei CLB e gravità clinica dell'encefalite	41
3.5	Confronto controlli vs patologici	42
3.6	Validazione clinica	44
3.6.1	Caso studio 1	45
3.6.2	Caso studio 2	45
3.6.3	Caso studio 3	46

3.6.4	Caso studio 4	47
3.6.5	Lettura trasversale dei quattro percorsi	48
4	Conclusioni	56
	Bibliography	61
	Dedications	63

List of Figures

1.1	Sistema internazionale 10–20 per il posizionamento degli elettrodi EEG.	5
1.2	Confronto tra segnale EEG prima e dopo il filtraggio.	7
1.3	Esempio morfologico di complesso lento bifasico.	12
1.4	Confronto tra SBC in soggetti sani e patologici	13
2.1	Montaggi EEG bipolari	15
2.2	Interfaccia utente per l’inserimento dei dati clinici.	17
2.3	Visualizzazione dei cluster di SBC identificati	23
2.4	Distribuzione spaziale e temporale dei CLB	24
2.5	Mappa topografica della distribuzione dei CLB	25
2.6	Esempio di plot EEG: tracciato EEG (blu) e complessi lenti bifasici sovrapposti (rossi).	27
2.7	Esempio di report clinico strutturato in formato HTML relativo ad un paziente.	29
3.1	Analisi spaziale dei CLB	33
3.2	Correlazione tra intervallo dei CLB e ampiezza RMS	35
3.3	Variazione della banda delta pre-CLB	37
3.4	Variazione della banda theta pre-CLB	38
3.5	Variazione della banda alpha pre-CLB	39
3.6	Variazione della banda beta pre-CLB	40
3.7	Confronto aggregato delle bande EEG pre-CLB	40
3.8	Correlazione tra gravità clinica e frequenza dei CLB	42
3.9	Confronto dei parametri CLB tra patologici e controlli	44
3.10	Distribuzione dei CLB nel Caso Studio 1	50
3.11	Distribuzione dei CLB nel Caso Studio 2	51
3.12	Distribuzione dei CLB nel Caso Studio 3	52
3.13	Distribuzione dei CLB nel Caso Studio 4	53
3.14	Andamento delle bande EEG nel Caso Studio 1	54
3.15	Andamento delle bande EEG nel Caso Studio 2	54
3.16	Andamento delle bande EEG nel Caso Studio 3	55
3.17	Andamento delle bande EEG nel Caso Studio 4	55

List of Tables

3.1	Sintesi delle variazioni delle bande EEG pre-CLB	41
3.2	Parametri CLB nei soggetti patologici e di controllo	43
3.3	Parametri quantitativi del Caso Studio 1	45
3.4	Parametri quantitativi del Caso Studio 2	46
3.5	Parametri quantitativi del Caso Studio 3	47
3.6	Parametri quantitativi del Caso Studio 4	48

Chapter 1

Introduzione

1.1 Definizione e inquadramento dell'encefalite

L'encefalite è una patologia neurologica caratterizzata da un processo infiammatorio che coinvolge il parenchima cerebrale e che si manifesta attraverso disfunzioni neurologiche acute o subacute. Tale infiammazione può essere provocata da agenti infiammatori, patologie immunitarie o patologie di carattere sistemico. L'encefalite rappresenta una condizione complessa in cui la risposta infiammatoria del sistema nervoso centrale può portare ad alterazioni della funzionalità neuronale e, nei casi più gravi, danno strutturale del tessuto cerebrale. Questa patologia presenta la possibilità di un peggioramento piuttosto rapido dei sintomi neurologici e necessita di una diagnosi precoce per limitare il rischio di conseguenze permanenti o addirittura letali[1][5][8].

Tra la sintomatologia conseguente all'encefalite si presentano disturbi di tipo sistemico e neurologici che rappresentano tratti distintivi della patologia. In particolare, tra i segni più frequenti si osservano febbre, alterazioni dello stato di coscienza, disturbi cognitivi e crisi epilettiche. Inoltre, possono comparire deficit neurologici focali, disturbi del movimento o instabilità autonoma, con riscontri su diverse aree della zona celebrale[2][8].

I sintomi vengono accertati dalla presenza continuativa per oltre 24 ore e non riconducibili ad altre cause, associate ad almeno due elementi indicativi di infiammazione del sistema nervoso centrale. Tra di esse rientrano, nuovi segni neurologici focali, pleiocitosi del liquido cerebrospinale, alterazioni neuroradiologiche o anomalie dell'attività elettrica cerebrale rilevate tramite elettroencefalogramma (EEG)[5][6].

Gli agenti patogeni più comuni ai quali viene attribuita la causa di tali disturbi sono di origine infettiva, in particolare virale. Tuttavia, negli ultimi anni è stato riconosciuto un numero crescente di forme non infettive, tra cui le encefaliti autoimmuni, nelle quali il sistema immunitario produce autoanticorpi diretti contro proteine neuronali o sinaptiche[1][8].

La rivelazione di cause non infettive ha cambiato significativamente l'approccio diagnostico all'encefalite. Infatti, in passato la ricerca era focalizzata nella scoperta di cause infettive, mentre oggi è necessario considerare precocemente anche le

cause immuno-mediate, poiché l'avvio tempestivo di terapie immunomodulanti può migliorare significativamente la prognosi dei pazienti[1][6].

L'incidenza di tale disturbo è anche variabili a seconda delle condizioni geografiche, ambientali e demografiche della popolazione studiata. In particolare, il virus del Nilo occidentale è più comune in alcune zone di Africa, Europa e America, mentre in Asia, sono più frequenti encefaliti da virus come quello dell'encefalite giapponese. Per quanto riguarda i paesi ad alto reddito, invece, si osserva una quota relativamente maggiore di encefaliti autoimmuni. Il fattore climatico è un altro protagonista, infatti temperature più alte e stagioni umide favoriscono la proliferazione di insetti vettori. In fine l'età e lo stato immunitario sono altri fattori decisivi, in particolare bambini, anziani o persone immunodepresse sono più vulnerabili e mostrano una maggiore incidenza[2][8].

Tra le conseguenze a lungo termine dell'encefalite ci sono deficit cognitivi, disturbi comportamentali o epilessia secondaria, con un impatto significativo sulla qualità della vita, e in alcuni casi anche il decesso del paziente. Di conseguenza, la diagnosi precoce e l'identificazione tempestiva dell'eziologia rappresentano elementi fondamentali per una gestione clinica efficace[5].

La valutazione diagnostica presenta un approccio multidisciplinare legato alla clinica, con l'ausilio di indagini strumentali e esami di laboratorio. Tra questi, le principali scelte ricadono sull'analisi del liquido cerebrospinale, le tecniche di neuroimaging e l'elettroencefalogramma. I primi due presentano una solidità nella diagnosi importante, ma presentano delle criticità non indifferenti, come l'invasività nel prelievo del liquido cerebrospinale e l'elevato costo, il quale comporta una difficoltà nell'averne tanti e soprattutto liberi, dei macchinari come quelli utilizzati per la TAC o la risonanza magnetica. L'EEG, invece, fornisce informazioni dirette sull'attività elettrica cerebrale e può evidenziare anomalie caratteristiche associate a diverse forme di encefalite, ma il problema maggiore consiste nell'ambiguità di tale segnale e di una forte componente di rumore legato ad esso[3][10][12].

1.1.1 Eziologia e diagnosi dell'encefalite

Come accennato precedentemente le encefaliti si dividono in due macro-categorie dal punto di vista eziologico, ovvero in forme infettive e non infettive, quest'ultime in prevalenza di origine autoimmune. Le prime rappresentano le cause storicamente più comune della patologia, in particolare i virus sono gli agenti patogeni più frequenti a livello globale. Tra di essi l'agente comunemente associato all'encefalite è l'herpes simplex virus (HSV), mentre in altre aree geografiche risultano prevalenti virus trasmessi da vettori, come il virus dell'encefalite giapponese e il virus del Nilo occidentale. Altri agenti virali frequentemente coinvolti includono enterovirus, virus varicella-zoster, citomegalovirus e virus Epstein-Barr. Sebbene meno comuni, anche infezioni batteriche, fungine, i quali possono risultare efficaci contro soggetti immunocompromessi[1][8].

Per quanto riguarda invece le encefaliti di origine autoimmune le cause sono ricon-

ducibili alla presenza di autoanticorpi specifici, diretti contro proteine della superficie neuronale o sinaptica. Tra di essi i più comuni sono gli anticorpi anti-NMDAR, anti-LGI1, anti-CASPR2 e anti-GABA. In alcuni casi, le encefaliti autoimmuni possono essere paraneoplastiche, ovvero associate alla presenza di neoplasie, come teratomi ovarici o tumori polmonari. Queste problematiche possono alterare la trasmissione sinaptica e conseguire ad una serie di manifestazioni cliniche che includono disturbi cognitivi, alterazioni comportamentali, crisi epilettiche e disordini del movimento[6][8].

A causa dell'eterogeneità delle cause la diagnosi dell'encefalite rappresenta una sfida clinica complessa. Il primo passo è sicuramente l'analisi del quadro clinico del paziente, la quale rappresenta sempre una fase fondamentale nell'indirizzare la ricerca strumentale verso una probabile causa. In particolare, sintomi come alterazioni dello stato mentale associate a segni di coinvolgimento neurologico, febbre, crisi epilettiche, uniti alla presenza di encefalopatia di durata superiore alle 24 ore costituiscono i principali elementi di sospetto clinico. Tutto ciò è importante che sia accompagnato da delle indagini strumentali e di laboratorio. Fra di queste le principali sono:

- **Analisi del liquido cerebrospinale (CSF):** Rappresenta lo strumento fondamentale per confermare la presenza di uno stato infiammatorio del sistema nervoso centrale. Nei casi di encefalite virale la CSF mostra una pleiocitosi linfocitaria e un aumento moderato delle proteine[5].
- **Neuroimaging (RM encefalo):** Questo genere di esame permette di mostrare la presenza di lesioni encefaliche o eventuali pattern infiammatori tipici dell'encefalite. Per esempio, i casi di encefalite da herpes simplex sono spesso accompagnati da lesioni nella zona dei lobi temporali[5].
- **Elettroencefalogramma (EEG):** Uno strumento non invasivo che restituisce informazioni sullo stato funzionale del sistema nervoso centrale. Può avere un'importanza sia diagnostica, sia di monitoraggio per via della sua semplicità di utilizzo[10].

Spesso l'utilizzo di un singolo esame può non essere sufficiente, soprattutto nei casi più gravi, per ricavare informazioni riguardo allo stato della malattia e del suo sviluppo, per questo spesso vengono usati in combinazione fra loro per una maggiore efficacia.

1.2 EEG

1.2.1 Fondamenti fisiologici del segnale EEG

Il segnale EEG, dal punto di vista fisiologico, riflette l'attività sinaptica delle popolazioni neuronali corticali, in particolare dei neuroni piramidali, la cui organizzazione spaziale consente la generazione di potenziali elettrici rilevabili in superficie. I potenziali sono principalmente generati dai neuroni postsinaptici eccitatori e inibitori localizzati a livello dei dendriti dei neuroni piramidali[3][7].

I neuroni piramidali, grazie alla loro struttura organizzata, caratterizzata da un corpo cellulare e da un lungo dendrite apicale orientato perpendicolarmente alla superficie corticale, consentono la sommazione spaziale e temporale dei potenziali sinaptici, generando correnti elettriche coerenti che si propagano attraverso il tessuto cerebrale[3][7].

Dal punto di vista elettrofisiologico, l'attività sinaptica genera dipoli elettrici: una regione di ingresso di corrente, detta *sink*, legata alla depolarizzazione dendritica, e una regione di uscita, detta *source*, corrispondente alla corrente di ritorno. Quando un numero sufficientemente elevato di neuroni si attiva in modo sincrono, questi dipoli si sommano e producono un campo elettrico misurabile sulla superficie dello scalpo[3][7].

La propagazione dei potenziali avviene attraverso liquido cerebrospinale, cranio e cute, dalle sorgenti corticali fino agli elettrodi. Ognuna di queste componenti è caratterizzata da un diverso coefficiente di conducibilità; questo comporta una diffusione spaziale del segnale e una perdita di risoluzione, rendendo difficile individuare con precisione la localizzazione delle sorgenti neuronali[3][7].

In termini funzionali, il segnale EEG può essere descritto attraverso diversi fattori:

- **frequenza**, che riflette la velocità delle oscillazioni neuronali;
- **ampiezza**, correlata al numero di neuroni attivati in modo sincrono;
- **fase**, che descrive la relazione temporale tra diverse regioni cerebrali.

Questi fattori rappresentano la base per comprendere lo stato funzionale del sistema nervoso centrale e la condizione fisiologica o patologica del paziente.

1.2.2 Tecniche di acquisizione del segnale EEG

L'acquisizione del segnale EEG richiede particolare attenzione, in quanto la qualità della registrazione influisce direttamente sull'accuratezza dell'interpretazione clinica e sull'efficacia delle successive elaborazioni computazionali. I passaggi comprendono la rilevazione, l'amplificazione e la digitalizzazione dei potenziali elettrici generati dall'attività neuronale, attraverso un sistema di elettrodi posizionati sullo scalpo secondo protocolli standardizzati.

Il sistema internazionale standard per il posizionamento degli elettrodi è il sistema 10–20, da cui si ricavano posizioni basate sulle proporzioni standard del cranio umano. In particolare, come si vede in Figura 1.1, gli elettrodi sono posizionati a intervalli del 10% o del 20% delle distanze tra punti anatomici di riferimento, ovvero il nasion, l'inion e i punti preauricolari[3].

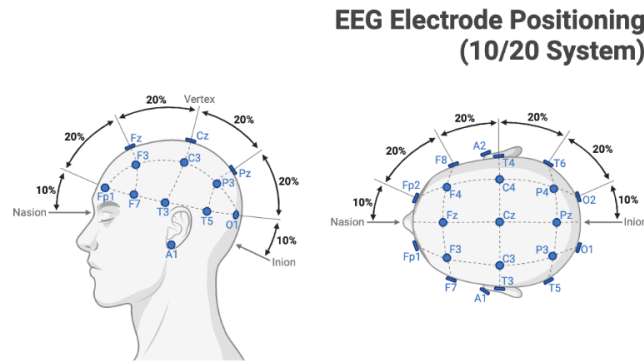


Figure 1.1: Sistema internazionale 10–20 per il posizionamento degli elettrodi EEG.

Ogni punto è indicato da lettere e numeri con un significato preciso:

- **F:** frontale;
- **T:** temporale;
- **P:** parietale;
- **O:** occipitale.

I numeri aumentano dalla zona frontale verso quella posteriore della testa; inoltre, i numeri pari identificano l'emisfero destro, mentre i numeri dispari identificano l'emisfero sinistro. Questo approccio standard garantisce la riproducibilità della registrazione e una copertura uniforme della superficie cerebrale. In casi specifici si può considerare di aumentare il numero degli elettrodi, passando a un sistema 10–10 ad alta densità, che garantisce una migliore risoluzione spaziale[3].

Anche la scelta degli elettrodi è importante per la qualità della registrazione. In particolare, quelli più utilizzati in ambito clinico sono gli elettrodi superficiali, o *scalp electrodes*, applicati direttamente sulla cute mediante gel conduttivo. Essi sono gli stessi utilizzati per ricavare i segnali EEG nel nostro caso di studio.

Un altro elemento importante per l'acquisizione del segnale EEG è il montaggio utilizzato, ovvero il modo in cui vengono combinati i segnali registrati dai diversi elettrodi. Questa scelta non influenza l'acquisizione del segnale di per sé, ma la sua visualizzazione e interpretazione, permettendo di evidenziare aspetti diversi dell'attività cerebrale. I montaggi si distinguono in:

- **montaggio referenziale**, in cui ogni elettrodo è confrontato con un elettrodo di riferimento comune, ad esempio mastoide o lobo auricolare;
- **montaggio bipolare**, in cui viene considerata la differenza di potenziale tra coppie di elettrodi adiacenti, permettendo una migliore identificazione delle variazioni locali del segnale;

- **montaggio a riferimento medio**, o *average reference*, in cui il segnale di ciascun elettrodo è confrontato con la media di tutti gli elettrodi, utile per ottenere una rappresentazione globale dell'attività cerebrale[12][3].

Il montaggio utilizzato nel nostro studio è quello bipolare, il quale ha il vantaggio di attenuare il disturbo comune agli elettrodi grazie alla sottrazione dei potenziali e di evidenziare maggiormente le variazioni spaziali locali.

1.2.3 Amplificazione e filtraggio del segnale EEG

Una limitazione del segnale EEG è l'ampiezza estremamente ridotta, generalmente compresa nell'ordine del microvolt. Ciò rende necessaria una catena di amplificazione preliminare per consentire una corretta acquisizione e analisi. Gli amplificatori utilizzati sono amplificatori differenziali, che permettono di misurare la differenza di potenziale tra due elettrodi e amplificarne selettivamente la componente di interesse, attenuando la componente comune, composta principalmente da rumore.

La qualità della selettività tra componente differenziale e componente comune di un amplificatore è una caratteristica fondamentale e viene misurata attraverso il rapporto di reiezione del modo comune, o *Common Mode Rejection Ratio* (CMRR). Inoltre, tali amplificatori sono progettati per avere un'elevata impedenza in ingresso e una bassa impedenza in uscita, riducendo così il rumore interno all'amplificatore[3][7].

Un'altra componente importante, che lavora parallelamente alla catena di amplificazione, è l'operazione di filtraggio, la quale permette un aumento del rapporto segnale-rumore (*Signal-to-Noise Ratio*, SNR) e consente di isolare le componenti di interesse. Il filtraggio permette infatti di eliminare diverse fonti di disturbo, tra cui la deriva della linea di base, le interferenze elettriche e il rumore ad alta frequenza[12]. In particolare, i filtri utilizzati sono:

- un **filtro passa-alto**, con frequenza di taglio tipicamente compresa tra 0.1 e 0.5 Hz, per rimuovere le componenti a bassissima frequenza e la deriva del segnale;
- un **filtro passa-basso**, con frequenza di taglio generalmente compresa tra 30 e 70 Hz, per attenuare il rumore ad alta frequenza e l'attività muscolare;
- un **filtro notch**, centrato a 50 Hz, utilizzato per eliminare le interferenze della rete elettrica.

In formato digitale, questi filtri vengono implementati attraverso filtri numerici, come i filtri Butterworth o Chebyshev, che permettono un controllo più preciso della risposta in frequenza e una maggiore flessibilità nell'elaborazione del segnale.

L'importanza del filtraggio si può osservare in Figura 1.2, in cui viene mostrata la differenza tra il segnale prima e dopo il filtraggio. In particolare, nella prima immagine il segnale appare più confuso e caratterizzato da oscillazioni che compromettono la qualità dell'analisi clinica; nella seconda immagine, invece, si può notare una

maggior pulizia del segnale, rendendo più semplice l'estrazione delle caratteristiche clinicamente rilevanti.

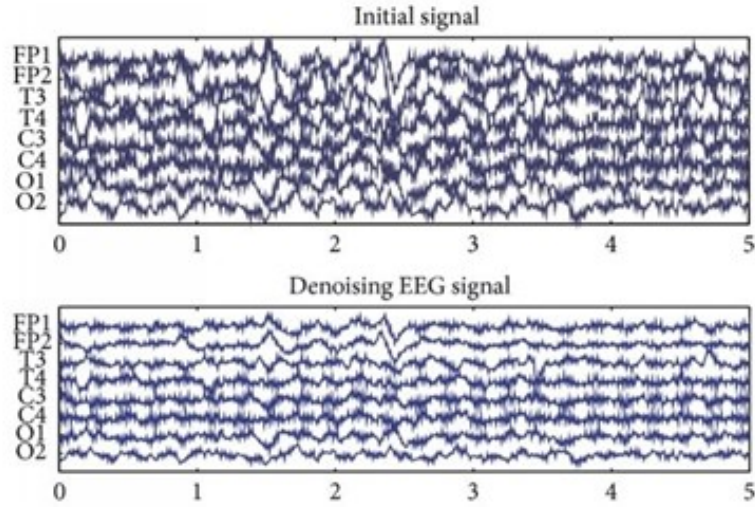


Figure 1.2: Confronto tra segnale EEG prima e dopo il filtraggio.

È importante sottolineare che il filtraggio deve essere applicato con attenzione, poiché un'eccessiva attenuazione potrebbe alterare il segnale fisiologico e compromettere l'identificazione di pattern patologici.

1.2.4 Digitalizzazione del segnale EEG

Una volta acquisito, amplificato e filtrato, il segnale EEG viene convertito in formato digitale in modo da renderlo elaborabile dai sistemi informatici. Questo processo è fondamentale poiché permette di passare da segnali continui nel tempo a una sequenza discreta di valori numerici, molto più semplice da utilizzare nell'analisi[3].

La conversione avviene attraverso un convertitore analogico-digitale, o *Analog-to-Digital Converter* (ADC), che campiona il valore del segnale a intervalli di tempo regolari e ne quantizza l'ampiezza su un insieme finito di livelli discreti. Questo processo è descritto principalmente da due parametri: la frequenza di campionamento e la risoluzione in ampiezza, entrambi decisivi per la qualità con cui il segnale viene rappresentato in forma digitale[3][7].

La frequenza di campionamento definisce il numero di campioni acquisiti nell'unità di tempo ed è espressa in Hertz. Secondo il teorema di Nyquist-Shannon, è necessario che essa assuma un valore pari ad almeno il doppio della massima frequenza utile presente nel segnale. Questo è fondamentale per evitare il fenomeno dell'aliasing, ovvero una distorsione del segnale registrato dovuta a una frequenza di campionamento troppo bassa[3].

Nel segnale EEG, le componenti di interesse si trovano per lo più al di sotto dei 100 Hz. Per questo motivo, i sistemi di acquisizione adottano in genere frequenze di campionamento comprese tra 128 Hz e 512 Hz, mentre nei contesti di ricerca più avanzata si ricorre talvolta a valori superiori.

Un ulteriore aspetto è la risoluzione del segnale, determinata dal numero di bit utilizzati per rappresentare ciascun campione. Un numero di bit maggiore garantisce una rappresentazione più precisa del segnale, riducendo l'errore di quantizzazione[8]. Nell'acquisizione di segnali EEG, un convertitore con un numero di bit pari o superiore a 16 bit rappresenta uno standard adeguato per rilevare anche piccole variazioni di ampiezza, limitando l'errore introdotto dal processo di quantizzazione.

Un aspetto importante riguarda anche la registrazione simultanea di più canali. Il segnale EEG è infatti composto dall'acquisizione del potenziale sullo scalpo mediante più elettrodi contemporaneamente. Per questo è importante che tutti i canali siano sincronizzati, al fine di preservare le relazioni temporali tra le diverse regioni cerebrali e permettere anche lo studio di fenomeni di connettività funzionale[4].

Oltre a tutto ciò, il segnale viene digitalizzato insieme ad altre informazioni essenziali per l'analisi, come la frequenza di campionamento, i nomi dei canali e la durata del segnale, e successivamente convertito in un file complessivo. Tra i formati più utilizzati vi è l'European Data Format (EDF), ampiamente impiegato sia in ambito clinico sia nella ricerca, ed è anche quello utilizzato in questo studio.

La qualità della digitalizzazione incide direttamente su tutte le fasi successive di elaborazione del segnale. Una frequenza di campionamento troppo bassa può comportare la perdita di informazioni temporali e introdurre fenomeni di aliasing, mentre una risoluzione ridotta limita la precisione con cui si possono rilevare variazioni di ampiezza significative. Allo stesso modo, errori di sincronizzazione tra i canali possono generare sfasamenti e distorsioni, compromettendo l'interpretazione della distribuzione spaziale dell'attività cerebrale[3][4].

1.2.5 Artefatti nei segnali EEG

Oltre alle problematiche legate al rumore esterno al segnale, esistono anche artefatti fisiologici che rappresentano una componente inevitabile nell'EEG e, più in generale, nei biopotenziali. Il motivo è riconducibile alla scarsa ampiezza del segnale EEG, che comporta una forte vulnerabilità a contributi non neurali di grandezza comparabile all'attività cerebrale. Tra questi, i più comuni sono dovuti agli occhi, ai muscoli e all'apparato cardiocircolatorio. La presenza di tali elementi altera l'andamento temporale del segnale, modificandone lo spettro in frequenza, con il rischio di introdurre interpretazioni fuorvianti o risultati scarsamente riproducibili[3][12].

Artefatti oculari

Tra gli artefatti fisiologici più comuni, quelli oculari sono tra i più frequenti e impattanti. In particolare, il bulbo oculare si comporta come un dipolo elettrico, con una differenza di potenziale tra la cornea e la retina. Ammiccamenti, o *blinking*, e altri movimenti oculari determinano variazioni del campo elettrico che si traducono in oscillazioni lente e di ampiezza elevata nel tracciato del segnale. Questo disturbo presenta una distribuzione spaziale con massima intensità nelle derivazioni frontali e

progressiva attenuazione verso le regioni posteriori. Dal punto di vista spettrale, gli artefatti oculari si manifestano principalmente nelle bande delta e theta, ovvero a basse frequenze, tipicamente di maggiore interesse nei soggetti encefalitici. Per questo motivo rappresentano una criticità significativa per la diagnosi dei processi infiammatori, in quanto possono mascherare o alterare le componenti lente del segnale EEG[12].

Artefatti muscolari

Gli artefatti muscolari, o EMG, sono generati dalla contrazione dei muscoli. Ovviamente, quelli di maggiore disturbo sono i movimenti in prossimità dello scalpo, ovvero quelli facciali, mandibolari e cervicali. Anche contrazioni minime possono generare segnali di ampiezza sufficientemente elevata da risultare comparabili al segnale EEG. Inoltre, per quanto riguarda l'acquisizione in soggetti molto piccoli, è più complesso limitare i movimenti e per questo le registrazioni vengono effettuate prevalentemente durante il sonno. Questo genere di artefatti presenta una componente ad alta frequenza e variazioni rapide, ma in alcuni casi può estendersi anche a frequenze inferiori, alterando lo spettro del segnale EEG. La localizzazione di questi fenomeni è riconducibile a regioni specifiche dello scalpo a seconda del gruppo muscolare attivato, motivo per cui presentano una natura frammentata[2][12].

Artefatti cardiaci

Un'ulteriore fonte di disturbo è rappresentata dall'attività cardiaca. Il segnale elettrocardiografico (ECG) può essere rilevato dagli elettrodi, in particolare quando la disposizione degli elettrodi favorisce la ricezione dei potenziali cardiaci. Le oscillazioni dovute agli artefatti cardiaci sono oscillazioni periodiche sincronizzate con il battito cardiaco; in alcuni casi, inoltre, la pulsazione sanguigna può determinare micro-movimenti degli elettrodi, accompagnati da oscillazioni lente del segnale. Questi artefatti sono meno comuni e meno impattanti per via delle ampiezze generalmente inferiori rispetto ad altre sorgenti di disturbo, ma possono comunque ostacolare l'analisi dei pattern patologici di interesse[12].

Artefatti legati alla respirazione e ai movimenti corporei

Anche i movimenti respiratori o corporei possono essere causa di disturbo nel segnale. In particolare, i movimenti corporei nei bambini che si spostano durante la notte generano variazioni della linea di base o transitori nel segnale. Questi artefatti sono più comuni nelle registrazioni prolungate, in cui risulta più complesso mantenere il corpo fermo per lunghi intervalli di tempo. Questi artefatti fisiologici possono ostacolare la diagnosi di pattern patologici, in particolare nei casi encefalitici, in cui lo spettro del segnale è maggiormente compromesso da oscillazioni a bassa frequenza. Nel caso di artefatti oculari o respiratori, l'indagine strumentale può essere compromessa dalla difficoltà nel distinguere tra attività fisiologica e patologica. Per questo motivo è

importante sviluppare strategie efficaci, tra cui il riconoscimento delle caratteristiche morfologiche degli artefatti e l'applicazione di tecniche di elaborazione mirate. È essenziale trovare un equilibrio tra l'eliminazione delle componenti indesiderate e la preservazione dell'informazione neurale, evitando interventi troppo aggressivi che potrebbero distorcere il segnale originale[10]. In questo quadro, una conoscenza approfondita delle caratteristiche degli artefatti fisiologici è cruciale per garantire analisi affidabili e per favorire lo sviluppo di metodi automatici capaci di identificare in modo robusto i pattern EEG.

1.2.6 Ruolo dell'EEG nella diagnosi dell'encefalite

L'elettroencefalogramma rimane una risorsa fondamentale per la diagnostica dell'encefalite, in quanto consente di analizzare in tempo reale l'attività funzionale del sistema nervoso centrale, a differenza delle tecniche di neuroimaging che permettono di avere una visione strutturale momentanea. Inoltre, l'EEG permette di ricavare pattern patologici sin dall'inizio della malattia, valutando i cambiamenti dinamici dell'attività cerebrale.

L'encefalite è caratterizzata da un processo infiammatorio che coinvolge il parenchima cerebrale e determina una compromissione diffusa o focale delle funzioni neuronali. Tale condizione si riflette direttamente sul segnale EEG, in particolare sia per quanto riguarda il contenuto temporale che spettrale, attraverso un rallentamento diffuso della componente ritmica fisiologica e un aumento delle onde lente[9][5].

Questo comportamento è dovuto ad una disfunzione globale delle reti corticali e riflette una perdita di sincronizzazione delle attività neuronali ad alta frequenza. Sul piano fisiopatologico, queste modificazioni sono riconducibili a molteplici meccanismi, tra cui alterazioni della trasmissione sinaptica, edema cerebrale, compromissione dei circuiti talamo-corticali e cambiamenti del metabolismo neuronale indotti dal processo infiammatorio.

Un aspetto particolarmente rilevante dell'EEG nella diagnosi dell'encefalite è la capacità di mettere in evidenza anomalie funzionali anche quando non sono presenti alterazioni strutturali chiaramente rilevabili con le tecniche di imaging. Questo rende l'EEG uno strumento molto sensibile soprattutto nelle fasi iniziali della patologia, quando una diagnosi tempestiva può incidere in modo significativo sulla gestione clinica e sulla prognosi del paziente[1][6].

Oltre al rallentamento diffuso, il tracciato EEG può mostrare pattern più specifici, la cui comparsa dipende dall'eziologia e dalla localizzazione del processo infiammatorio. In alcuni casi si osservano anomalie focali, compatibili con un interessamento circoscritto del tessuto cerebrale; in altri, invece, prevalgono alterazioni diffuse, che suggeriscono una compromissione più estesa.

L'EEG riveste inoltre un ruolo importante nel monitoraggio dell'evoluzione della malattia. Le variazioni del tracciato nel tempo possono offrire indicazioni utili sull'andamento clinico, sulla risposta alla terapia e sull'eventuale progressione del danno neurologico. In questa prospettiva, l'EEG non rappresenta soltanto uno

strumento diagnostico, ma anche un mezzo di follow-up funzionale.

Nel contesto dell'encefalite, un ulteriore elemento di interesse è la comparsa di pattern elettroencefalografici complessi, tra cui i complessi lenti bifasici. Queste configurazioni rientrano nel quadro delle alterazioni dell'attività lenta e possono essere interpretate come espressione di una disfunzione corticale legata ai processi infiammatori. La loro presenza, così come le caratteristiche morfologiche, può fornire informazioni aggiuntive sulla gravità del quadro clinico e sul possibile coinvolgimento di specifiche aree cerebrali[10][13].

L'interpretazione dell'EEG in questo ambito richiede tuttavia particolare cautela, poiché il tracciato può essere influenzato da numerosi fattori, tra cui artefatti fisiologici, condizioni del paziente e variabilità interindividuale. Per questo motivo, l'analisi elettroencefalografica dovrebbe sempre essere integrata con i dati clinici, laboratoristici e neuroradiologici, all'interno di un approccio diagnostico multidisciplinare[11].

Infine, grazie ai progressi nelle tecniche di elaborazione del segnale, l'EEG ha assunto un ruolo crescente anche nell'analisi automatica. L'identificazione di pattern patologici tramite algoritmi permette di ridurre la soggettività interpretativa e di aumentare la riproducibilità dei risultati. In particolare, nel presente lavoro l'analisi dei complessi lenti bifasici si colloca in questo contesto, con l'obiettivo di sviluppare strumenti automatici in grado di supportare la diagnosi di encefalite attraverso lo studio del segnale EEG[11][10].

1.3 Complessi Lenti Bifasici

I complessi lenti bifasici (*Slow Biphase Complexes*, SBC) costituiscono il focus della ricerca svolta. Essi rappresentano un pattern elettroencefalografico rallentato e spesso riconducibile a condizioni di sofferenza cerebrale, in particolare in processi infiammatori del sistema nervoso centrale come nel caso dell'encefalite[10][11].

Dal punto di vista morfologico, come si vede in Figura 1.3, essi sono caratterizzati da due componenti di polarità opposta, che conferiscono loro la tipica forma bifasica. Questo genere di onde è difficile da identificare per via della loro natura semplice e non particolarmente diversa, dal punto di vista morfologico, rispetto alle normali oscillazioni fisiologiche del segnale EEG[10].

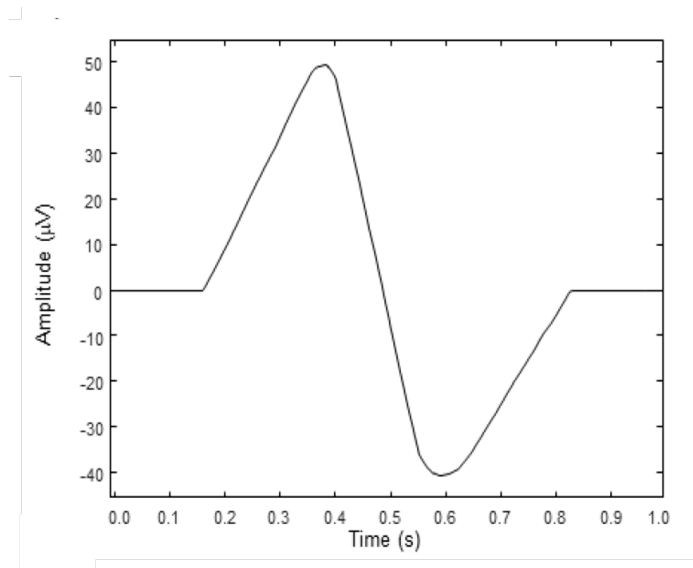


Figure 1.3: Esempio morfologico di complesso lento bifasico.

Nonostante ciò, vi sono alcune caratteristiche che permettono di distinguerli dal resto del segnale, in particolare:

- appartengono alla componente lenta del segnale (range delta);
- presentano una morfologia bifasica ben definita;
- mostrano una durata maggiore rispetto ai ritmi fisiologici;
- presentano ampiezze maggiori rispetto al normale rumore di fondo;
- mostrano una natura non periodica, ma sporadica.

Queste caratteristiche richiedono comunque uno studio più complesso rispetto ad altre onde più semplici da interpretare, come per esempio un'onda R nel segnale elettrocardiografico.

Nei casi di encefalite, il segnale EEG risulta complessivamente rallentato in maniera diffusa rispetto all'attività di fondo; questo comporta un aumento della frequenza dei CLB all'interno del tracciato, proporzionale allo stato infiammatorio del paziente. In particolare, una persona affetta da encefalite presenterà una frequenza di comparsa dei CLB maggiore rispetto a una persona sana. Inoltre, anche tra due pazienti con quadri clinici differenti dal punto di vista della severità dello stato infiammatorio si osservano caratteristiche diverse nel tracciato. I casi di encefalite più gravi mostrano una maggiore comparsa dei CLB, consentendo una valutazione non solo qualitativa ma anche quantitativa[10][11].

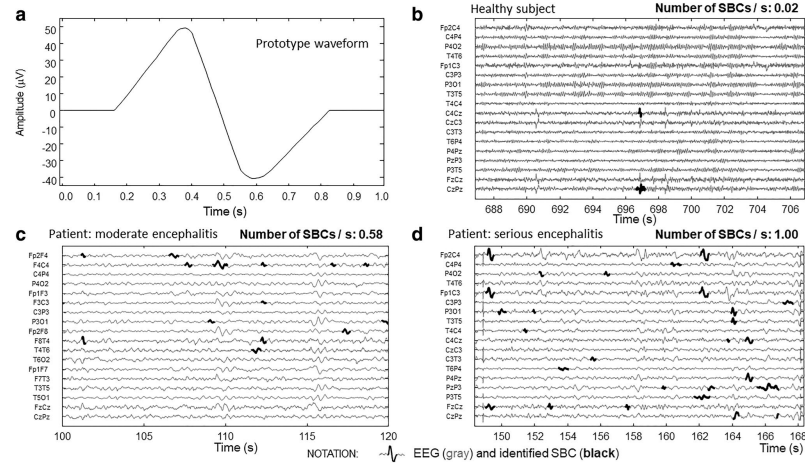


Figure 1.4: Complessi bifasici lenti (SBC) ed esempi di elaborazione di porzioni di registrazioni EEG. a) Forma d'onda utilizzata come prototipo per identificare gli SBC. b) Forme d'onda simili a uno SBC identificate automaticamente in un tracciato EEG registrato in un soggetto di controllo (l'ampiezza RMS è circa 9 μV). c) SBC identificati automaticamente in un tracciato EEG di un paziente con encefalite moderata (ampiezza RMS circa 40 μV). d) Elaborazione di un EEG di un paziente con encefalite grave (ampiezza RMS circa 7 μV)[10].

Un altro tipo di informazione che lo studio di questi pattern può fornire è la loro distribuzione spaziale sullo scalpo. Essi si possono distribuire in modo diffuso su più regioni o in modo focale, ovvero in specifiche zone corticali. Questo può fornire indicazioni utili sulle regioni affette dai processi patologici; in particolare, si osserva una correlazione fra le aree di maggiore attività degli SBC e le regioni cerebrali coinvolte da lesioni evidenziate tramite tecniche di neuroimaging[13].

In generale, questa correlazione fra stato infiammatorio e CLB dimostra l'utilità di sviluppare un software in grado di rilevare in maniera automatica questa tipologia di onda, in modo da supportare l'indagine clinica sia nella conferma di ipotesi diagnostiche di encefalite sia nel monitoraggio dell'evoluzione patologica e dell'efficacia di eventuali terapie mediche fornite al paziente.

Chapter 2

Materiali e Metodi

Il presente lavoro ha lo scopo di costruire un software in linguaggio Python in grado di identificare e caratterizzare i complessi lenti bifasici all'interno di EEG appartenenti a pazienti pediatrici con sospetta encefalite. In continuità con precedenti studi sviluppati presso il Politecnico di Torino, è stato adottato un approccio computazionale per l'analisi automatica dei tracciati EEG, finalizzato alla diminuzione dei parametri soggettivi e all'interpretazione clinica, a favore di una maggiore riproducibilità dei risultati. Lo studio si configura quindi come uno studio metodologico applicativo, basato sull'elaborazione di segnali EEG mediante algoritmi di signal processing e un'analisi comparativa tra soggetti sani e patologici. Il software è integrato ad un'interfaccia utente semplice che permette all'utilizzatore di registrare alcuni dati del paziente e poter osservare alcuni output numerici e grafici utili per l'analisi clinica.

2.1 Dati e acquisizione del segnale EEG

I segnali EEG utilizzati nel presente lavoro sono acquisiti mediante un metodo standard di registrazione non invasivo, basato sull'applicazione di elettrodi sullo scalpo secondo configurazioni multicanale. I dati sono forniti in formato EDF (*European Data Format*), all'interno del quale sono contenute informazioni fondamentali per l'analisi, quali:

- il numero dei canali;
- i nomi dei canali;
- i campioni temporali per ciascun canale.

L'estrazione dei dati produce una matrice bidimensionale in cui ogni riga rappresenta un canale e ogni colonna un campione temporale.

Il montaggio utilizzato per l'acquisizione è di tipo monopolare; tuttavia, l'analisi dei complessi lenti bifasici (CLB) viene effettuata in modalità bipolare. Il software sviluppato consente infatti di selezionare tra due differenti montaggi, longitudinale e ridotto, rappresentati in Figura 2.1, ed eseguire la sottrazione tra i canali di interesse.

La scelta del montaggio bipolare è motivata dalla sua capacità di attenuare il rumore di fondo rispetto alle registrazioni monopolari.

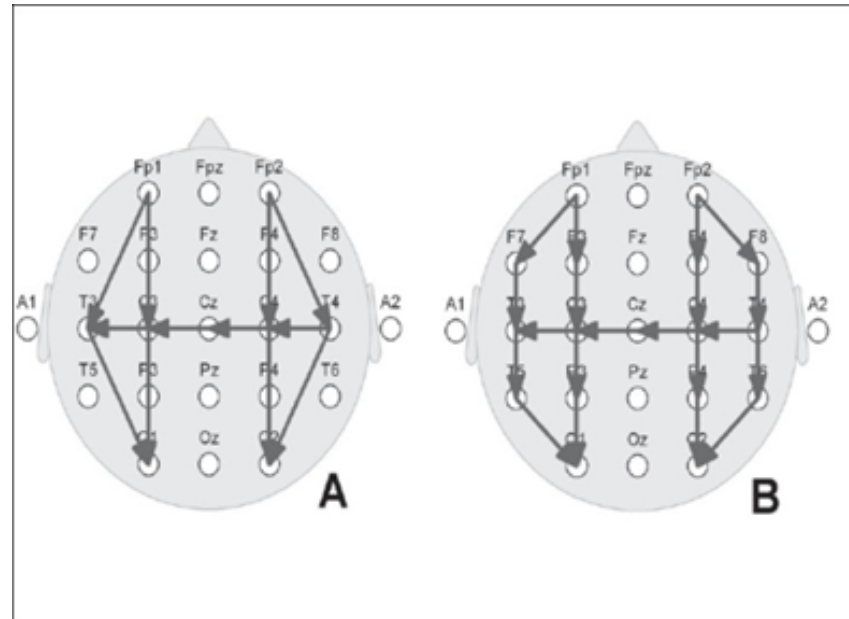


Figure 2.1: Montaggi EEG utilizzati per l'analisi bipolare dei segnali. A) ridotto, B) longitudinale.

Prima dell'elaborazione, i segnali EEG sono sottoposti a una fase di validazione automatica, finalizzata a verificare:

- la correttezza della struttura del segnale, in termini di dimensioni della matrice;
- la presenza di valori non validi, come NaN o infiniti;
- la coerenza tra numero di canali e metadati;
- la durata minima della registrazione;
- la presenza di ampiezze anomale.

Questa fase risulta fondamentale per prevenire errori nelle elaborazioni successive e garantire l'affidabilità dei risultati.

Le principali fonti dei dati elettroencefalografici si distinguono in due categorie: da un lato un dataset già utilizzato in studi sperimentali, dall'altro dati clinici prospettici acquisiti in ambiente ospedaliero, in particolare presso l'Ospedale Regina Margherita, a seguito del trasferimento del software sviluppato. Tale distinzione ha permesso di combinare un approccio metodologico consolidato con una verifica applicativa in un contesto reale.

Il dataset iniziale è costituito da 118 tracciati EEG relativi a una popolazione di 10 soggetti affetti da encefalite, con età compresa tra 2 e 14 anni e distribuzione omogenea per sesso, e 10 tracciati appartenenti a soggetti sani della stessa fascia di età, utilizzati come gruppo di controllo. Ogni paziente presenta più registrazioni

effettuate in diverse fasi del decorso clinico, consentendo un'analisi quantitativa dell'evoluzione della patologia.

Le registrazioni sono state effettuate mediante sistema EEG Micromed, con frequenza di campionamento pari a 256 Hz e filtro passa-banda analogico compreso tra 0.5 Hz e 70 Hz. La configurazione dei canali varia tra 10 e 18 derivazioni, in funzione dell'età del soggetto e delle condizioni cliniche al momento dell'acquisizione.

Dal punto di vista clinico, ogni tracciato è associato a una valutazione della gravità dell'infezione, ottenuta integrando dati clinici ed esami strumentali. A ciascun caso è stato attribuito un punteggio di gravità su una scala da 1, corrispondente a una forma lieve, a 4, corrispondente a una forma molto grave. Tale classificazione ha consentito di correlare i risultati dell'analisi con il grado di severità della patologia, offrendo una chiave interpretativa dello stato clinico del paziente.

Il pool di dati relativo alle registrazioni effettuate in ospedale è stato acquisito mediante sistema Ebneuro, con frequenza di campionamento pari a 256 Hz e filtro passa-banda digitale compreso tra 0.7 Hz e 70 Hz. Anche in questo caso, la configurazione dei canali varia tra 10 e 18 derivazioni.

I segnali EEG ospedalieri erano accompagnati da valutazioni cliniche e, in molti casi, anche da esami strumentali. Per motivi di privacy non sono state fornite direttamente le registrazioni originali, ma soltanto i dati processati e alcune caratteristiche fondamentali dei pazienti in forma anonima. In totale sono stati forniti dati relativi a 39 registrazioni appartenenti a 13 individui diversi, con età compresa tra 2 e 14 anni.

2.2 Interfaccia Utente

Prima dell'analisi dei dati è importante specificare alcune caratteristiche cliniche del soggetto in esame. A tal fine è stata sviluppata un'interfaccia utente dedicata alla raccolta di tali informazioni fondamentali.

Dal punto di vista organizzativo, l'interfaccia presenta una struttura modulare, nella quale sono previsti spazi dedicati all'inserimento dei dati clinici e, successivamente, del tracciato EEG di riferimento. Come mostrato in Figura 2.2, i principali dati richiesti sono:

- **Dati anagrafici:** comprendono età e genere del paziente;
- **Parametri vitali:** includono temperatura corporea, frequenza cardiaca e durata dei sintomi. Tali parametri rappresentano indicatori di base utilizzati in ambito clinico per la diagnosi di encefalite;
- **Sintomi:** suddivisi in sintomi clinici e neurologici, con la possibilità di inserire ulteriori osservazioni tramite una casella di testo libera;
- **Eziologia:** ovvero virale, batterica o autoimmune;
- **Diagnosi:** con riferimento ad eventuali esami strumentali effettuati;

- **Terapia:** sezione opzionale in cui è possibile inserire le terapie farmacologiche, specificando i relativi dosaggi per ciascun paziente.

Encephalitis Diagnostic System

Patient Data Entry Form

Patient Information

Patient Name:

Full patient name

Patient ID:

Unique patient ID

Age:

0 years

Gender:

Select

Date of Birth:

25/11/25

Visit Information

Visit Date:

25/11/25

Clinical Data

Temperature (°C):

e.g., 37.5

Heart Rate (bpm):

e.g., 85

Symptom Onset:

Select

Etiology

☐ Bacterial
 ☐ Viral
 ☐ Dysimmune
 ☐ Other

Additional Notes:

Add additional notes about etiology (optional)...

Clinical Symptoms

☐ Hyperthermia
 ☐ Fever
 ☐ Respiratory Problems
 ☐ Gastrointestinal disorders
 ☐ Cutaneous manifestations

Neurological Symptoms

☐ Altered or cerebral consciousness status
 ☐ Seizures
 ☐ Focal neurological deficits
 ☐ CSF pleocytosis
 ☐ Cephalgy

Additional Symptoms

Additional Symptoms (optional)...

Diagnostic Test

Neuroimaging:

☐ Yes
 ☐ No

Add Notes

Lumbar puncture:

☐ Yes
 ☐ No

Add Notes

Blood test:

☐ Yes
 ☐ No

Add Notes

Therapy

Drug Name:

Enter drug name

Dosage:

e.g., 500mg

Frequency:

e.g., twice daily

Start Date:

23/11/25

End Date:

25/12/25

Ongoing

Notes:

Additional notes about this medication...

Remove Drug

Add Drug

EEG File (.edf)

No EEG file selected

Browse EEG File

Remove File

Choose Save Directory

Clear Form

Submit for Diagnosis

Figure 2.2: Interfaccia utente per l'inserimento dei dati clinici.

17

L'interfaccia è stata progettata tenendo conto delle esigenze del personale medico, in particolare tutti i campi da riempire richiesti nel modulo sono stati scelti dopo un confronto con specialisti del settore. L'obiettivo è quello di fornire uno strumento semplice da utilizzare e allo stesso tempo utile per costruire una scheda clinica che potesse supportare il lavoro di analisi svolta in seguito.

Al fondo delle richieste cliniche si trova lo spazio adibito all'inserimento del file formato EDF contenente il tracciato EEG di riferimento ai dati inseriti. Inoltre, si osserva anche la possibilità di inserire la cartella in cui verranno salvati gli output derivanti dall'analisi fatta dal software.

2.3 Algoritmo per la rilevazione automatica dei CLB

L'obiettivo principale rimane lo sviluppo di un sistema automatico per l'identificazione dei CLB all'interno dei tracciati EEG inseriti dall'operatore nell'interfaccia utente. Dal punto di vista implementativo, l'algoritmo segue una serie di passaggi fondamentali:

- acquisizione e validazione del segnale;
- conversione del montaggio;
- pre-processing e filtraggio;
- estrazione dei segmenti candidati;
- rilevazione tramite correlazione;
- post-processing;
- estrazione delle feature quantitative.

Nella prima fase l'algoritmo si concentra sulla lettura del file e sulla conversione in una struttura matriciale bidimensionale del tipo:

$$X^{(N_c \times N_s)}$$

Dove X è la matrice, N_c è il numero di canali dell'EEG e N_s rappresenta il numero di campioni temporali.

Successivamente, della matrice vengono memorizzati i dati associati, come: il nome del canale, la frequenza di campionamento, la durata della registrazione e informazioni sul montaggio. Questa fase è importante per effettuare operazioni vettoriali efficienti e parallelizzare le elaborazioni tra differenti derivazioni EEG.

Prima di procedere con il filtraggio del segnale, il sistema esegue una validazione della registrazione, la quale deve rispettare alcuni canoni:

- coerenza dimensionale della matrice;
- assenza di valori NaN o infiniti;

- corretto numero di canali;
- lunghezza minima della registrazione.

I tracciati acquisiti all'Ospedale Regina Margherita sono originariamente registrati in configurazione monopolare. Quindi necessitano ancora di un passaggio aggiuntivo di sottrazione dei potenziali tra canali, in quanto l'algoritmo esegue l'analisi dei CLB utilizzando un montaggio bipolare.

Dal punto di vista computazionale, il segnale bipolare $B_{ij}(t)$ viene ottenuto mediante:

$$B_{ij}(t) = X_i(t) - X_j(t)$$

Dove $X_i(t)$ e $X_j(t)$ rappresentano i segnali monopolari dei due elettrodi. Il software implementa due diversi tipi di configurazioni a scelta, tra cui il montaggio longitudinale completo e quello ridotto.

Successivamente si passa al filtraggio digitale del segnale, attraverso un filtro passa-banda di tipo Chebyshev II composto da un filtro passa-alto di ordine 5 con frequenza di taglio di 0,1 Hz e un filtro passa-basso di ordine 3 con frequenza di taglio di 30 Hz. Per evitare distorsioni di fase, il filtraggio viene eseguito mediante tecnica forward-backward (`filtfilt`), ottenendo una risposta equivalente a fase nulla.

Dopo il pre-processing, il segnale viene suddiviso in finestre temporali mobili di lunghezza fissa. La segmentazione è una parte fondamentale per ridurre il costo computazionale della rilevazione dei CLB e consente di fare analisi locali nel tempo. La scelta della grandezza della finestra viene fatta in modo da contenere interamente la morfologia tipica di un CLB.

Il principio centrale dell'algoritmo è quello della cross-correlazione fra la finestra temporale del segnale EEG presa in esame e un template teorico rappresentativo del complesso lento bifasico. Per migliorare la robustezza dell'algoritmo, la forma teorica del CLB viene sottoposta a scaling temporale; in particolare, vengono considerate 10 scale temporali della forma d'onda prototipo distribuite linearmente nel range tra 0,25 e 3. Per quanto riguarda l'ampiezza sia del template sia del segmento EEG, essa viene normalizzata rispetto all'ampiezza media del segnale.

Il valore di cross-correlazione tra le due forme d'onda viene normalizzato e confrontato con un valore soglia del 90% sul valore assoluto di quest'ultimo; in questo modo vengono prese in considerazione anche le forme d'onda di polarità inversa rispetto al CLB teorico. Se il valore di cross-correlazione supera la soglia, l'evento viene classificato come potenziale complesso lento bifasico. Valori di soglia più piccoli aumenterebbero la sensibilità, ma genererebbero troppi falsi positivi; al contrario, valori di soglia più alti riducono la capacità di identificare pattern patologici reali.

Per fare un ulteriore controllo sui CLB rilevati, in modo da evitare falsi positivi, viene implementata anche una fase di post-processing. In particolare, vengono considerati come singolo CLB gli eventi troppo ravvicinati o sovrapposti su canali diversi, evitando duplicazioni dovute alla rilevazione dello stesso potenziale su più

elettrodi.

Successivamente viene eseguito un secondo controllo sull'ampiezza degli eventi classificati come CLB, verificando che sia sufficientemente elevata da essere confrontabile con quella del canale in esame. Per questo, dopo aver calcolato l'involuppo dell'EEG, sono state fissate due soglie a partire dalla distribuzione cumulativa: una soglia minima al 20° percentile e una soglia massima al 99° percentile, aumentata del 10% per l'ampiezza massima.

In questo modo si evitano i falsi positivi dovuti al rumore di fondo del segnale, che hanno piccole ampiezze, ma anche i falsi positivi dovuti a forti interferenze, come il movimento del paziente, che hanno un'ampiezza troppo elevata rispetto alla media del segnale stesso.

2.4 Estrazione dei parametri quantitativi e plot

Una volta completata la fase di rilevazione automatica dei CLB, il sistema svolge un processo di estrazione di feature finalizzate alla caratterizzazione numerica dei pattern patologici identificati. In particolare, l'utilizzo del primo dataset, ovvero quello composto da studi pregressi, ha permesso di descrivere ed evidenziare alcuni aspetti comuni nei soggetti affetti da encefalite. Lo scopo di questa fase è trasformare le informazioni morfologiche delle forme d'onda di interesse in parametri quantitativi utilizzabili per il confronto tra soggetti.

Le feature estratte interessano sia il tracciato EEG a livello globale sia, a livello locale, le varie zone dello scalpo, in modo tale da fornire anche informazioni sulla topologia dei CLB. Le caratteristiche ottenute da questo studio comprendono proprietà temporali, morfologiche, spaziali e spettrali.

2.4.1 Parametri temporali

I parametri temporali sono il primo livello di caratterizzazione dei CLB, poiché consentono di estrapolare informazioni essenziali per la diagnosi, come il tempo di comparsa, la frequenza con cui si ripetono e la distribuzione lungo tutto il tracciato EEG. Questi parametri vengono estratti a partire dagli eventi classificati come pattern patologici dall'algoritmo e trasformati in valori numerici.

Per prima cosa, a ogni CLB l'algoritmo associa un valore temporale che corrisponde all'istante di comparsa della forma d'onda, semplicemente dividendo il numero del campione in cui viene rilevato il complesso (n_{CLB}) in analisi per la frequenza di campionamento (f_s):

$$t_{CLB} = \frac{n_{CLB}}{f_s}$$

Inoltre, viene quantificato anche l'istante finale dell'evento; in questo modo si riesce a ricavare anche la durata del CLB, che rappresenta un altro parametro significativo per la nostra analisi, semplicemente sottraendo l'istante iniziale da quello finale:

$$T_{CLB} = t_{end} - t_{start}$$

Da questo parametro ci è stato possibile verificare che i complessi sono onde lente; per questo sono associati a una durata maggiore rispetto alle oscillazioni fisiologiche. Inoltre, rappresenta anche un parametro utile alla validazione dell'evento stesso, poiché una durata troppo corta può essere riconducibile a un artefatto o a un transitorio non patologico.

Oltre al singolo evento, il software fornisce anche il numero complessivo di CLB rilevati su ogni canale. Questo valore offre una misura immediata del carico complessivo di attività patologica presente nel tracciato. Tuttavia, poiché le registrazioni EEG possono avere durate differenti, il numero assoluto di eventi non è sempre direttamente confrontabile tra pazienti. Per questo motivo si calcola anche la frequenza di comparsa dei CLB, espressa come numero di eventi per unità di tempo, ovvero come numero di CLB al minuto.

Un altro parametro temporale ricavato dall'algoritmo è l'intervallo inter-evento (IPI), cioè il tempo che separa due CLB consecutivi. Calcolato come:

$$IPI_i = t_{CLB,i+1} - t_{CLB,i}$$

dove $t_{(CLB,i)}$ e $t_{(CLB,i+1)}$ rappresentano i tempi di comparsa di due eventi successivi. Questo valore consente di verificare se i complessi tendano a presentarsi in modo isolato, in forma raggruppata oppure con una certa regolarità nel tempo. Questo punto è rilevante perché i CLB, pur potendo ripetersi più volte all'interno della stessa registrazione, non dovrebbero assumere un andamento rigidamente periodico. Una periodicità pronunciata, infatti, potrebbe indicare la presenza di altri pattern EEG o di artefatti.

Oltre al semplice IPI, il software estrae una serie di parametri statistici utili alla caratterizzazione della distribuzione temporale dei CLB all'interno del tracciato EEG. Lo scopo è inserire un'analisi non solo sulla frequenza di comparsa dei complessi, ma anche sulla regolarità temporale di questi ultimi. In particolare, vengono calcolati parametri statistici descrittivi di base, tra cui media, mediana, deviazione standard e coefficiente di variazione.

Questi parametri sono significativi per evidenziare come la frequenza di comparsa dei CLB sia direttamente proporzionale alla severità del quadro infiammatorio. In questo contesto, si è osservato che nei pazienti in cui il numero di complessi era particolarmente elevato, la funzionalità del tessuto cerebrale era maggiormente compromessa. Inoltre, anche nelle varie fasi della patologia questa proporzionalità permane.

2.4.2 Parametri morfologici

I parametri morfologici permettono di studiare la struttura dei CLB all'interno di un tracciato EEG, con il duplice scopo di fornire materiale per l'analisi e di distinguere

le forme d'onda patologiche da quelle fisiologiche o da artefatti. La morfologia tipica di un complesso è stata descritta nei capitoli precedenti; tuttavia, le caratteristiche possono variare significativamente tra persone diverse e anche tra fasi diverse della malattia.

Uno dei principali parametri considerati è l'ampiezza, calcolata mediante Root Mean Square (RMS); in questo modo si ottiene una misura robusta dell'energia della forma d'onda. Dal punto di vista matematico si calcola come:

$$RMS = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i^2}$$

Dove x_i rappresenta il valore del segnale al campione i e n rappresenta il numero totale di campioni della forma d'onda analizzata. Questo valore viene utilizzato sia come parametro descrittivo sia come criterio di selezione durante il post-processing.

Un ulteriore parametro morfologico riguarda la polarità dominante del complesso. Questo valore può essere 1 o -1 e viene calcolato facendo riferimento al segno della media della prima metà del CLB; in particolare, se la media è positiva assumerà valore 1, mentre se è negativa assumerà valore -1 .

Questo serve per facilitare la procedura di clustering effettuata per descrivere differenti configurazioni morfologiche dei complessi in funzione della regione cerebrale, come si evince dalla Figura 2.3. Il software, per ogni canale, mette in atto una procedura di classificazione tramite algoritmo k -means, finalizzata all'identificazione di forme d'onda morfologicamente simili. Le feature utilizzate per il clustering riguardano la durata, il RMS e la polarità, tutte normalizzate rispetto a specifici fattori di scala in modo da rendere confrontabili feature aventi unità di misura differenti.

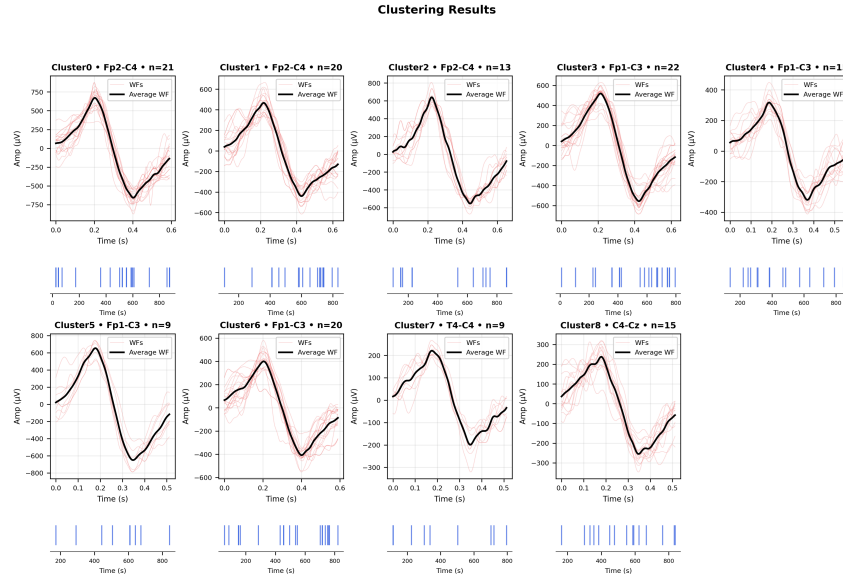


Figure 2.3: Per ciascun cluster identificato vengono visualizzate le singole forme d'onda, allineate temporalmente (in rosso), insieme alla corrispondente forma d'onda media (in nero), calcolata come media dei complessi inclusi nel cluster. La forma media è riportata in funzione del tempo: sugli assi sono indicati l'ampiezza (μV) e la durata (s). Per ogni cluster vengono inoltre specificati il canale EEG su cui sono stati rilevati i complessi e il numero totale di forme d'onda che costituiscono il raggruppamento. Al di sotto di ciascun cluster sono infine mostrati gli istanti temporali di occorrenza dei complessi lungo l'intera registrazione EEG, offrendo una rappresentazione della distribuzione temporale degli eventi associati a ciascun cluster.

Il criterio di clustering è basato su un approccio iterativo di minimizzazione della dispersione intra-cluster. L'obiettivo è creare gruppi di CLB caratterizzati da elevata omogeneità interna e massima separazione rispetto agli altri cluster. Infatti, per ciascun cluster viene calcolata la dispersione interna, che rappresenta la distanza nello spazio delle feature. Due CLB vengono considerati simili quando presentano valori vicini di durata, ampiezza RMS e polarità.

La dispersione di un cluster è un valore fondamentale per la sua validazione, insieme a un numero minimo di forme d'onda simili per ogni cluster. Nel nostro studio è stato scelto un valore di dispersione non superiore a 0,1 e almeno 8 forme d'onda per considerare un cluster come valido.

2.4.3 Parametri spaziali

Oltre ai parametri temporali e morfologici dei CLB, è importante analizzare anche la topologia di provenienza delle forme d'onda. L'analisi spaziale permette di evidenziare la distribuzione delle alterazioni fisiologiche, in particolare se si tratta di manifestazioni focali o diffuse, e di confrontare anche l'estensione del processo infiammatorio.

Per fare questo, dal punto di vista implementativo, è stato associato a ogni CLB il canale di riferimento a cui appartiene; in questo modo è possibile costruire una mappa spaziale della distribuzione dei complessi sulla superficie dello scalpo.

Come primo passaggio viene calcolato il numero totale di complessi rilevati per

ciascun canale; successivamente, come si vede in Figura 2.4, essi vengono rappresentati graficamente mediante istogrammi e timeline temporali che mostrano la distribuzione dei CLB nei diversi canali.

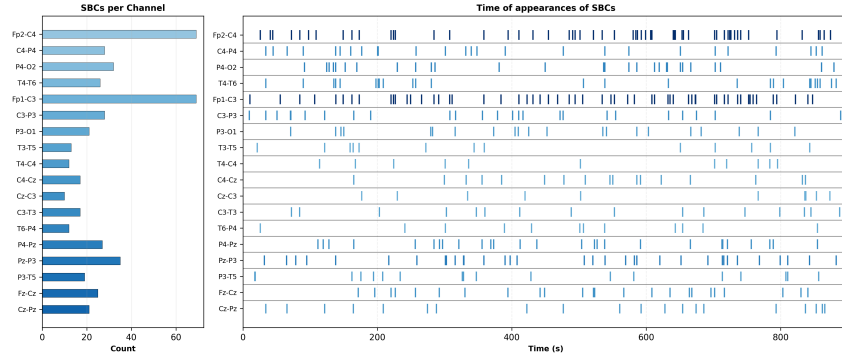


Figure 2.4: Esempio di distribuzione dei complessi lenti bifasici (CLB) nel tracciato EEG di un paziente con encefalite, in cui sono state rilevate 481 forme d'onda. A sinistra è mostrato l'istogramma del numero totale di CLB identificati per ciascun canale EEG. A destra è riportata la rappresentazione temporale delle occorrenze dei CLB lungo l'intera registrazione, con l'indicazione dei tempi di comparsa per ogni canale. La figura mette in evidenza sia la distribuzione spaziale degli eventi, con una maggiore concentrazione in canali specifici, sia la loro distribuzione temporale nel corso dell'acquisizione.

Un'altra analisi grafica, effettuata in modo da rendere più evidente la distribuzione spaziale dei complessi all'interno dell'acquisizione EEG, è la mappa topografica, presente in Figura 2.5.

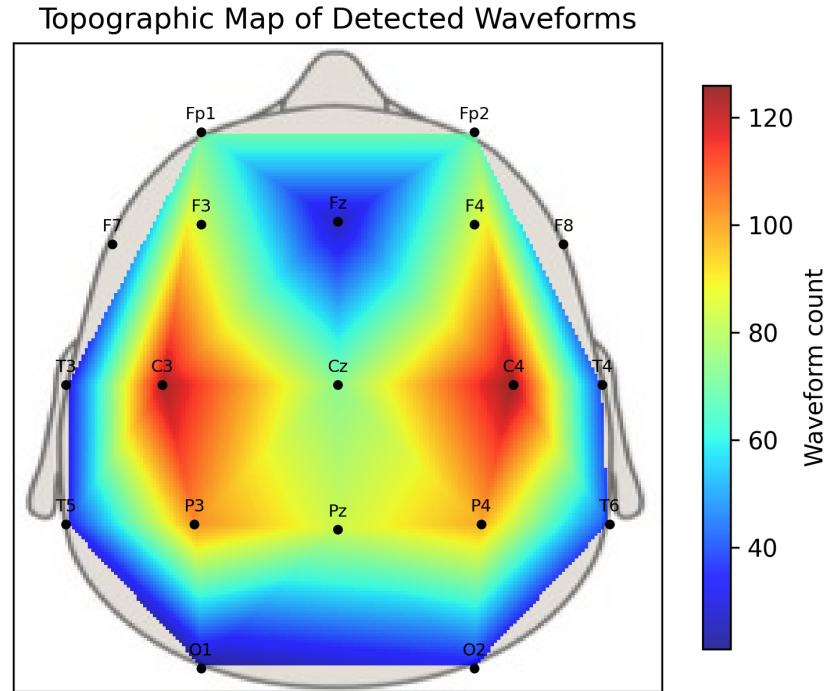


Figure 2.5: Mappa topografica della distribuzione spaziale dei complessi lenti bifasici (CLB) identificati. La mappa mostra, per ciascun canale EEG, il numero di eventi rilevati e la loro proiezione sul cuoio capelluto tramite interpolazione cubica. La scala cromatica rappresenta la densità dei CLB: i valori più alti corrispondono alle regioni in cui questi eventi si verificano con maggiore frequenza.

Da queste immagini è possibile individuare le zone corticali in cui l'attività patologica ha origine, al fine di facilitare l'interpretazione clinica dei risultati. Integrando questi risultati con le feature temporali e morfologiche, è possibile ricostruire una rappresentazione multidimensionale dell'attività EEG patologica, al fine di fornire uno strumento non solo descrittivo della localizzazione dei CLB, ma anche quantitativo per l'interpretazione fisiopatologica e per la validazione clinica del software sviluppato.

2.4.4 Parametri spettrali

L'ultima tipologia di parametri che il software estrapola dal tracciato EEG è quella derivante dallo spettro del segnale, con un'attenzione particolare alle caratteristiche spettrali a ridosso dei CLB. L'analisi del contenuto in frequenza rappresenta uno degli strumenti più importanti nell'elaborazione dei segnali. Essa consente di studiare come l'energia del segnale si distribuisca nelle diverse bande fisiologiche. Nel contesto dell'encefalite assume un'importanza ancora più rilevante, poiché permette di evidenziare rallentamenti diffusi dell'attività cerebrale tipici dei processi infiammatori.

Come detto in precedenza, l'encefalite è associata a un aumento delle componenti lente delta e a una riduzione delle componenti rapide alpha, beta e theta. L'analisi spettrale permette di quantificare numericamente questo comportamento, rendendo possibile anche il confronto tra pazienti e differenti fasi della malattia. Il software

si concentra sull'analisi spettrale sia dell'intero tracciato EEG sia delle finestre temporali qualificate come eventi patologici. In questo modo è possibile confrontare il comportamento spettrale globale del segnale con quello relativo ai CLB.

Dal punto di vista computazionale, quello che il software esegue è la conversione del segnale EEG dal dominio del tempo a quello della frequenza tramite Trasformata Discreta di Fourier (DFT), implementata con l'algoritmo Fast Fourier Transform (FFT). Quest'operazione consente di scomporre un segnale EEG nelle sue componenti sinusoidali di base e di stimare quanta energia è presente a ciascuna frequenza. In questo modo si ottiene lo spettro di potenza, cioè la distribuzione dell'energia delle oscillazioni cerebrali lungo le diverse bande.

Antecedentemente al calcolo della FFT, il segnale viene segmentato in finestre temporali quasi stazionarie, in modo tale da mantenere l'ipotesi di stazionarietà e migliorare la stabilità della stima spettrale. Ogni finestra viene sottoposta a windowing tramite finestra di Hamming, in modo tale da ridurre gli effetti di spectral leakage. Una volta eseguita la trasformata di Fourier, viene calcolata la Power Spectral Density (PSD), che rappresenta la distribuzione della potenza del segnale in funzione della frequenza.

I contributi della PSD di interesse sono:

- delta (0.5–4 Hz);
- theta (4–8 Hz);
- alpha (8–13 Hz);
- beta (13–30 Hz).

Per ricavare il contributo di queste bande viene calcolata l'Absolute Power (AP), ovvero:

$$AP_i = \int_{f_{i1}}^{f_{i2}} PSD(f) df$$

Dove f_{i1} e f_{i2} sono i limiti della banda EEG considerata e $PSD(f)$ è la densità spettrale di potenza. Dal punto di vista numerico, l'integrazione viene implementata come somma discreta delle componenti spettrali appartenenti alla banda considerata. Questa misura consente di caratterizzare il contenuto energetico per ogni banda di interesse, in modo tale da permettere un confronto tra bande.

Accanto alla potenza assoluta, il software sviluppa un altro dato importante, ovvero il Relative Power (RP), ottenuto normalizzando la potenza della singola banda rispetto alla potenza totale del segnale sul canale relativo:

$$RP_i = \frac{AP_i}{\sum_{j=1}^M AP_j}$$

In questo modo si riesce a sviluppare un confronto energetico all'interno della stessa banda di frequenza ma su diverse finestre temporali. Grazie a questa misura è stato possibile confrontare i valori delle bande di interesse su tutto il segnale rispetto

all'apporto energetico due secondi prima di un evento considerato come CLB. In questo modo è stato possibile visualizzare un incremento della banda delta e una diminuzione dei ritmi alpha, beta e theta nel segnale due secondi prima dei complessi.

Particolare attenzione viene dedicata anche alle finestre temporali contenenti CLB rilevati automaticamente. Il software utilizza quest'analisi per sviluppare un ulteriore parametro di post-processing; infatti, forme d'onda caratterizzate da un contenuto spettrale energetico incompatibile con la fisiopatologia dei CLB vengono escluse.

2.4.5 Visualizzazione del tracciato EEG e sovrapposizione dei CLB

Una componente fondamentale del software è lo sviluppo di un plot del segnale EEG progettato per consentire l'ispezione visiva dei CLB. La rappresentazione grafica è fondamentale non solo per permettere al personale medico che utilizza il software di avere una maggiore visione d'insieme del tracciato, ma anche come verifica manuale dei risultati della detection automatica.

Il sistema permette la rappresentazione del tracciato EEG nel dominio del tempo mediante visualizzazione multicanale sincronizzata. Ogni canale EEG viene mostrato come una traccia indipendente, traslata verticalmente rispetto alle altre, in modo da permettere l'osservazione simultanea delle variazioni temporali del segnale nei differenti canali corticali. Il vantaggio principale che l'algoritmo implementa rispetto a un classico plot EEG è la sovrapposizione dei marker dei CLB direttamente sul tracciato EEG, come si vede in Figura 2.6.

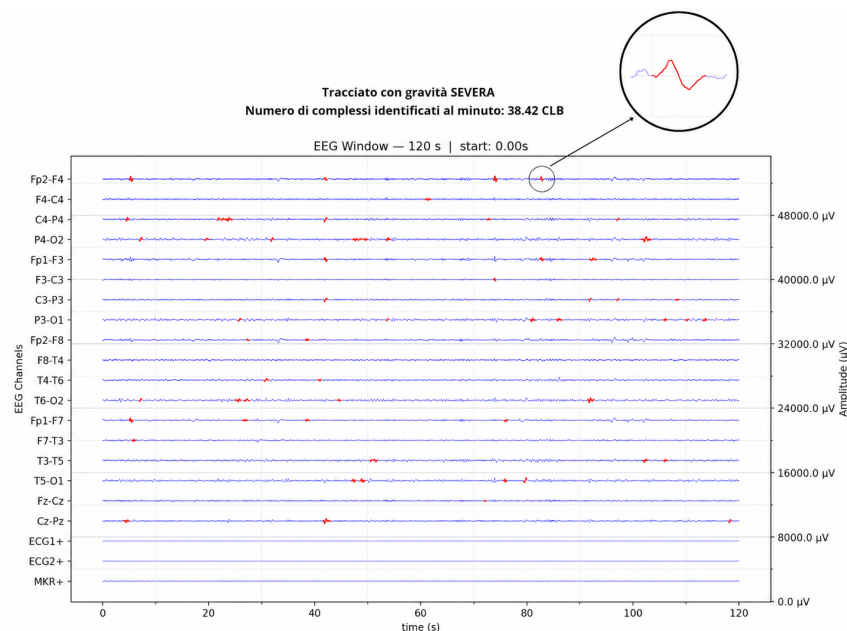


Figure 2.6: Esempio di plot EEG: tracciato EEG (blu) e complessi lenti bifasici sovrapposti (rossi).

Il plot generato è dinamico, ovvero l'utente ha la possibilità di svolgere diverse operazioni in modo tale da evidenziare differenti livelli di dettaglio. La prima

visualizzazione, ovvero quella di default, consiste nel plot dell'intero tracciato EEG. Questa prima visione permette di osservare l'andamento globale dell'attività cerebrale e la distribuzione temporale dei CLB lungo il tracciato. Accanto alla figura sono implementate diverse funzioni di zoom temporale, le quali consentono di restringere l'analisi a specifiche finestre del segnale.

Per migliorare ulteriormente l'analisi visiva, il software permette la regolazione dinamica della scala verticale dell'ampiezza EEG. Tale operazione risulta particolarmente utile nei tracciati caratterizzati da elevata variabilità di ampiezza. Inoltre, in questo modo è possibile ricondursi a un'ampiezza familiare per l'utente anche in casi di fattori di amplificazione diversi nella fase di acquisizione del segnale.

2.4.6 Modalità di Salvataggio dei Dati

La gestione e il salvataggio dei dati sono una fase fondamentale all'interno del sistema diagnostico sviluppato. La privacy del paziente è un aspetto da considerare con molta attenzione; per questo il software è stato progettato per gestire gli output calcolati in due modi separati in maniera automatica. In entrambi i casi i dati vengono organizzati in directory dedicate sulla base delle informazioni identificative inserite dall'utente, come nome del paziente, ID e data della visita. In questo modo viene mantenuta una separazione tra i diversi casi clinici ed eventuali follow-up.

A livello computazionale il sistema utilizza una struttura gerarchica di cartelle seguendo una directory principale. Le cartelle sono divise in due macrocategorie, ovvero quella utilizzabile dal personale medico, contenente anche i dati sensibili del paziente, e un'altra in cui vengono inseriti solo i dati processati in uscita dall'algoritmo.

Nel primo caso, all'interno della cartella del singolo esame vengono inseriti:

- dati anagrafici del paziente;
- informazioni cliniche e sintomatologiche;
- file EEG originali;
- risultati dell'analisi automatica;
- immagini dei tracciati EEG;
- report finale in formato HTML.

Il report finale HTML ha come scopo quello di raccogliere, organizzare e presentare tutti i dati clinici e i risultati dell'analisi del paziente, come si vede in Figura 2.7.

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.

Diagnostic Tests

Test	Notes
✓ Neuroimaging	La RM ha identificato edema corticale frontale e temporale. Non sono presenti lesioni emorragiche aggraviate
✓ Blood test	PCR 65 mg/L

Therapy

Drug 1: Aciclovir

Dosage: 10 mg/kg per dose

Frequency: ogni 8 ore

Start Date: 2026-02-14

End Date: 2026-03-21

Notes: Il paziente riporta nausea, lieve cefalea e affaticamento generale durante la somministrazione del farmaco.

EEG Analysis Summary

Number of Channels:	15	Waveforms Detected:	660
SBC Frequency:	44.90 SBCs/minute	SBC appears every:	1.34 seconds
Recording Duration:	14.70 minutes		

EEG Rhythm Power Analysis:

Overall Relative Power:	Power 2s before SBCs:
Delta: 88.45%	Delta: 61.11%
Theta: 8.43%	Theta: 6.24%
Alpha: 1.70%	Alpha: 1.10%
Beta: 1.78%	Beta: 1.42%

Waveforms per Channel:

Fp2-C4: 128, C4-T4: 29, T4-O2: 36, Fp3-C3: 91, C3-T3: 88, T3-O1: 31, T4-C4: 27, C4-C3: 53, C4-C2: 28, F4-C4: 133, C4-Pz: 38, EC52+ 8, P8A+ 8, EC53+ 8

Figure 2.7: Esempio di report clinico strutturato in formato HTML relativo ad un paziente.

L'organizzazione in formato HTML consente di visualizzare i risultati dell'indagine direttamente tramite browser senza l'ausilio di software aggiuntivi.

Per quanto riguarda la cartella con i risultati in formato anonimo, essa contiene file di testo con all'interno i parametri di output provenienti dall'algoritmo e i dati clinici fondamentali del paziente. L'identificazione del paziente relativo al singolo esame avviene attraverso codici univoci per ogni singola persona, in modo tale da poter svolgere analisi anche sui follow-up.

Questo approccio è stato fondamentale per poter svolgere un'analisi quantitativa in fase di validazione con il dataset proveniente dall'Ospedale Regina Margherita senza violare la privacy dei pazienti.

Chapter 3

Risultati

Questo capitolo offre un'analisi quantitativa dei risultati ottenuti dall'utilizzo del software sviluppato. L'obiettivo è quello di verificare e validare la bontà della rilevazione automatica dei CLB secondo gli studi sviluppati precedentemente. La ricerca offre una caratterizzazione dei tracciati EEG appartenenti allo studio retrospettivo utilizzato come riferimento sperimentale e anche un'analisi approfondita sui pazienti visitati presso l'Ospedale Regina Margherita. Tutti segnali sono stati sottoposti allo stesso trattamento sviluppato nei capitoli precedenti in modo da non creare discrepanze nella soluzione.

I risultati ottenuti sono stati analizzati prendendo in considerazione tutti i parametri estratti dal software in modo tale da investigare su diversi aspetti, tra cui la distribuzione temporale degli eventi patologici, le caratteristiche morfologiche delle forme d'onda, i parametri spettrali e la localizzazione spaziale dei pattern identificati. Una particolare attenzione è stata data al valore quantitativo dei dati in correlazione alla severità della patologia, con l'obiettivo di rendere l'algoritmo un giudice oggettivo dello stato neurologico del paziente tramite le feature estratte.

L'integrazione di algoritmi di signal processing, metodi di analisi quantitativa e strumenti di visualizzazione ha reso possibile sviluppare una pipeline completa per l'elaborazione dei segnali EEG, capace di coniugare analisi automatica e supervisione clinica. I risultati discussi nei paragrafi successivi permettono quindi di valutare sia le prestazioni tecniche del sistema proposto sia la sua effettiva utilità e trasferibilità nella pratica neurologica quotidiana.

3.1 Analisi della distribuzione spaziale dei CLB

L'analisi della distribuzione spaziale dei CLB è stata condotta con lo scopo di valutare la distribuzione anatomica e verificare la tendenza di quest'ultimi a localizzarsi in regioni specifiche dello scalpo. In particolare, è stata posta una particolare attenzione al confronto tra regioni frontali e il resto della corteccia, in modo tale da verificare le evidenze sperimentali degli studi pregressi con il dataset a disposizione.

Per ciascuna registrazione sono stati presi in considerazione i parametri di durata temporale dell'acquisizione e il numero di CLB associati ad ogni canale utilizzato

nelle registrazioni. L'esame strumentale è stato svolto seguendo le indicazioni del sistema internazionale 10-20 con tre tipi di montaggi differenti. Per ogni montaggio sono stati identificati canali attribuibili alla zona frontale dello scalpo e un restante insieme di canali che invece sono stati considerati come "Altro", ovvero sezioni che comprendono le regioni temporali, centrali, parietali e occipitali. I canali classificati come appartenenti alle regioni frontali sono Fp2-F4, Fp2-F8, Fp1-F3, Fp1-F7, Fp2-C4, Fp1-C3.

Considerando una variabilità nella durata di ogni acquisizione del segnale EEG e anche nel numero di canali utilizzati, si è scelto di introdurre una procedura di normalizzazione in modo tale da rendere confrontabili i dati tra soggetti differenti. Seguendo questa direzione, l'attività dei CLB è stata espressa secondo questa legge:

$$\text{Tasso CLB} = \frac{\text{numero di CLB}}{\text{Durata in minuti} \times \text{Numero di canali}}$$

In questo modo si elimina la variabilità introdotta dalla scelta del montaggio e dalla durata temporale dell'acquisizione EEG, garantendo una migliore confrontabilità fra registrazioni diverse.

Partendo da questa normalizzazione sono stati calcolati per ogni soggetto appartenente al dataset:

- un tasso medio di CLB nelle regioni frontali;
- un tasso medio di CLB nelle altre regioni corticali.

Le scelte intraprese nell'analisi statistica sono state guidate anche dall'effettivo numero di pazienti analizzati ($n=10$) e dalla forte variabilità nella quantità di registrazioni effettuate tra un soggetto e un altro. Considerando un numero di pazienti limitato e una forte eterogeneità interindividuale dei tassi di CLB, con valori spesso asimmetrici e differenze di ampiezza considerevoli, l'utilizzo di un test parametrico basato sull'assunzione di normalità potrebbe non rivelarsi una scelta ottimale per garantire una robustezza efficace nell'analisi.

Per queste ragioni è stato scelto il test di Wilcoxon per ranghi con segno per campioni appaiati, un metodo statistico non parametrico particolarmente adatto all'analisi di dati biologici paired. Si tratta di un test che controlla se le differenze tra due condizioni appaiate sono centrate e simmetriche intorno allo zero, evitando di imporre assunzioni sulla distribuzione dei dati.

A livello operativo, per ciascun paziente è stata calcolata la differenza fra i due tassi, frontali e non frontali, di CLB; dopodiché le differenze pari a zero vengono escluse dall'analisi, mentre le restanti vengono ordinate in base al loro valore assoluto e convertite in ranghi. A ogni rango viene quindi assegnato il segno positivo o negativo della differenza originaria. Se le differenze positive e negative tendono a compensarsi, il test non evidenzia una prevalenza significativa di una condizione rispetto all'altra; al contrario, una predominanza sistematica di differenze positive o negative produce un valore statisticamente significativo.

L'analisi è stata implementata in MATLAB seguendo due diverse tipologie di test:

- un test bilaterale, volto a verificare l'esistenza di una differenza significativa tra regioni frontali e non frontali senza assumere una direzione specifica;
- un test unilaterale con ipotesi alternativa Frontale $>$ Altro, finalizzato a verificare specificamente l'ipotesi di una maggiore frequenza dei CLB nelle regioni frontali.

Il livello di significatività preso in considerazione è di $\alpha = 0.05$ e i risultati sono stati interpretati secondo le convenzioni statistiche standard, considerando:

- $p < 0.05$ significativo;
- $p < 0.01$ molto significativo;
- $p < 0.001$ altamente significativo.

I risultati hanno mostrato un tasso medio di CLB frontali superiore al resto in 8 pazienti su 10 (80%), mentre soltanto due pazienti hanno evidenziato un andamento opposto rispetto a quello atteso. Questo risultato mostra una tendenza generale verso una predominanza frontale della localizzazione dei CLB rilevati, ma rimane una certa variabilità individuale non trascurabile.

Dal confronto è stato rilevato che la mediana del tasso di CLB nelle regioni frontali è pari a 0.964 CLB/min/canale, mentre quella correlata alle altre regioni corticali risulta pari a 0.672 CLB/min/canale. Il rapporto tra le due mediane è quindi circa 1.43; ciò significa che il tasso dei CLB in regione frontale risulta mediamente superiore del 43% rispetto alle altre zone cerebrali. Questo dato conferma un'attività patologica distribuita in modo non uniforme sullo scalpo. Quest'analisi è rappresentata anche nella Figura 3.1, in cui viene raffigurato un boxplot relativo ai dati dei pazienti analizzati.

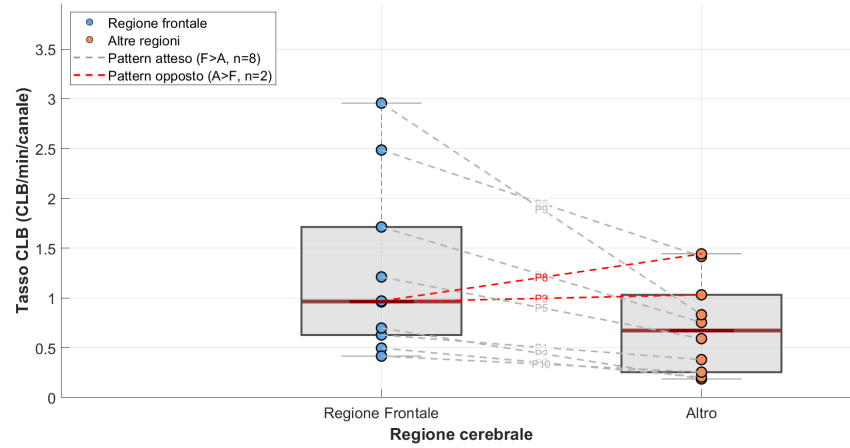


Figure 3.1: La figura illustra la distribuzione dei tassi medi di CLB nelle regioni frontali (punti blu) e nelle altre regioni corticali (punti arancioni) tramite boxplot con dati appaiati. I punti individuali, collegati da linee tratteggiate, permettono di osservare il confronto intra-individuale tra le due aree cerebrali. Le linee grigie rappresentano il pattern atteso, con valori mediamente più elevati nelle regioni frontali rispetto alle altre regioni ($F > A$, $n = 8$), mentre le linee rosse evidenziano i pazienti che mostrano un andamento opposto ($A > F$, $n = 2$).

Il test bilaterale di Wilcoxon ha dato come risultato $p = 0.02734$; perciò, essendo il valore al di sotto della soglia convenzionale di significatività, si può affermare che esiste una differenza statisticamente significativa tra i tassi di CLB registrati nelle regioni frontali e quelli osservati nelle altre regioni corticali. Anche il test unilaterale, eseguito con ipotesi alternativa Frontale $>$ Altro, ha mostrato lo stesso esito, con un valore di $p = 0.01367$. Questo risultato rafforza ulteriormente l'ipotesi sperimentale in esame.

Nel complesso, il test ha fornito esito positivo alla tendenza dei CLB a focalizzarsi nelle regioni frontali. Nonostante una numerosità campionaria ridotta, sia il test bilaterale che quello unilaterale hanno fornito un supporto all'interpretazione fisiopatologica proposta. Di conseguenza, i parametri spaziali estrapolati dal software sono stati considerati validi al fine di aiutare l'analisi strumentale per soggetti encefalitici.

3.2 Analisi correlazione tra frequenza di comparsa e RMS

Un altro aspetto interessante che è stato osservato è la relazione fra l'ampiezza espressa tramite RMS cumulativa e la frequenza di comparsa dei CLB. Per esprimere questa correlazione è stata studiata la correlazione di Spearman, implementata in MATLAB, per ogni paziente relativo ai tracciati disponibili. L'obiettivo era quello di valutare un'effettiva tendenza monotona tra l'intervallo temporale di comparsa dei CLB e l'ampiezza RMS associata, in modo tale da verificare se l'attività patologica più frequente fosse effettivamente associata a un incremento dell'energia dei CLB.

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

quantitative. A differenza della correlazione lineare di Pearson, essa non richiede l'assunzione di normalità dei dati né l'esistenza di una relazione lineare tra le variabili, poiché si basa sul confronto dei ranghi dei valori osservati anziché sui valori assoluti. Il coefficiente di correlazione di Spearman (ρ) assume valori compresi tra -1 e $+1$, dove valori prossimi agli estremi indicano una forte associazione monotona, mentre valori vicini allo zero suggeriscono una relazione debole o assente.

La scelta di questo tipo di test è data dal fatto che una prima visione dei dati ha evidenziato una relazione monotona, ma non lineare, caratterizzata da una dispersione maggiore dei punti per intervalli brevi e inferiore per intervalli lunghi. Inoltre, molti tracciati mostravano valori di RMS particolarmente elevati; per questo motivo, l'utilizzo dei ranghi rende la correlazione di Spearman più robusta. I valori di p associati sono stati calcolati mediante approssimazione asintotica t-Student secondo la legge:

$$t = \rho \sqrt{\frac{n-2}{1-\rho^2}}$$

dove n rappresenta il numero di osservazioni disponibili per ciascun paziente. Il p -value bilaterale è stato successivamente ricavato dalla distribuzione t di Student con $(n-2)$ gradi di libertà.

Per ogni paziente è stato generato un grafico scatter, come si vede in Figura 3.2.

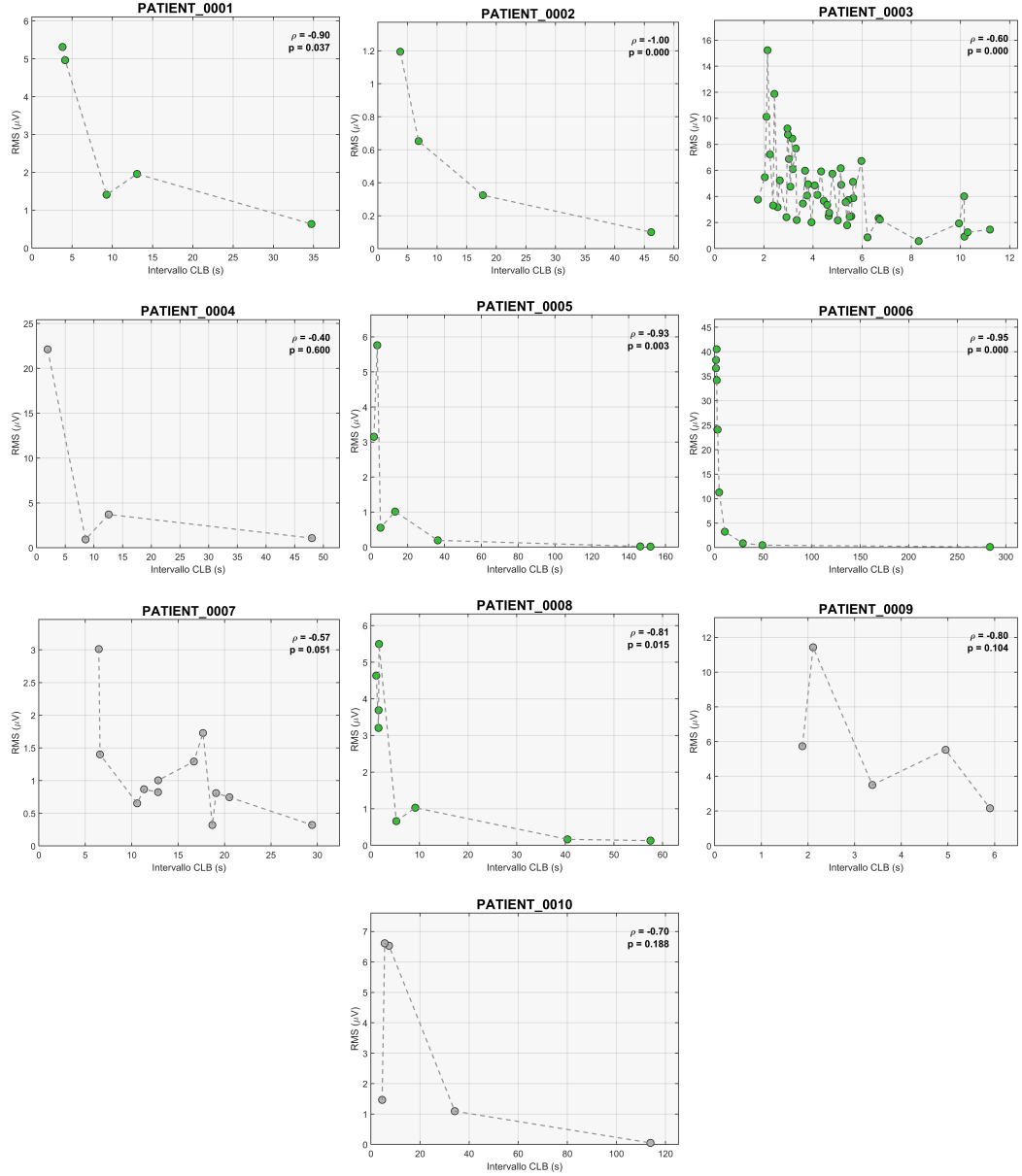


Figure 3.2: Grafico scatter riportante l'analisi della relazione tra l'intervallo dei CLB e l'ampiezza RMS effettuata per ogni paziente. I punti verdi identificano pazienti che mostrano una correlazione negativa statisticamente significativa ($\rho < 0$, $p < 0.05$), mentre i punti grigi indicano pazienti privi di significatività statistica. La linea tratteggiata rappresenta la tendenza generale dei dati per ciascun soggetto.

I risultati mostrano che tutti i pazienti analizzati presentano valori di correlazione ρ negativi, in concordanza con gli studi teorici svolti che suggerivano una relazione inversa tra intervallo di comparsa dei CLB e ampiezza RMS. In particolare, PATIENT_0002 e PATIENT_0006 hanno mostrato correlazioni quasi perfette ($\rho = -1.00$ e $\rho = -0.95$, rispettivamente), entrambe statisticamente significative ($p < 0.05$). Anche PATIENT_0001, PATIENT_0005 e PATIENT_0008 hanno evidenziato correlazioni negative forti e significative, con valori di ρ compresi tra -0.81 e -0.93 .

Al contrario, alcuni pazienti hanno presentato correlazioni negative moderate

ma non statisticamente significative, come PATIENT_0003 ($\rho = -0.57$, $p = 0.051$), PATIENT_0007 ($\rho = -0.57$, $p = 0.056$) e PATIENT_0010 ($\rho = -0.70$, $p = 0.233$). L'assenza di significatività statistica in questi casi è verosimilmente attribuibile alla ridotta numerosità campionaria disponibile per singolo paziente e/o a una maggiore variabilità intra-individuale, che può attenuare la capacità di rilevare un'associazione stabile.

I risultati dell'analisi suggeriscono la presenza di un legame tra frequenza di comparsa dei CLB e incremento dell'energia del segnale EEG. Anche se il test non risulta uniforme nell'intera popolazione analizzata, probabilmente a causa del pool di visite tra pazienti non sempre sufficiente a condurre un'analisi efficace. Inoltre, è stato effettuato un test binomiale sull'intera popolazione. L'ipotesi nulla assumeva una probabilità pari a 0.5 di osservare casualmente una correlazione negativa significativa in ciascun soggetto. Il test ha mostrato un esito negativo con un valore $p = 0.377$, non raggiungendo una significatività statistica globale. Questo suggerisce che il fenomeno possa essere influenzato da una marcata eterogeneità interindividuale, potenzialmente associata a differenti caratteristiche anatomiche, genetiche o a diversi stadi evolutivi della patologia.

3.3 Dinamica delle bande EEG

Al fine di caratterizzare le modificazioni dello spettro nel segnale EEG, è stata analizzata la distribuzione della potenza relativa delle quattro bande di frequenza EEG canoniche in una finestra temporale di due secondi immediatamente precedente ciascun evento. Tale finestra pre-evento è stata sistematicamente confrontata con la composizione spettrale dell'intera sessione di registrazione corrispondente, assunta come baseline soggetto-specifica. L'obiettivo primario era verificare se il rallentamento corticale diffuso, caratteristico dell'encefalite, subisse un'ulteriore accentuazione transitoria nel periodo immediatamente precedente un CLB.

Le variazioni nelle bande delta, theta, alpha e beta sono state quantificate come differenza percentuale tra la potenza relativa misurata nella finestra pre-CLB e quella stimata sull'intero tracciato EEG. La significatività statistica è stata valutata mediante t-test a un campione rispetto allo zero, con ipotesi nulla di assenza di modulazione spettrale sistematica pre-evento. Le distribuzioni individuali sono state visualizzate tramite boxplot per paziente, per consentire la valutazione congiunta della tendenza a livello di gruppo e della variabilità inter-soggetto; un boxplot aggregato a quattro bande è stato inoltre calcolato per offrire una rappresentazione sinottica del pattern complessivo di riorganizzazione spettrale.

La banda delta ha mostrato la modificazione spettrale più pronunciata tra le quattro componenti di frequenza esaminate. L'analisi dei boxplot per paziente, presente in Figura 3.3, evidenzia uno spostamento positivo della distribuzione rispetto alla baseline in quasi tutti i soggetti, con incrementi particolarmente marcati nei pazienti 2, 7 e 8. Il paziente 2 risulta particolarmente indicativo: il range interquartile è fortemente spostato verso l'alto, con una mediana che si avvicina al +5%, e l'ampia

dispersione della distribuzione indica una considerevole variabilità nella magnitudo dell'incremento delle onde lente tra eventi successivi.

A livello di gruppo, la banda delta ha evidenziato un incremento medio di $+1,76\%$ ($\pm 2,15\%$), con statistica $t = 8,62$ ($p < 0,001$). L'elevata significatività e la dimensione dell'effetto relativamente ampia, considerata la finestra di analisi di soli due secondi, sono coerenti con l'ipotesi di un'amplificazione sistematica e transitoria dell'attività a onde lente nel periodo immediatamente precedente i CLB. La deviazione standard relativamente elevata indica tuttavia che l'intensità di questo aumento pre-evento è altamente variabile tra pazienti e sessioni di registrazione, precludendo una generalizzazione diretta.

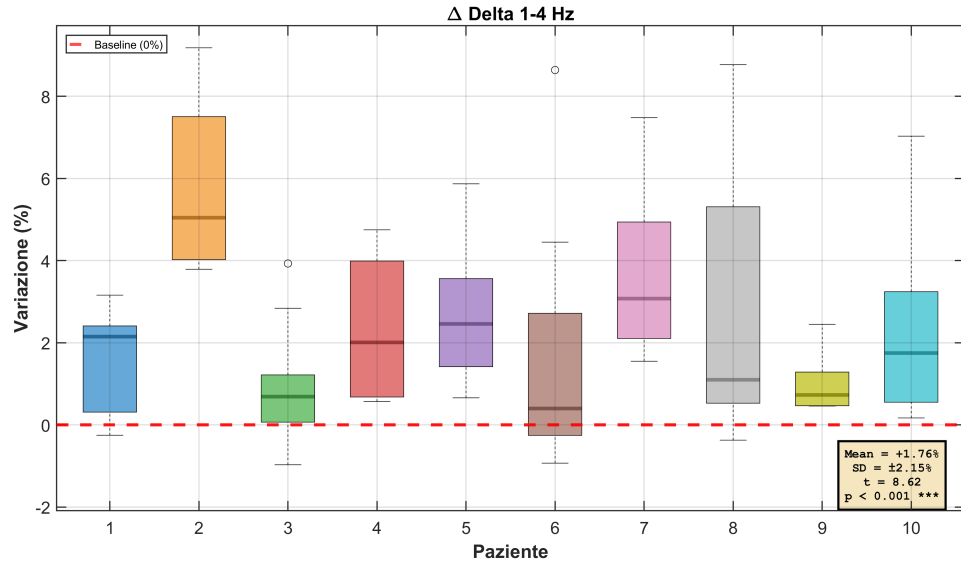


Figure 3.3: Boxplot relativi alla variazione percentuale della banda delta nella finestra pre-CLB rispetto alla baseline EEG, suddivisi per paziente.

La banda theta ha mostrato un comportamento qualitativamente distinto e meno omogeneo rispetto alle restanti componenti spettrali. Sebbene la distribuzione aggregata fosse orientata verso valori negativi, l'analisi per paziente in Figura 3.4 ha rivelato una sostanziale eterogeneità inter-soggetto: alcuni soggetti, come il 2, hanno presentato distribuzioni ampie e decisamente negative, mentre altri, in particolare il 3, si sono mantenuti prossimi alla baseline, e il 10 ha mostrato un range eccezionalmente ampio, con valori outlier sia in direzione positiva che negativa. La presenza di estremi in entrambe le direzioni sottolinea l'instabilità di questa componente di frequenza all'interno del tracciato.

La media di gruppo è risultata pari a $-0,59\%$ ($\pm 1,42\%$), statisticamente significativa con $t = -4,39$ ($p < 0,001$). Nonostante la significatività, questo risultato deve essere interpretato con cautela alla luce dell'elevata varianza intra-gruppo. La banda theta potrebbe essere suscettibile a fattori dinamici soggetto-specifici che la rendono un biomcatore spettrale meno affidabile dello stato pre-CLB, se considerata isolatamente. Questi dati suggeriscono che la modulazione della banda theta, pur presente a livello di popolazione, possa richiedere una calibrazione paziente-specifica

per acquisire valenza diagnostica.

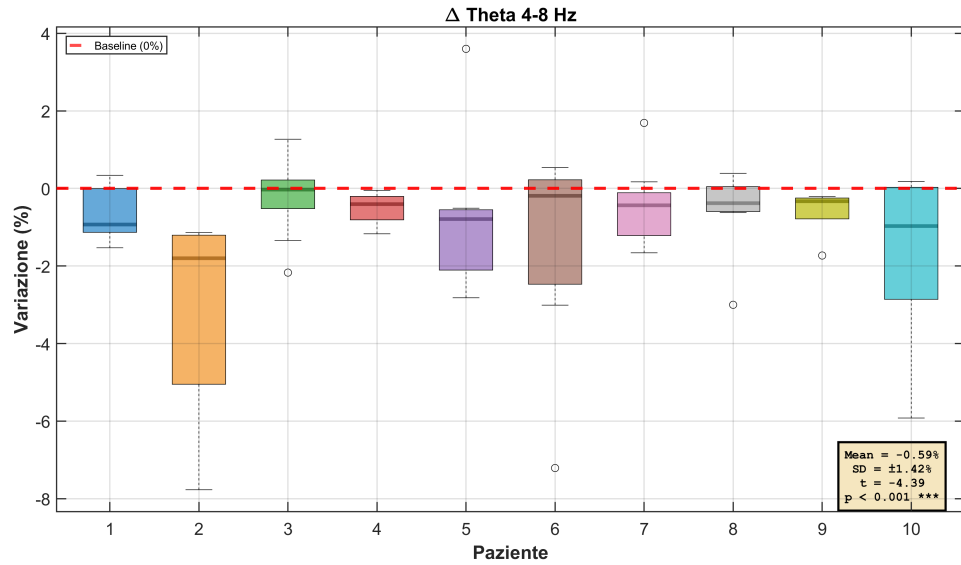


Figure 3.4: Boxplot relativi alla variazione percentuale della banda theta nella finestra pre-CLB rispetto alla baseline EEG, suddivisi per paziente.

A differenza della banda theta, la componente alpha ha mostrato un pattern di soppressione pre-evento considerevolmente più uniforme. Come illustrato nella Figura 3.5, le distribuzioni per paziente sono prevalentemente collocate al di sotto della linea di riferimento della baseline, con la maggior parte dei soggetti che presenta valori mediani chiaramente negativi. I pazienti 2 e 8 hanno evidenziato le riduzioni più marcate, con range interquartili inferiori a -1% , e il paziente 8 ha mostrato valori estremi che in alcuni eventi raggiungono livelli prossimi a -5% .

L'analisi di gruppo ha restituito una variazione media di $-0,57\%$ ($\pm 1,05\%$), con $t = -5,73$ ($p < 0,001$). La deviazione standard relativamente ridotta rispetto alle bande delta e theta riflette la maggiore uniformità cross-soggetto di questo fenomeno. La consistenza di questo riscontro tra pazienti con profili clinici differenti suggerisce che la soppressione dell'alpha possa rappresentare un correlato elettrofisiologico maggiormente generalizzabile dello stato pre-CLB rispetto alle bande a frequenza più bassa.

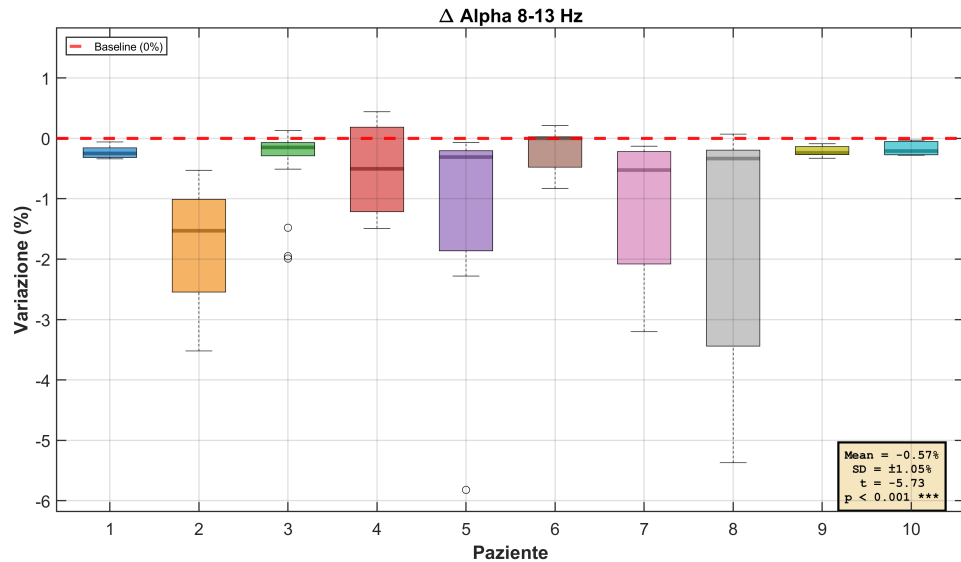


Figure 3.5: Boxplot relativi alla variazione percentuale della banda alpha nella finestra pre-CLB rispetto alla baseline EEG, suddivisi per paziente.

La banda beta ha fornito il segnale più omogeneo e statisticamente robusto dell'intera analisi. L'esame dei boxplot per paziente in Figura 3.6 mostra distribuzioni stabilmente e sostanzialmente al di sotto della baseline in quasi tutti i soggetti, con riduzioni particolarmente marcate nei pazienti 4 e 7, i cui range interquartili si estendono rispettivamente al di sotto di -2% e -3% . A differenza delle bande delta e theta, che hanno presentato una variabilità inter-paziente considerevole, la banda beta ha mantenuto uno spostamento negativo stabile indipendentemente dalle differenze individuali nella presentazione clinica o nelle caratteristiche della registrazione.

La variazione media osservata è pari a $-0,61\%$ ($\pm 0,82\%$), con la deviazione standard più ridotta tra tutte le bande esaminate, e una statistica $t = -7,80$ ($p < 0,001$), il valore assoluto più elevato dell'intera analisi. Questi parametri indicano collettivamente che la soppressione beta precedente i CLB è non solo statisticamente affidabile, ma anche quantitativamente consistente tra i soggetti. Tale interpretazione sarebbe compatibile con uno stato transitorio di ridotto controllo inibitorio corticale immediatamente prima dell'insorgenza del CLB.

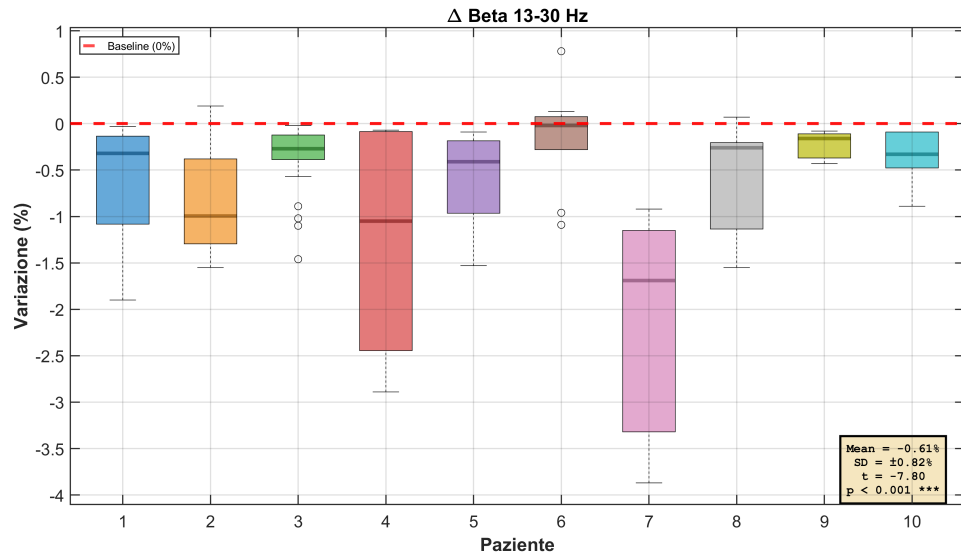


Figure 3.6: Boxplot relativi alla variazione percentuale della banda beta nella finestra pre-CLB rispetto alla baseline EEG, suddivisi per paziente.

Il boxplot aggregato a quattro bande in Figura 3.7 offre una rappresentazione sintetica della riorganizzazione spettrale complessiva nella finestra pre-CLB e conferma visivamente il pattern emerso dalle analisi per singola banda. La distribuzione delta è l'unica con mediana chiaramente al di sopra dello zero, mentre theta, alpha e beta risultano tutte dislocate al di sotto della baseline di riferimento, con range interquartili progressivamente più stretti passando dalla theta alla beta. Questa configurazione è compatibile con uno spostamento transitorio verso la dominanza delle frequenze lente immediatamente prima di ciascun evento, una firma spettrale coerente con uno stato di destabilizzazione corticale sovrapposto al rallentamento cronico di fondo dell'encefalite.

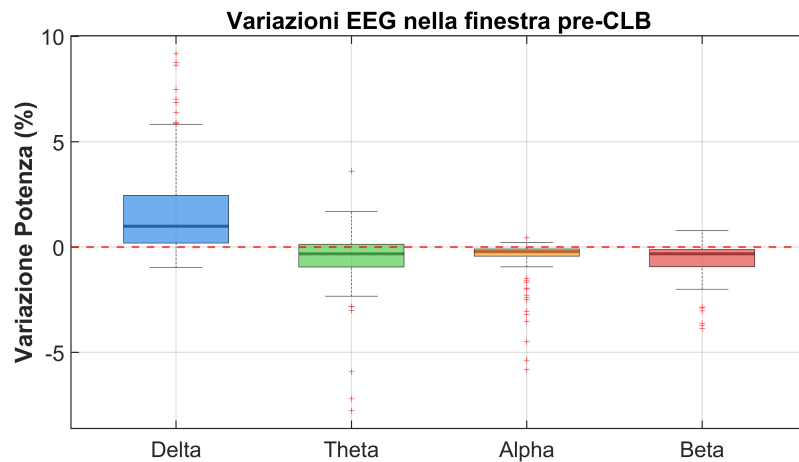


Figure 3.7: Boxplot aggregato delle variazioni percentuali delle bande delta, theta, alpha e beta nella finestra pre-CLB rispetto alla baseline EEG.

Nel loro insieme, questi risultati forniscono evidenza elettrofisiologica del fatto che l'insorgenza dei CLB nell'encefalite è preceduta da una riorganizzazione spettrale strutturata e statisticamente robusta. La coerenza di tale pattern tra pazienti con

profili clinici eterogenei ne sostiene la rilevanza neurobiologica, mentre la sostanziale variabilità inter-soggetto, in particolare nelle bande a frequenza più bassa, sottolinea la difficoltà di tradurre queste osservazioni a livello di gruppo in strumenti predittivi applicabili al singolo paziente.

Banda EEG	Variazione media (%)	DS (%)	t / p
Delta (1–4 Hz)	+1,76	$\pm 2,15$	$t = 8,62 / p < 0,001^{***}$
Theta (4–8 Hz)	–0,59	$\pm 1,42$	$t = -4,39 / p < 0,001^{***}$
Alpha (8–13 Hz)	–0,57	$\pm 1,05$	$t = -5,73 / p < 0,001^{***}$
Beta (13–30 Hz)	–0,61	$\pm 0,82$	$t = -7,80 / p < 0,001^{***}$

Table 3.1: Riepilogo delle variazioni di potenza delle bande EEG nella finestra pre-CLB di due secondi rispetto alla baseline dell'intera registrazione. I valori rappresentano la variazione percentuale media $\pm$ deviazione standard. La significatività statistica è stata valutata mediante t-test a un campione (H_0 : media = 0). *** $p < 0,001$.

3.4 Relazione tra frequenza di comparsa dei CLB e gravità clinica dell'encefalite

Al fine di valutare la correlazione tra la gravità clinica della patologia e la frequenza di comparsa dei CLB, è stata condotta un'analisi statistica basata sul coefficiente di correlazione di Spearman tramite software MATLAB. Come per l'analisi della correlazione tra RMS e frequenza di comparsa, è stato scelto un approccio non parametrico a causa della distribuzione asimmetrica dei dati e della limitatezza del numero di campioni utilizzati. Infatti, sono stati scelti solo i tracciati corredati da una valutazione di gravità a quattro livelli (1-4), per un totale di 96 tracciati considerati validi. La frequenza di comparsa è stata valutata come il rateo di occorrenza dei CLB all'interno del tracciato.

La significatività statistica del coefficiente di Spearman ρ è stata verificata mediante un test bilaterale, con soglia $\alpha = 0,05$. Inoltre, è stato inserito il calcolo di un intervallo di confidenza al 95% mediante procedura bootstrap per quantificare l'incertezza della stima, il quale non richiede ipotesi sulla distribuzione dei residui.

L'analisi ha evidenziato una correlazione positiva statisticamente significativa tra la frequenza di comparsa dei CLB e il punteggio di gravità dell'encefalite ($\rho = 0,470$, $p < 0,001$, IC95% bootstrap = [0,613; 0,292]). Questo risultato mette in risalto il fatto che a livelli di gravità più elevati corrisponde un aumento dell'attività patologica, in particolare un aumento proporzionale del tasso di comparsa dei CLB all'interno del tracciato EEG.

L'ampiezza del coefficiente ($\rho = 0,470$) indica un'associazione di intensità moderata, il che riflette la variabilità biologica interindividuale e intra-individuale tipica di una patologia eterogenea quale l'encefalite. Tuttavia, l'intervallo di confidenza al 95% [0,292; 0,613] esclude il valore nullo, confermando la robustezza e la riproducibilità della correlazione osservata. Il valore p estremamente ridotto ($p < 0,001$) indica

che la probabilità di osservare una correlazione di tale entità per effetto del caso è trascurabile.

Nella Figura 3.8 viene illustrata con un grafico la relazione appena descritta, in cui a livelli di gravità più bassi (punteggio 1) la distribuzione dei tassi di comparsa è compatta e concentrata attorno a valori di frequenza ridotti (mediana circa 0,17 CLB/s), mentre all'aumentare della valutazione di gravità la media cresce in modo progressivo, raggiungendo valori attorno a 0,40 CLB/s nei tracciati con gravità massima (punteggio 4). Anche la dispersione verticale tende ad aumentare con la gravità della patologia, riflettendo l'eterogeneità della risposta elettrofisiologica tra pazienti in fasi diverse della malattia e con eziologie differenti. La linea rossa che collega le medie per livello di gravità mostra un andamento monotono crescente, coerente con il segno positivo del coefficiente di Spearman.

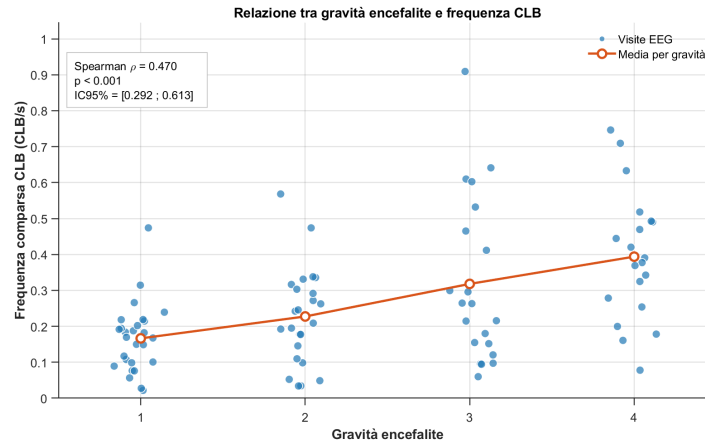


Figure 3.8: Relazione tra gravità clinica dell'encefalite e frequenza di comparsa dei CLB. La distribuzione dei tassi di comparsa è mostrata per ciascun livello di gravità mediante boxplot/scatter plot, mentre la linea rossa rappresenta l'andamento medio crescente della frequenza dei CLB all'aumentare della gravità clinica.

Nel complesso, questo risultato conferma quanto detto in precedenza, ovvero che la frequenza di comparsa dei CLB rappresenta un indice quantitativo elettrofisiologico sensibile alla gravità del processo neuroinfiammatorio. Questo può essere importante per sviluppare un follow-up clinico del paziente, accompagnato da un aiuto strumentale essenziale per estrapolare informazioni quantitative sul processo evolutivo della patologia.

3.5 Confronto controlli vs patologici

Al fine di valutare la capacità discriminante dei CLB tra soggetti patologici e sani, è stato sviluppato un confronto sistematico tra tracciati EEG di soggetti patologici affetti da encefalite e soggetti sani o di controllo, con attività elettrocerebrale fisiologica. L'analisi è stata svolta mediante parametri quantitativi, con l'utilizzo di un confronto statistico degli outcome di interesse.

Per ognuno dei 10 soggetti patologici presenti nel dataset, è stata scelta la

registrazione corrispondente alla visita con il punteggio di gravità clinica più elevato. Le 10 registrazioni patologiche così ottenute sono state quindi confrontate con le 10 registrazioni dei soggetti di controllo. Per ogni tracciato sono stati estratti due parametri quantitativi, ovvero la frequenza di comparsa e il RMS cumulativo. I parametri sono sintetizzati nella Tabella 3.2.

Paziente	Gruppo	CLB/min	RMS (μV)
1	Patologico	15.88	1.19
2	Patologico	17.76	3.50
3	Patologico	37.92	3.69
4	Patologico	9.29	3.01
5	Patologico	36.64	3.15
6	Patologico	15.24	2.01
7	Patologico	10.69	6.61
8	Patologico	15.73	5.31
9	Patologico	22.16	24.10
10	Patologico	31.07	22.11
11	Controllo	0.26	0.02
12	Controllo	0.00	0.00
13	Controllo	0.61	0.25
14	Controllo	0.00	0.00
15	Controllo	3.84	0.97
16	Controllo	5.11	2.32
17	Controllo	0.19	0.12
18	Controllo	4.17	0.51
19	Controllo	0.55	0.26
20	Controllo	0.06	0.01

Table 3.2: Parametri quantitativi estratti dai tracciati EEG dei soggetti patologici e dei controlli. Per ciascun soggetto sono riportati il tasso di comparsa dei CLB espresso in CLB/min e il valore di RMS cumulativo associato ai complessi rilevati.

Da una prima visione dei parametri si può già intravedere un’eterogeneità intra-gruppo considerevole nel gruppo patologico, con valori di CLB/min compresi tra 9.29 e 37.92 e valori di RMS tra 1.19 e 24.10 μV , a conferma della variabilità clinica tipica dell’encefalite nei diversi stadi evolutivi. Nel gruppo di controllo, la maggioranza dei soggetti presenta conteggi prossimi allo zero, con poche eccezioni che mostrano valori lievemente superiori.

Per confermare le ipotesi formulate e verificare la significatività statistica delle differenze tra i due gruppi è stato svolto il test di Mann–Whitney U. Quest’ultimo consiste in un’alternativa non parametrica al t-test per campioni indipendenti. La scelta di un test non parametrico è motivata dalla ridotta dimensione del campione ($n = 10$ per gruppo) e dall’assenza di garanzie sulla normalità delle distribuzioni. I risultati del test hanno evidenziato una differenza statisticamente significativa

tra i due gruppi di soggetti. In particolare, questo test è stato svolto sia sulla frequenza di comparsa dei CLB sia sul RMS cumulativo dei tracciati. Il primo ha confermato che il tasso di occorrenza nei pazienti patologici è significativamente più elevato rispetto ai controlli, con un valore di $p = 1.817 \times 10^{-4}$. Anche il secondo ha confermato che l'ampiezza dei CLB è superiore nei soggetti patologici, con un valore di $p = 3.281 \times 10^{-4}$.

Di seguito viene esposto un boxplot (Figura 3.9) dei parametri, nel quale sono visibili le differenze tra le distribuzioni dei due gruppi separati. Nel pannello di sinistra il gruppo patologico mostra una mediana di CLB/min pari a circa 17, con un range interquartile molto ampio (circa 16–31 CLB/min); ciò mette in evidenza la variabilità inter-paziente. Il gruppo di controllo presenta invece una distribuzione compressa attorno a valori prossimi allo zero. Nel pannello di destra si presenta una distribuzione analoga, in cui i pazienti patologici mostrano un'ampiezza mediana intorno a 4–5 μV , con due casi di valori particolarmente elevati ($> 20 \mu V$, Pazienti 9 e 10), mentre i controlli si collocano quasi uniformemente sotto 1 μV .

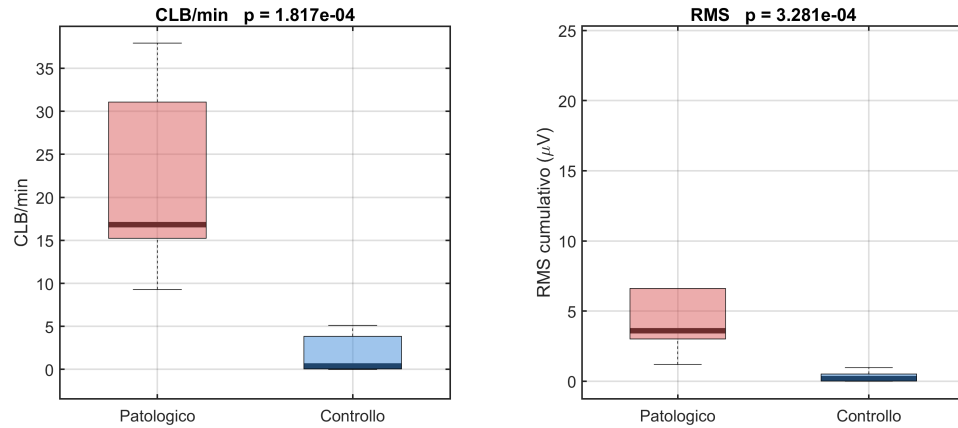


Figure 3.9: Confronto tra soggetti patologici e controlli mediante boxplot dei parametri quantitativi estratti dai tracciati EEG. Nel pannello di sinistra è rappresentata la distribuzione della frequenza di comparsa dei CLB (CLB/min), mentre nel pannello di destra è riportata la distribuzione dell'RMS cumulativo (μV).

3.6 Validazione clinica

Questa sezione è dedicata all'analisi di quattro percorsi clinici reali presenti nel dataset ottenuto presso il reparto di Neurologia Pediatrica dell'Ospedale Regina Margherita di Torino, selezionati per mostrare come il software sia in grado di seguire l'evoluzione della malattia nel tempo, visita dopo visita. Per ogni paziente vengono presentati i parametri quantitativi estratti dall'analisi dei CLB, frequenza di comparsa, valore RMS cumulativo e distribuzione topografica, insieme alle informazioni cliniche disponibili, così da poter verificare se le misure elettrofisiologiche rispecchino effettivamente l'andamento della patologia.

3.6.1 Caso studio 1

All'ingresso in reparto il bambino presentava febbre (38 °C), ipertermia, sintomi gastrointestinali, riduzione del livello di coscienza e crisi convulsive. Per quest'ultimo motivo fu avviata subito la somministrazione di un benzodiazepinico ad azione anticonvulsivante, che venne ripetuta anche nella visita del giorno seguente.

Nelle prime due sedute di registrazione l'algoritmo di rilevamento ha individuato rispettivamente 129 e 116 complessi lenti bifasici, distribuiti su durate di tracciato di circa trentasei e trentaquattro minuti. I valori dell'intervallo inter-pulse mediano, 6,26 s alla prima visita e 9,68 s alla seconda, indicano scariche raggruppate ma non regolari, mentre il coefficiente di variazione elevato conferma la natura sporadica dell'attività. I valori di RMS cumulativo erano rispettivamente pari a 2,07 e 1,37 μV . Sul piano spettrale entrambe le registrazioni mostravano il pattern atteso: nei due secondi precedenti ciascun complesso si registrava un incremento della componente delta e una soppressione contestuale di theta, alfa e beta.

Alla terza visita, a distanza di qualche giorno, il quadro clinico non aveva ancora mostrato variazioni apprezzabili. Il conteggio automatico ha restituito 186 eventi in trentasei minuti, con un IPI medio sceso a 11,61 s, valore che segnala una ricorrenza lievemente più intensa rispetto alle sessioni precedenti, e un RMS cumulativo di 1,74 μV . L'aumento del numero di complessi rispetto alla seconda visita, pur non drammatico, è coerente con la persistenza della sintomatologia.

Il cambiamento più evidente si è prodotto al quarto controllo, effettuato circa un mese dopo l'esordio. A quel punto il trattamento farmacologico aveva determinato un miglioramento clinico sostanziale, che l'analisi EEG ha rispecchiato con precisione: soli 42 eventi in trentasei minuti, IPI medio di 51,43 s, IPI mediano di 28,85 s e RMS cumulativo ridotto a 0,22 μV . La mappa topografica relativa a questa registrazione evidenzia, rispetto alle visite iniziali, una netta riduzione della concentrazione di eventi nelle derivazioni frontali. A conclusione del percorso fu eseguita una risonanza magnetica, che identificò un'area di lieve iperintensità della sostanza bianca, interpretabile come esito residuo dell'episodio infiammatorio.

Visita	Durata (min)	N° CLB	IPI medio (s)	Median IPI (s)	RMS (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

Table 3.3: Parametri quantitativi del Caso Studio 1. Evoluzione dei parametri EEG nel paziente 1 nel corso delle quattro visite cliniche.

3.6.2 Caso studio 2

Un bambino di tre anni si è presentato alla valutazione iniziale con un esordio di sintomi di sole ventiquattro ore: ipertermia (37,5 °C), tachicardia (135 bpm), disturbi

gastrointestinali e crisi convulsive. La risonanza magnetica cerebrale non mostrava alterazioni strutturali, il liquido cerebrospinale era nella norma, escludendo così una meningite batterica diretta, e la PCR ematica risultava lievemente elevata (4,5 mg/L). Fu impostata una terapia a più componenti: antivirale, antibiotico empirico in attesa di colture, corticosteroidi e gastroprotezione.

Il giorno successivo il tampone nasofaringeo è tornato positivo per rhino/enterovirus. L'identificazione dell'agente causale ha consentito di semplificare lo schema terapeutico, interrompendo l'antibiotico, diventato superfluo, e i corticosteroidi, mantenendo soltanto la copertura antivirale.

Le prime due registrazioni EEG riflettevano la fase acuta dell'infezione. Alla prima visita sono stati rilevati 140 CLB in 23,45 minuti, con IPI mediano di 5,89 s e RMS di 3,79 μ V. Alla seconda, eseguita quando la terapia era già stata modificata, il numero di complessi era salito a 180 in soli quindici minuti, con IPI mediano sceso a 2,43 s e RMS pari a 5,30 μ V, il valore massimo registrato per questo paziente nell'intero follow-up. Questo temporaneo picco, in apparenza controintuitivo, potrebbe riflettere la fase di massima attività infiammatoria che precede di qualche ora la risposta clinica al trattamento antivirale.

Alla terza visita, cinque giorni dopo l'esordio, il quadro era radicalmente mutato. Il paziente era asintomatico, senza farmaci in corso, con PCR a 0,3 mg/L. Il software ha rilevato appena 6 eventi in diciotto minuti, con IPI mediano di 105,90 s e RMS di 0,13 μ V, valori confrontabili con quelli osservati nei soggetti di controllo. La distribuzione topografica mostrava, rispetto alle prime due sessioni, una quasi totale assenza di concentrazione nelle derivazioni frontali. La concordanza tra normalizzazione clinica e normalizzazione elettrofisiologica è, in questo caso, particolarmente netta.

Visita	Durata (min)	N° CLB	IPI medio (s)	Median IPI (s)	RMS (μ V)
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	105,90	0,13

Table 3.4: Parametri quantitativi del Caso Studio 2. Evoluzione dei parametri EEG nel paziente 2 nel corso delle tre visite cliniche.

3.6.3 Caso studio 3

Il terzo caso riguarda un lattante di un anno giunto alla valutazione con un quadro clinico di notevole complessità: febbre a 38,5 °C, compromissione respiratoria, sintomi gastrointestinali, manifestazioni cutanee, riduzione della coscienza e crisi convulsive. Il profilo complessivo, insieme alla scelta terapeutica, antibiotico endovenoso ad ampio spettro, corticosteroidi e anticonvulsivante, era orientativo per una meningoencefalite batterica.

Alla prima registrazione il sistema ha individuato 213 CLB in 35,45 minuti (IPI medio 9,99 s, IPI mediano 5,81 s), con una distribuzione spaziale relativamente estesa a diversi canali. L'andamento spettrale mostrava il pattern tipico della patologia

nella finestra pre-evento.

Due giorni più tardi, con la sola antibioticotterapia in corso, la frequenza di comparsa dei complessi era scesa sensibilmente: 40 eventi in 26,20 minuti (IPI medio 39,39 s). Apparentemente un miglioramento. Tuttavia, l'analisi della finestra pre-CLB raccontava qualcosa di diverso: l'incremento della potenza delta nei due secondi precedenti ciascun evento raggiungeva quasi il cinque per cento, il valore più elevato tra tutte le visite di questo paziente. Una sincronizzazione neuronale così intensa, anche in presenza di eventi meno frequenti, suggerisce che il processo infiammatorio fosse ancora in piena attività a livello profondo.

La terza visita, effettuata dopo altri due giorni con lo stesso schema terapeutico, ha mostrato un nuovo incremento del conteggio: 170 CLB in trentuno minuti, concentrati soprattutto nella prima parte della registrazione. L'IPI mediano è tornato a 5,94 s e l'RMS cumulativo a 2,01 μV . Questo andamento non lineare, riduzione alla seconda visita e ripresa alla terza, riflette probabilmente la dinamica più irregolare tipica delle encefaliti batteriche, nelle quali la risposta al trattamento può essere più lenta e meno prevedibile rispetto alle forme virali. Non sono disponibili dati sulle visite successive.

Visita	Durata (min)	N° CLB	IPI medio (s)	Median IPI (s)	RMS (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

Table 3.5: Parametri quantitativi del Caso Studio 3. Evoluzione dei parametri EEG nel paziente 3 nel corso delle tre visite cliniche.

3.6.4 Caso studio 4

Il quarto paziente, di sei anni, si è presentato con sintomi insorti nelle 24 ore precedenti: ipertermia, tachicardia (100 bpm), stato di coscienza alterato e crisi convulsive. Il test per SARS-CoV-2 era positivo, confermando l'eziologia virale. La PCR ematica era pari a 95,2 mg/L, indice di un processo infettivo ancora molto attivo. Nella stessa giornata fu prescritta una combinazione di farmaco anticonvulsivante-sedativo a breve durata e anestetico per la sedazione profonda continua.

La prima registrazione EEG rispecchiava la severità del momento: 114 CLB in 28,33 minuti, circa quattro eventi al minuto, con IPI mediano di 7,76 s e RMS di 1,89 μV . La distribuzione spaziale mostrava una predominanza frontale netta.

Già dalla visita del giorno successivo la situazione clinica sembrava migliorare: le crisi non si ripresentavano, verosimilmente per effetto dei farmaci, e la PCR scendeva a 67,5 mg/L. Il conteggio di CLB si riduceva a 41 in trenta minuti (IPI medio 43,93 s, RMS 0,84 μV). Tuttavia, gli IPI mostravano ancora un'elevata dispersione, segnale di un'attività irregolare.

Nelle due visite successive, a 72 ore e a una settimana dall'esordio, i referti clinici nel fascicolo non riportavano nuovi episodi sintomatici rilevanti. L'analisi EEG, però,

continuava a registrare un numero sostanzioso di eventi bifasici: 220 alla terza visita (RMS 1,98 μV) e 154 alla quarta (RMS 1,60 μV), con frequenze di comparsa che non mostravano la riduzione progressiva osservata negli altri due casi a decorso favorevole.

Una spiegazione è emersa dall'esame di neuroimaging eseguito nell'ultima visita documentata: le immagini hanno mostrato la presenza di noduli di eterotopia corticale periventricolare localizzati tra i corni frontali, condizione congenita dovuta ad un'alterazione della migrazione neuronale caratterizzata da accumuli di sostanza grigia in sede periventricolare, strettamente associata all'epilessia focale. In questo contesto, i CLB rilevati nelle ultime sessioni non possono essere attribuiti unicamente alla flogosi da SARS-CoV-2: la vulnerabilità strutturale conferita dall'eterotopia nodulare periventricolare (PNH) contribuisce in modo indipendente a mantenere un'attività elettrica anomala anche quando il processo infettivo si sta spegnendo. Il caso illustra bene i limiti interpretativi che il software da solo non può superare: senza la lettura integrata con l'imaging e la storia clinica, la persistenza dei CLB avrebbe potuto essere fraintesa come mancata risposta al trattamento antivirale.

Visita	Durata (min)	N° CLB	IPI medio (s)	Median IPI (s)	RMS (μV)
VISITA 1	28,33	114	14,91	7,76	1,89
VISITA 2	30,00	41	43,93	18,02	0,84
VISITA 3	32,00	220	8,73	4,31	1,98
VISITA 4	31,50	154	12,27	5,88	1,60

Table 3.6: Parametri quantitativi del Caso Studio 4. Evoluzione dei parametri EEG nel paziente 4 nel corso delle quattro visite cliniche.

3.6.5 Lettura trasversale dei quattro percorsi

Messi a confronto, i quattro casi offrono un quadro abbastanza articolato di ciò che ci si può aspettare, e di ciò che non si può dare per scontato, nell'uso clinico di un sistema automatico per l'analisi dei complessi lenti bifasici.

Nei pazienti 1 e 2 la corrispondenza tra l'andamento dei parametri EEG e quello clinico è risultata robusta in tutte le fasi del monitoraggio. La riduzione progressiva della frequenza di comparsa e dell'RMS cumulativo ha seguito, con ritardi di ore o al massimo di un giorno, i miglioramenti documentati clinicamente. Nel paziente 2 il picco alla seconda visita, un apparente passo indietro rispetto alla prima, potrebbe rappresentare la fase di massima attività infiammatoria immediatamente prima che la risposta terapeutica si consolidasse. Tale pattern, se confermato su casistiche più ampie, potrebbe avere un valore predittivo.

Il terzo caso ha invece mostrato un andamento più irregolare, senza la traiettoria discendente lineare dei primi due. Questo è coerente con la diversa fisiopatologia di un'encefalite batterica, nella quale la risposta immunitaria e la clearance microbica seguono tempi e dinamiche propri. Il software ha comunque catturato le oscillazioni del processo con fedeltà, restituendo misure numericamente coerenti con i dati clinici disponibili.

Il quarto caso introduce un tema metodologicamente rilevante: la presenza di una condizione neurologica strutturale preesistente può produrre, nei tracciati EEG, attività bifasica che il software identifica correttamente come tale, ma che non deriva dall'encefalite. Questo non rappresenta un difetto dell'algoritmo: l'identificazione è corretta. Rappresenta piuttosto un limite intrinseco di qualsiasi strumento di analisi automatica, che opera su segnali senza accesso alla storia anatomica del paziente. Il contributo del clinico nella fase interpretativa rimane quindi insostituibile.

Sul piano quantitativo, la relazione inversa tra intervallo inter-pulse e ampiezza RMS, osservata a livello di popolazione, si conferma anche a livello individuale: alle visite con maggiore densità di eventi corrispondono sistematicamente valori di RMS più elevati, indipendentemente dall'eziologia e dall'età. L'andamento spettrale pre-evento, caratterizzato da aumento delta e soppressione dei ritmi rapidi, è presente nella quasi totalità delle sessioni analizzate, con la sola eccezione parziale del ritmo theta nel paziente 2 alla prima visita, che mostra un comportamento meno regolare rispetto agli altri ritmi. Questo dato è coerente con la maggiore variabilità inter-individuale del theta già documentata nell'analisi sull'intera coorte.

Nel complesso, l'esperienza raccolta su questi quattro pazienti suggerisce che il sistema sia già in grado di produrre informazioni clinicamente orientative. Segnala in modo affidabile la presenza e l'intensità dell'attività bifasica, ne traccia l'evoluzione nel tempo e identifica i momenti di svolta nel decorso. Perché diventi uno strumento diagnostico consolidato sarà però necessario ampliare la casistica, definire soglie di riferimento validate su popolazioni più estese e quantificare in modo sistematico l'impatto di comorbidità neurologiche sull'output del software. Di seguito una carrellata di immagini relative alle analisi svolte.

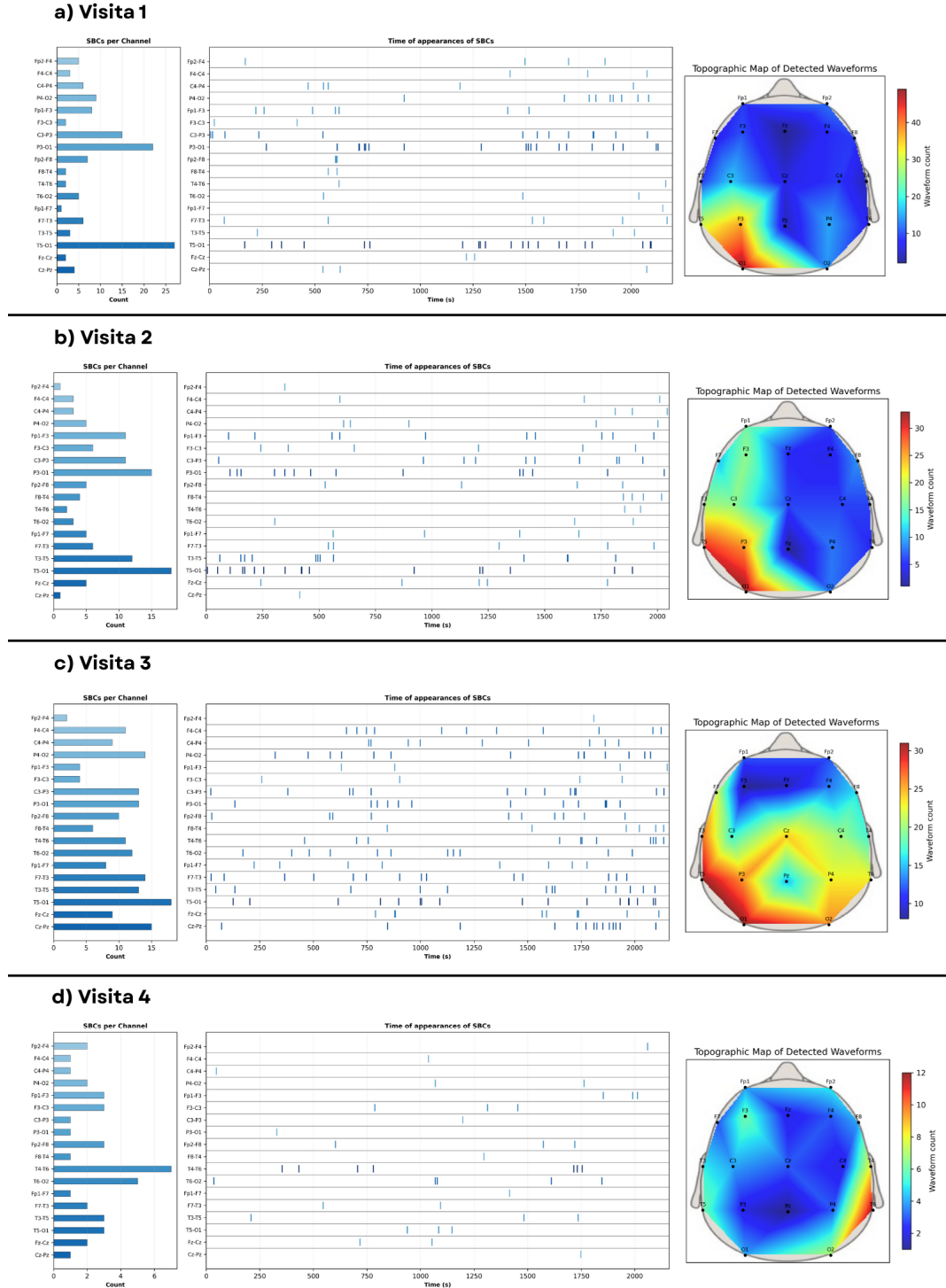


Figure 3.10: Distribuzione spaziale e temporale dei CLB nel Caso Studio 1. Per ciascuna visita vengono riportati il numero di complessi rilevati per canale EEG, la distribuzione temporale degli eventi durante la registrazione e la relativa mappa topografica. Si osserva una progressiva riduzione del numero di CLB e della loro distribuzione spaziale nel corso delle visite, in accordo con il miglioramento clinico del paziente.

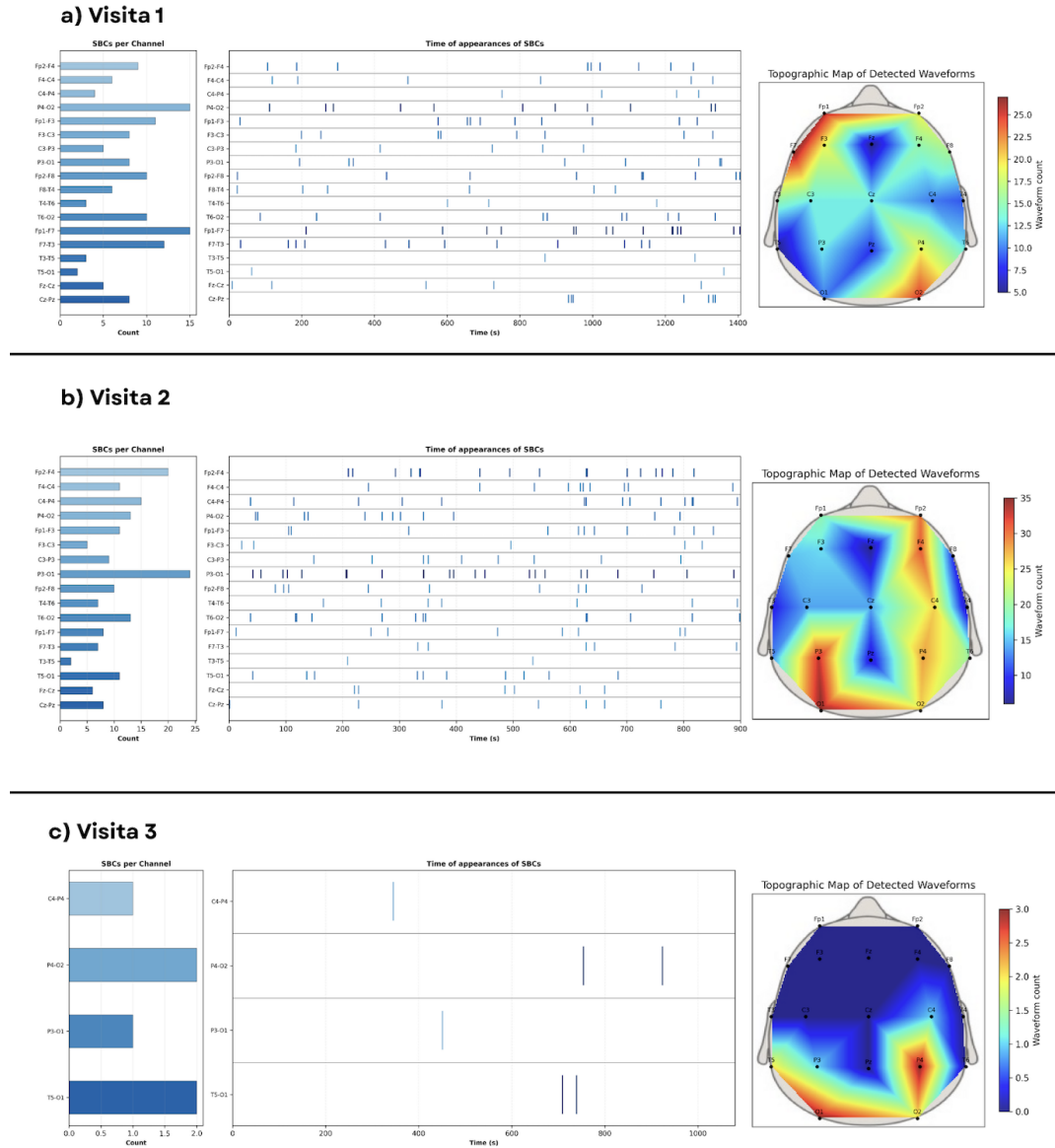
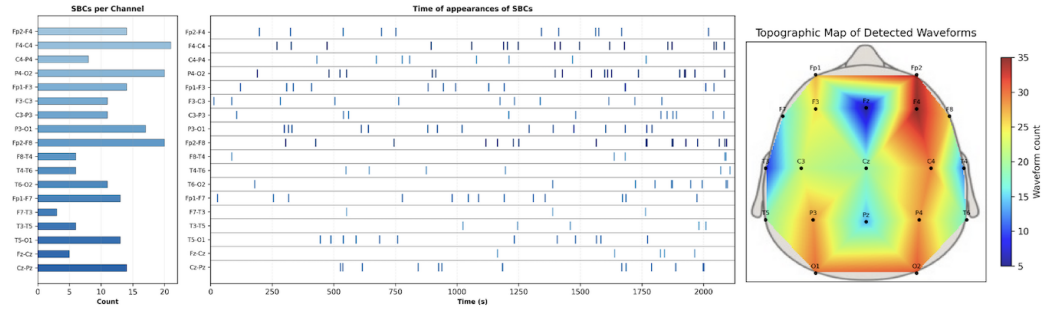
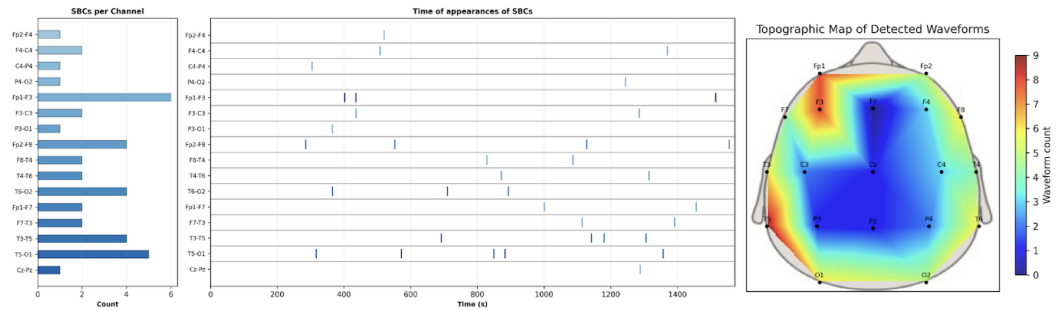


Figure 3.11: Distribuzione spaziale e temporale dei CLB nel Caso Studio 2. La figura mostra l'evoluzione dei complessi lenti bifasici nelle tre visite cliniche del paziente, con rappresentazione del numero di eventi per canale, distribuzione temporale durante il tracciato EEG e mappa topografica di densità.

a) Visita 1



b) Visita 2



c) Visita 3

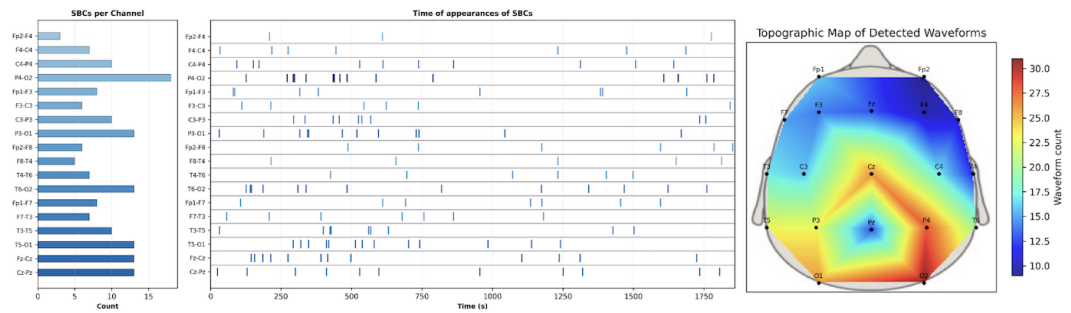


Figure 3.12: Distribuzione spaziale e temporale dei CLB nel Caso Studio 3. Per ogni visita vengono rappresentati il conteggio degli eventi per canale EEG, la distribuzione temporale dei CLB nel tracciato e la relativa mappa topografica di densità degli eventi rilevati.

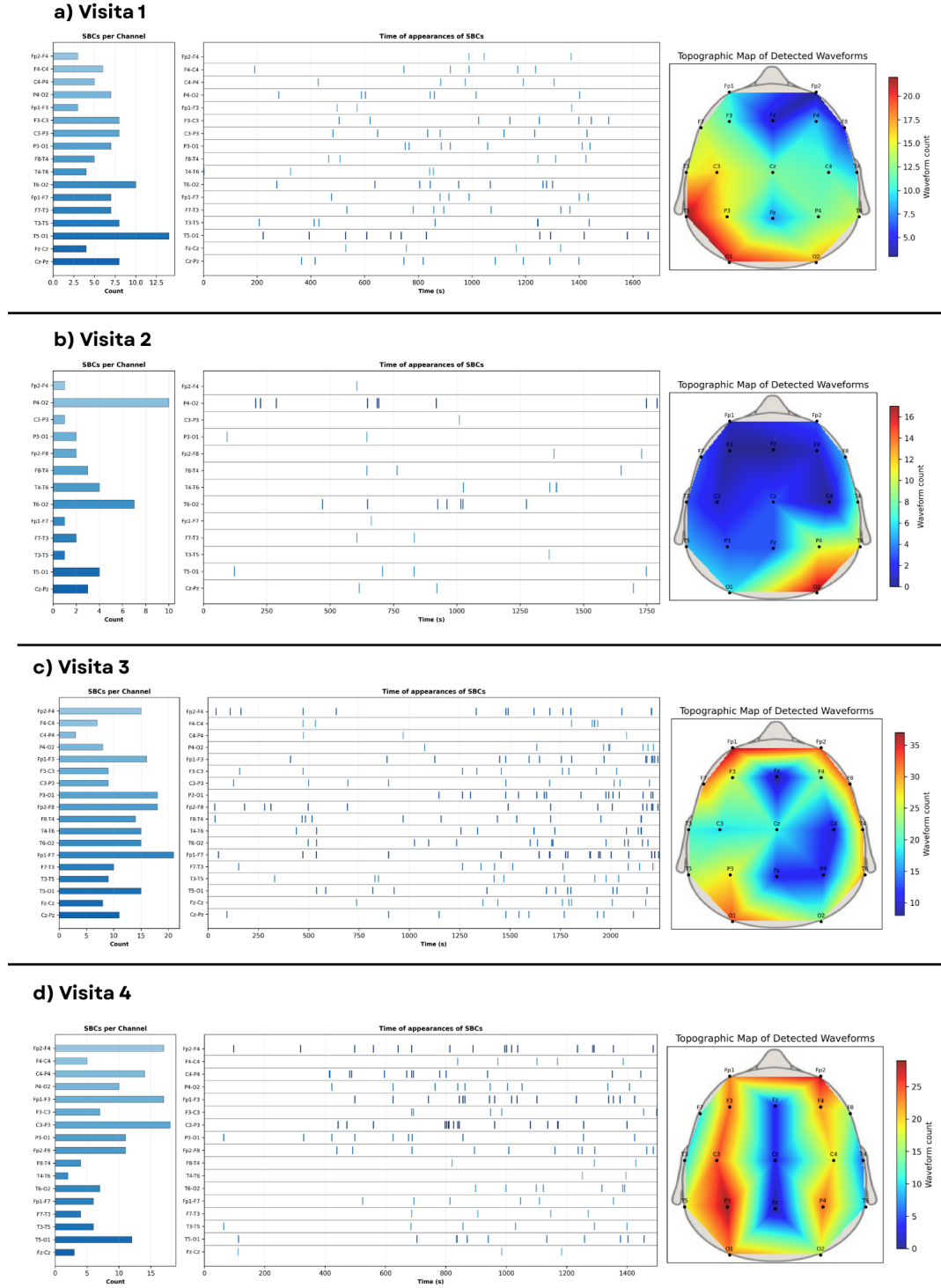


Figure 3.13: Distribuzione spaziale e temporale dei CLB nel Caso Studio 4. La figura riporta il numero di CLB per canale EEG, la loro distribuzione temporale all'interno delle registrazioni e la corrispondente rappresentazione topografica nelle quattro visite cliniche del paziente.

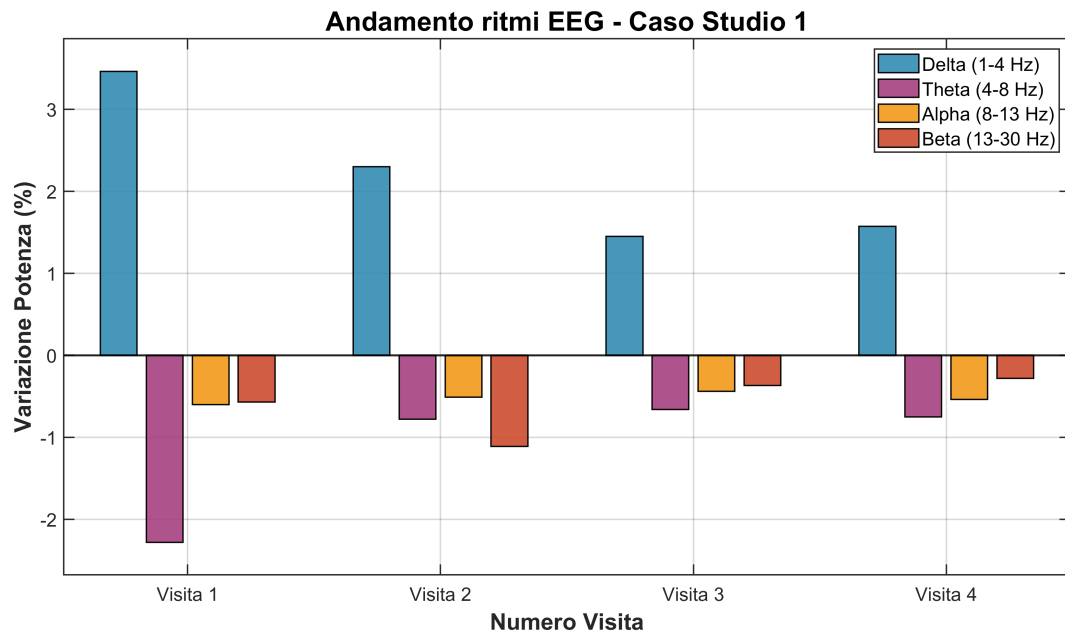


Figure 3.14: Andamento delle variazioni percentuali delle bande EEG nel Caso Studio 1. Per ciascuna visita viene riportata la variazione relativa della potenza delle bande delta, theta, alfa e beta nella finestra pre-CLB rispetto alla baseline dell'intera registrazione.

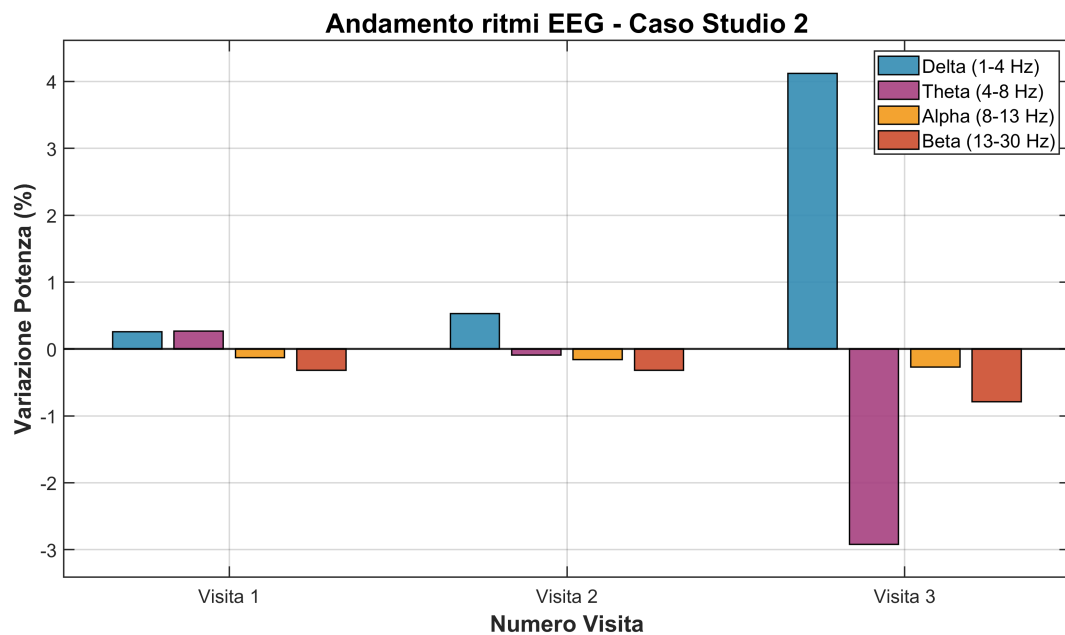


Figure 3.15: Andamento delle variazioni percentuali delle bande EEG nel Caso Studio 2. Per ciascuna visita viene riportata la variazione relativa della potenza delle bande delta, theta, alfa e beta nella finestra pre-CLB rispetto alla baseline dell'intera registrazione.

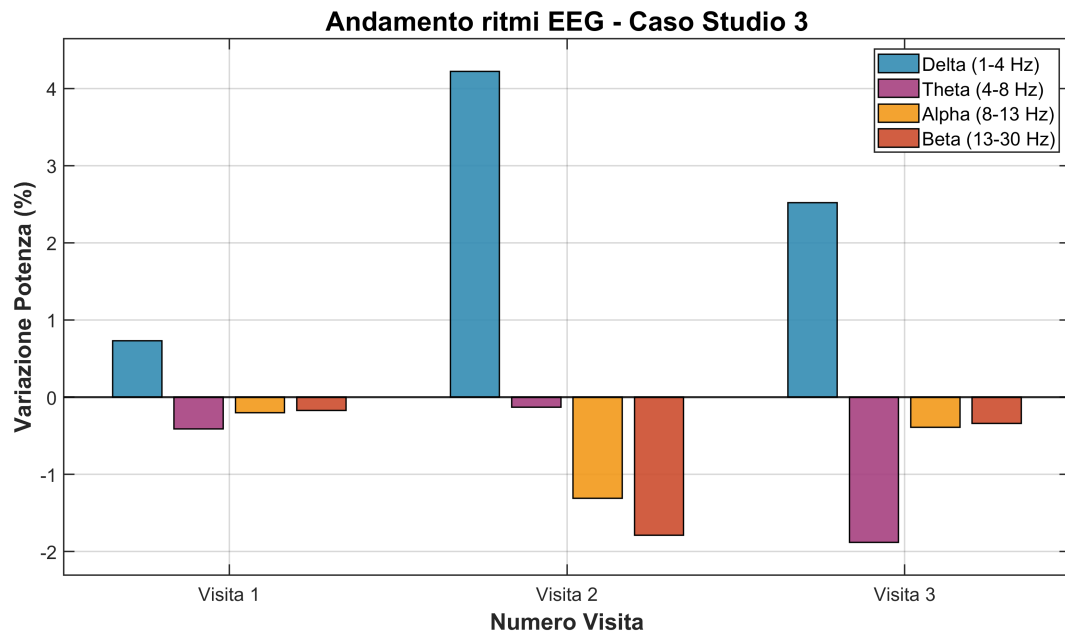


Figure 3.16: Andamento delle variazioni percentuali delle bande EEG nel Caso Studio 3. Per ciascuna visita viene riportata la variazione relativa della potenza delle bande delta, theta, alfa e beta nella finestra pre-CLB rispetto alla baseline dell'intera registrazione.

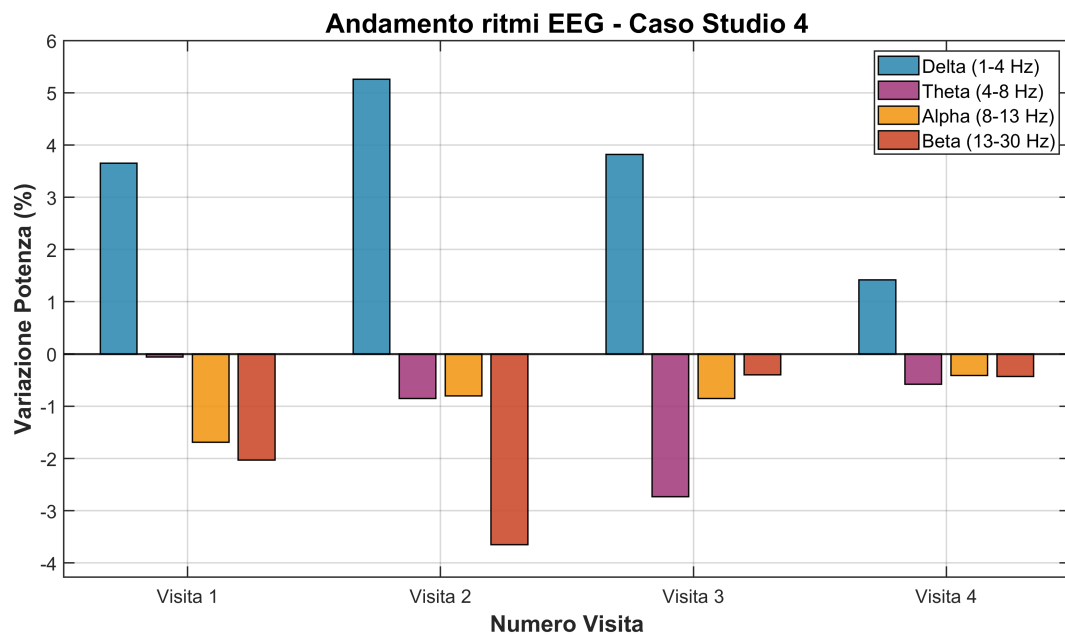


Figure 3.17: Andamento delle variazioni percentuali delle bande EEG nel Caso Studio 4. Per ciascuna visita viene riportata la variazione relativa della potenza delle bande delta, theta, alfa e beta nella finestra pre-CLB rispetto alla baseline dell'intera registrazione.

Chapter 4

Conclusioni

L'encefalite rappresenta una delle emergenze neurologiche più complesse in ambito pediatrico: una patologia a eziologia eterogenea, a presentazione clinica variabile e a decorso spesso imprevedibile, che richiede una diagnosi precoce per limitare il rischio di conseguenze neurologiche permanenti o, nei casi più gravi, letali. In questo contesto, l'elettroencefalogramma occupa da sempre un posto di rilievo tra gli strumenti diagnostici disponibili, non tanto per la sua capacità di identificare con precisione la causa dell'infiammazione, quanto per la sua capacità unica di restituire in tempo reale un'immagine funzionale dell'attività cerebrale, ripetibile senza rischi, eseguibile al letto del paziente, accessibile anche nei centri con risorse limitate.

Il presente lavoro di tesi si inserisce in questo quadro con un obiettivo preciso: sviluppare, implementare e validare clinicamente un software capace di identificare in modo automatico i complessi lenti bifasici all'interno di tracciati EEG appartenenti a pazienti pediatrici con sospetta encefalite, e di estrarre da questi eventi un insieme di parametri quantitativi in grado di riflettere la severità della patologia e la sua evoluzione nel tempo. La scelta di focalizzarsi sui CLB non è casuale: si tratta di pattern elettrofisiologici la cui presenza è correlata al grado di neuroinfiammazione, la cui frequenza di comparsa aumenta proporzionalmente alla gravità del quadro clinico e la cui distribuzione spaziale sullo scalpo fornisce indicazioni sulla localizzazione del processo patologico. Automatizzarne la rilevazione significa trasformare un'osservazione qualitativa, tradizionalmente affidata alla lettura visiva esperta del neurologo, in una misura numerica riproducibile, confrontabile tra sessioni diverse e accessibile anche in assenza di una competenza interpretativa specialistica.

L'algoritmo sviluppato sfrutta il principio della cross-correlazione tra le finestre temporali del segnale EEG e un template teorico del CLB, sottoposto a scaling temporale multiplo per tenere conto della variabilità morfologica degli eventi reali. Le fasi di pre-processing, basate su un filtraggio Chebyshev II passa-banda con tecnica forward-backward, e le successive operazioni di post-processing, che includono il controllo sull'ampiezza tramite distribuzione cumulativa e la verifica del contenuto spettrale, lavorano in sequenza per massimizzare la specificità della rilevazione senza sacrificare la sensibilità verso i pattern patologici genuini. Il sistema è stato integrato in un'interfaccia utente accessibile al personale medico, con un modulo di inserimento

dei dati clinici e un sistema di reportistica strutturato in formato HTML, progettato per essere consultabile direttamente da browser senza richiedere software aggiuntivi.

I risultati ottenuti sul dataset retrospettivo, composto da 118 tracciati EEG relativi a 10 soggetti patologici e 10 controlli sani, hanno confermato la validità dell'approccio su più livelli di analisi. Sul piano temporale, la frequenza di comparsa dei CLB si è dimostrata correlata in modo statisticamente significativo alla gravità clinica dell'encefalite, con un coefficiente di Spearman pari a 0,470 e un p-value inferiore a 0,001. L'ampiezza dell'associazione, di intensità moderata, riflette la variabilità biologica intrinseca di una patologia eterogenea, ma l'intervallo di confidenza al 95

Sul piano morfologico, la relazione inversa tra intervallo inter-evento e ampiezza RMS, osservata sistematicamente in tutti i pazienti analizzati, supporta l'ipotesi che l'intensità e la frequenza dei CLB riflettano il livello di infiammazione cerebrale: quando i complessi si manifestano con maggiore densità, tendono ad essere più energetici, come se il processo neuroinfiammatorio non si limitasse ad aumentare la cadenza degli eventi ma ne amplificasse anche la magnitudo. Questa osservazione, pur con la variabilità inter-individuale attesa in una coorte così eterogenea, costituisce un elemento di coerenza interna del modello fisiopatologico sottostante.

L'analisi spaziale ha confermato una distribuzione topografica non casuale degli eventi, con una predominanza frontale statisticamente significativa documentata dal test di Wilcoxon sia in versione bilaterale che unilaterale. Il tasso mediano di CLB nelle regioni anteriori risulta superiore del 43

L'analisi spettrale nella finestra di due secondi precedente ciascun evento ha rivelato un pattern di riorganizzazione strutturato e coerente con la fisiopatologia attesa: un incremento della potenza nella banda delta, con una variazione media di +1,76

Il confronto tra soggetti patologici e controlli sani ha completato il quadro, dimostrando che i due parametri principali estratti dal software, frequenza di comparsa e RMS cumulativo, separano i due gruppi con differenze altamente significative, con p-value rispettivamente pari a $1,817 \times 10^{-6}$ e $3,281 \times 10^{-6}$. Nei soggetti di controllo la quasi totalità dei tracciati presenta conteggi prossimi allo zero; nel gruppo patologico la mediana di CLB al minuto si attesta intorno a 17, con un range interquartile molto ampio che riflette la variabilità clinica tra pazienti in fasi diverse della malattia. Questa capacità discriminante, pur su un campione limitato, costituisce un primo elemento di validazione della sensibilità diagnostica dello strumento.

La parte più significativa e originale di questo lavoro è stata la validazione clinica condotta sui dati acquisiti presso il reparto di Neurologia Pediatrica dell'Ospedale Regina Margherita di Torino. I quattro percorsi analizzati hanno permesso di osservare il software al lavoro su casi reali, con tutta la complessità che i dati clinici prospettici portano con sé rispetto a un dataset retrospettivo pulito e controllato. I risultati sono stati, nel complesso, incoraggianti.

Nel primo caso, la riduzione progressiva del numero di CLB e del valore RMS nel corso delle quattro visite ha rispecchiato con precisione il miglioramento clinico documentato, fino alla quarta registrazione, avvenuta circa un mese dopo l'esordio, in

cui il conteggio è sceso a 42 eventi in trentasei minuti e l'RMS cumulativo si è ridotto a 0,22 μV , valori compatibili con un quadro in via di normalizzazione. Nel secondo caso, la concordanza tra la normalizzazione clinica e quella elettrofisiologica è stata particolarmente netta: alla terza visita, con il paziente asintomatico e senza farmaci in corso, il software ha rilevato appena 6 eventi in diciotto minuti, con un RMS di 0,13 μV , valori confrontabili con quelli dei soggetti di controllo. Il temporaneo picco alla seconda visita, apparentemente contraddittorio, si è rivelato coerente con la fase di massima attività infiammatoria che precede la risposta al trattamento antivirale: un'osservazione che, se confermata su casistiche più ampie, potrebbe avere un valore predittivo reale nella gestione terapeutica.

Il terzo caso ha mostrato un andamento meno lineare, con una riduzione del conteggio alla seconda visita seguita da una ripresa alla terza, riflettendo la dinamica più irregolare tipica delle encefaliti batteriche, nelle quali la risposta immunitaria e la clearance microbica seguono tempi propri e non sempre prevedibili. Il software ha tracciato questa oscillazione con fedeltà, senza imporre una regolarità che i dati biologici non avevano. Il quarto caso ha introdotto una dimensione metodologicamente rilevante: la presenza di una condizione neurologica strutturale preesistente, l'eterotopia nodulare periventricolare identificata dall'imaging nell'ultima visita documentata, ha contribuito a mantenere un livello elevato di attività bifasica anche nella fase di regressione dell'infezione da SARS-CoV-2. L'algoritmo ha identificato correttamente ciò che era presente nel tracciato; l'errore sarebbe stato nell'interpretazione, non nella rilevazione. Questo caso illustra con chiarezza il limite intrinseco di qualsiasi strumento di analisi automatica che operi su segnali senza accesso alla storia anatomica del paziente, e ricorda che il contributo del clinico nella fase interpretativa rimane insostituibile.

Come ogni lavoro di ricerca applicata, anche questo porta con sé dei limiti che è necessario riconoscere per contestualizzare correttamente i risultati. Il primo e più evidente riguarda la numerosità campionaria: con dieci soggetti patologici nel dataset retrospettivo e tredici nella fase prospettica, i risultati mantengono un carattere esplorativo e non consentono di trarre conclusioni definitive sull'efficacia diagnostica del software sull'intera popolazione pediatrica con encefalite. La variabilità clinica intrinseca della coorte studiata, che comprende eziologie diverse, fasce di età che vanno dai due ai quattordici anni e fasi evolutive differenti al momento della registrazione, rappresenta un elemento di complessità ulteriore che amplifica l'incertezza statistica delle stime ottenute.

Un secondo limite riguarda la presenza di artefatti fisiologici nel segnale EEG. Nonostante l'algoritmo implementi soglie di controllo sull'ampiezza e filtri di post-processing basati sul contenuto spettrale, la rimozione completa degli artefatti muscolari, oculari e cardiaci non è tecnicamente possibile senza procedure di reiezione manuale o metodi più avanzati come la decomposizione in componenti indipendenti. In alcune registrazioni, soprattutto quelle dei pazienti più piccoli o in stato di agitazione, la presenza di artefatti può aver influenzato il conteggio automatico, generando falsi positivi che il post-processing non è riuscito a eliminare completamente. Non è

stato inoltre quantificato in modo sistematico il tasso di falsi negativi, ovvero la proporzione di CLB genuini non rilevati dall'algoritmo, un'analisi che richiederebbe un confronto diretto con una lettura esperta indipendente degli stessi tracciati.

Infine, in assenza di soglie di riferimento validate su popolazioni più estese, i parametri quantitativi estratti dal software supportano la decisione clinica ma non la sostituiscono. La valutazione integrata con i dati laboratoristici, il neuroimaging e la storia clinica evolutiva rimane la base irrinunciabile su cui il medico costruisce il proprio ragionamento diagnostico.

Nonostante questi limiti, i risultati ottenuti sono sufficientemente solidi da giustificare la prosecuzione della ricerca in questa direzione, con obiettivi progressivamente più ambiziosi. In primo luogo, sarà fondamentale ampliare la casistica, includendo pazienti con eziologie meno rappresentate nel dataset attuale, in particolare le forme autoimmuni, e raccogliendo dati longitudinali più completi per caratterizzare meglio la dinamica di risposta ai diversi regimi terapeutici. In secondo luogo, sarà necessario testare la specificità diagnostica del software applicandolo a tracciati EEG di pazienti con condizioni neurologiche alternative, come l'epilessia e i disturbi del sonno, per quantificare il tasso di falsi positivi in contesti clinici diversi dall'encefalite e per verificare se i parametri estratti siano realmente discriminanti o se riflettano pattern aspecifici di sofferenza cerebrale. In terzo luogo, uno studio comparativo che confronti direttamente l'analisi automatica con la lettura visiva da parte di neurologi esperti permetterebbe di misurare in modo oggettivo il vantaggio in termini di tempo, riproducibilità e accuratezza diagnostica offerto dallo strumento rispetto all'approccio tradizionale.

Sul piano algoritmico, l'integrazione di tecniche di apprendimento automatico potrebbe rappresentare il passo successivo naturale per migliorare ulteriormente la specificità della rilevazione. Un classificatore addestrato su un dataset sufficientemente ampio e bilanciato potrebbe imparare a distinguere i CLB dagli artefatti morfologicamente simili in modo più efficace rispetto a soglie fisse, adattandosi alla variabilità inter-individuale senza richiedere una regolazione manuale dei parametri. L'aggiunta di caratteristiche estratte dalla connettività funzionale tra canali, già esplorata in letteratura nel contesto dell'encefalite, potrebbe arricchire ulteriormente il profilo quantitativo degli eventi e migliorarne il potere discriminante.

In una prospettiva più ampia, questo lavoro si inserisce in un cambiamento culturale in atto nella medicina neurologica: il passaggio da una diagnostica basata sulla lettura qualitativa dei segnali biologici a una diagnostica aumentata, in cui gli strumenti automatici affiancano il clinico senza sostituirlo, fornendo misure oggettive e riproducibili che arricchiscono e orientano il ragionamento medico. L'EEG, con la sua ricchezza di informazioni e la sua accessibilità, è uno dei segnali più adatti a beneficiare di questa transizione, a patto che gli algoritmi sviluppati siano validati con rigore su casistiche cliniche reali e che il loro utilizzo sia sempre inserito in un contesto di supervisione medica consapevole.

Questo è stato l'obiettivo di questo lavoro: non proporre uno strumento definitivo, ma costruire un primo passo verificato, radicato nella clinica e orientato alla pratica,

verso qualcosa di più grande. I risultati raggiunti, i limiti identificati e le direzioni tracciate per il futuro rappresentano, nel loro insieme, un contributo concreto a un campo di ricerca in rapida evoluzione, con implicazioni reali per la diagnosi e il monitoraggio di una patologia che colpisce i pazienti più vulnerabili.

Bibliography

- [1] Ali M Alam et al. “Encephalitis: diagnosis, management and recent advances in the field of encephalitides”. In: *Postgraduate Medical Journal* 99.1174 (2023), pp. 815–825. DOI: 10.1136/postgradmedj-2022-141812 (cit. on pp. 1, 2, 10).
- [2] Satinder Aneja and Suvasini Sharma. “Diagnosis and Management of Acute Encephalitis in Children”. In: *Indian Journal of Pediatrics* 86.1 (2019), pp. 70–75. DOI: 10.1007/s12098-018-2775-0 (cit. on pp. 1, 2, 9).
- [3] Ahmad Chaddad, Yihang Wu, Reem Kateb, and Ahmed Bouridane. “Electroencephalography Signal Processing: A Comprehensive Review and Analysis of Methods and Techniques”. In: *Sensors* 23.14 (2023), p. 6434. DOI: 10.3390/s23146434 (cit. on pp. 2–8).
- [4] Giovanni Chiarion and Luca Mesin. “Functional Connectivity of EEG in Encephalitis during Slow Biphasic Complexes”. In: *Electronics* 10.23 (2021), p. 2978. DOI: 10.3390/electronics10232978 (cit. on p. 8).
- [5] Mark Ellul and Tom Solomon. “Acute encephalitis – diagnosis and management”. In: *Clinical Medicine* 18.2 (2018), pp. 155–159. DOI: 10.7861/clinmedicine.18-2-155 (cit. on pp. 1–3, 10).
- [6] Francesc et al. Graus. “A clinical approach to diagnosis of autoimmune encephalitis”. In: *The Lancet Neurology* 15.4 (2016), pp. 391–404. DOI: 10.1016/S1474-4422(15)00401-9 (cit. on pp. 1–3, 10).
- [7] J. Satheesh Kumar and P. Bhuvaneshwari. “Analysis of Electroencephalography (EEG) Signals and Its Categorization—A Study”. In: *Procedia Engineering* 38 (2012), pp. 2525–2536. DOI: 10.1016/j.proeng.2012.06.298 (cit. on pp. 3, 4, 6, 7).
- [8] Rashmi Kumar. “Understanding and managing acute encephalitis”. In: *F1000Research* (2020), p. 60. DOI: 10.12688/f1000research.20634.1 (cit. on pp. 1–3, 8).
- [9] Enrica Masocco. “Encefalite in età pediatrica: una sfida diagnostica. Studio retrospettivo monocentrico”. MA thesis. Padova: Università degli Studi di Padova, Scuola di Medicina e Chirurgia, 2023 (cit. on p. 10).
- [10] Luca Mesin, Massimo Valerio, and Giorgio Capizzi. “Automated diagnosis of encephalitis in pediatric patients using EEG rhythms and slow biphasic complexes”. In: *Physical and Engineering Sciences in Medicine* 43.3 (2020), pp. 997–1006. DOI: 10.1007/s13246-020-00893-0 (cit. on pp. 2, 3, 10–13).

- [11] Luca Mesin, Massimo Valerio, Annette Beaumanoir, and Giorgio Capizzi. “Automatic identification of slow biphasic complexes in EEG”. In: *Biomedical Physics and Engineering Express* 5.4 (2019), p. 045006. DOI: 10.1088/2057-1976/ab2086 (cit. on pp. 11, 12).
- [12] Jose Antonio Urigüen and Begoña Garcia-Zapirain. “EEG artifact removal—state-of-the-art and guidelines”. In: *Journal of Neural Engineering* 12.3 (2015), p. 031001. DOI: 10.1088/1741-2560/12/3/031001 (cit. on pp. 2, 6, 8, 9).
- [13] Massimo Valerio, Stefano Rivera, and Luca Mesin. “The relation between lesions and localization of sources of slow biphasic complexes in encephalitis”. In: *Neuroimmunology and Neuroinflammation* (2020). DOI: 10.20517/2347-8659.2020.30 (cit. on pp. 11, 13).

Dedications

Dedications for everyone