



HAL
open science

Analyse quantitative et automatisée des EEG néonataux post-anoxiques : développement d'un outil clinique d'aide au diagnostic précoce de l'encéphalopathie anoxo-ischémique néonatale

Laure Lacan

► To cite this version:

Laure Lacan. Analyse quantitative et automatisée des EEG néonataux post-anoxiques : développement d'un outil clinique d'aide au diagnostic précoce de l'encéphalopathie anoxo-ischémique néonatale. Médecine humaine et pathologie. Université de Lille, 2021. Français. NNT : 2021LILUS032 . tel-03593987

HAL Id: tel-03593987

<https://theses.hal.science/tel-03593987>

Submitted on 2 Mar 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



UNIVERSITE DE LILLE
ECOLE DOCTORALE BIOLOGIE ET SANTE

Année 2021

THESE D'UNIVERSITE

Analyse quantitative et automatisée des EEG néonataux post-anoxiques
Développement d'un outil clinique d'aide au diagnostic précoce de l'encéphalopathie
anoxo-ischémique néonatale

Présentée et soutenue publiquement le 13 décembre 2021 par

Laure LACAN

Thèse dirigée par les Professeurs Sylvie Nguyen et Laurent Storme

Unité de Recherche ULR 2694 - METRICS - Evaluation des technologies de santé et
des pratiques médicales - Environnement périnatal et croissance,
Université de Lille, CHRU Lille

JURY

Président : Monsieur le Professeur Patrick VAN BOGAERT (*rapporteur*)
Madame la Professeure Nathalie BEDNAREK (*rapporteur*)
Madame le Docteur Emilie BOUREL-PONCHEL
Madame la Professeure Sylvie NGUYEN
Monsieur le Professeur Laurent STORME

A mes Directeurs de Thèse

Madame la Professeure Sylvie NGUYEN

Professeure des Universités - Praticien Hospitalier,
Chef du Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital Roger Salengro,
Centre Hospitalier Universitaire de Lille, France

Je vous remercie pour votre accompagnement tout au long de ce travail. Merci pour votre encadrement éclairant, votre discernement et votre confiance. Je suis très heureuse et honorée de continuer à travailler et apprendre à vos côtés.

Monsieur le Professeur Laurent STORME

Professeur des Universités - Praticien Hospitalier,
Chef du Service de Réanimation Néonatale, Hôpital Jeanne de Flandre,
Centre Hospitalier Universitaire de Lille, France

Merci de m'avoir encouragée et aidée à réaliser cette thèse d'université. C'est un honneur et un réel plaisir de faire partie de votre équipe de recherche. Merci pour les connaissances que vous apportez, qui rendent nos recherches toujours plus passionnantes.

Aux membres du jury

Madame la Professeure Nathalie BEDNAREK

Professeure des Universités - Praticien Hospitalier,
Chef du service de Médecine néonatale et de Réanimation pédiatrique,
American Memorial Hospital, Centre Hospitalier Universitaire de Reims, France

Je vous remercie d'avoir participé à l'élaboration de ce travail au cours des différents comités de suivi et d'avoir accepté de le juger. Merci pour votre intérêt, votre aide et votre bienveillance. C'est un honneur de vous avoir dans ce jury.

Monsieur le Professeur Patrick VAN BOGAERT

Professeur des Universités - Praticien Hospitalier,
Chef de l'Unité de Neurologie Pédiatrique, service de pédiatrie,
Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, France

Je vous remercie de l'honneur que vous me faites de participer à ce jury et de l'aide que vous avez apportée à ce travail. Merci de m'avoir conseillée, encouragée et d'avoir présidé mes comités de suivi de thèse.

Madame le Docteur Emilie BOUREL-PONCHEL

Maitre de Conférence des Universités – Praticien Hospitalier,
Service d'explorations fonctionnelles du système nerveux pédiatrique,
Centre Hospitalier Universitaire d'Amiens, France

Merci d'avoir accepté de juger ce travail. C'est un honneur et un grand plaisir de pouvoir profiter de votre éclairage de neurophysiologiste pédiatrique.

À toute l'équipe de l'Unité de Recherche ULR 2694

Charles, merci pour tout ce que tu apportes à cette équipe, autant sur le plan professionnel qu'humain ainsi que pour ton aide dans ce travail. C'est stimulant et inspirant de travailler à tes côtés.

Julien, merci pour ton aide, ta vision d'ingénieur et tes conseils précieux. C'est toujours un grand plaisir de travailler avec toi.

Louise, pour ton aide lors de l'élaboration de cette thèse et le travail passionnant que tu as réalisé en parallèle.

Roxane, Yasmine et Delphine, pour votre contribution à ce travail lors de votre année de master 2 et la bonne humeur que vous avez apportée lors de votre passage dans l'équipe.

Capucine, pour ton énorme travail sans lequel rien ne serait possible.

Pr Véronique Debarge, Dyuti, Morgan, Geoffroy, Kévin et les autres, pour nos échanges lors des labmeetings et pour ce que chacun apporte dans cette belle équipe.

Au service de neurophysiologie clinique

Marie-Dominique Lamblin, merci pour tout ce que tu m'as appris tout au long de ce travail. Merci de ta gentillesse et de ton soutien. C'est une chance et une joie immenses de découvrir la neurophysiologie à tes côtés.

Nacim Betrouni, un grand merci pour ton expertise dans ce travail et pour toute l'aide que tu m'as apportée. Merci d'avoir partagé ton bureau et de m'avoir fait découvrir le monde des moulinettes et des algorithmes.

Professeur Philippe Derambure, merci de l'intérêt que vous portez à ce travail depuis le tout début. Merci infiniment pour votre soutien et vos conseils.

Laurence Chaton, merci pour toute l'énergie que tu apportes à la neurophysiologie pédiatrique, c'est une joie de pouvoir travailler avec toi.

Jean-Louis Bourriez, merci pour ta collaboration et ton aide indispensable dans ce travail.

Aux Docteurs Sylvie Joriot et Florence Flamein

Merci d'avoir rendu ce travail possible par votre implication et votre énorme investissement dans la prise en charge et le suivi de la cohorte anoxie périnatale.

A Pascal, mes parents, ma sœur, mes amis,

Merci pour votre soutien et votre immense aide, ce travail est aussi un peu le vôtre.

TABLE DES MATIERES

ABREVIATIONS	11
RESUME	12
INTRODUCTION GENERALE	
Définitions et épidémiologie	17
Physiopathologie de l'encéphalopathie anoxo-ischémique	18
Hypothermie thérapeutique	22
Diagnostic de l'encéphalopathie anoxo-ischémique néonatale	24
Objectifs	37
PARTIE IA - Etude de la phase de latence post-anoxique : quantification et classification automatique de la sévérité des EEG initiaux	
INTRODUCTION	38
MATERIEL ET METHODES	42
Design global de l'étude	42
I) Base de données	42
I)1. Ethique et démarches légales.....	42
I)2. Population étudiée	42
I)3. Données cliniques.....	44
I)4. Données EEG	45
II. Quantification de la sévérité des EEG initiaux.....	48
II)1. Analyse quantitative EEG.....	48
II)2. Sélection des variables qEEG	51
II)3. Analyses statistiques	52
III. Classification automatique des groupes de sévérité EEG initiaux	53
III)1. Différents modèles de classification automatique.....	53
III)2. Phase de développement des modèles.....	55
III)3. Phase de validation des modèles	55
IV. Prédiction automatique de l'évolution clinique à 1 an	56
RESULTATS	57
I. Caractéristiques cliniques de la base de données.....	57
II. Données quantitatives des EEG initiaux.....	60
II)1. Par rapport aux groupes de sévérité EEG visuels de la classification française	60
II)2. Par rapport à l'évolution clinique.....	62
III. Classification automatique des groupes de sévérité EEG	64
IV. Prédiction automatique de l'évolution clinique.....	69

PARTIE IB - Etude de la phase secondaire post-anoxique : application du modèle de classification automatique aux EEG enregistrés après H6

METHODES.....	72
I. Base de données.....	72
I)1. Population étudiée	72
I)2. Données EEG	72
I)3. Analyses statistiques	73
II. Classification automatique des groupes de sévérité EEG après H6	73
III. Prédiction automatique de l'évolution clinique.....	73
RESULTATS	74
I. Caractéristiques de la base de données.....	74
II. Classification automatique des groupes de sévérité EEG	76
III. Prédiction automatique de l'évolution clinique.....	77
DISCUSSION.....	78
I. EEG initiaux enregistrés avant H6 en phase de latence post-anoxique.....	79
I)1. Quantification de la sévérité des EEG	79
I)2. Aspects physiopathologiques	84
I)3. Variables qEEG et évolution clinique à 1 an	85
I)4. Classification automatique	86
II. EEG enregistrés après H6 sous HT en phase secondaire post-anoxique.....	94
II)1. Description visuelle des tracés EEG « HT » et valeur pronostique.....	95
II)2. Classification automatique des groupes de sévérité EEG « HT »	97
II)3. Prédiction automatique du pronostic clinique.....	98
III. Comparaison avec la littérature	98
IV. Applications et perspectives	101
V. Réflexions éthiques	106
Intérêts de l'IA en santé.....	106
Risques et conséquences de l'IA.....	107
CONCLUSION.....	110
ANNEXE I	111
A.1. Méthodes de classification automatique testées	111
A.2. Comparaison des différents systèmes de classification automatique de la sévérité de l'EAI proposés dans la littérature	115

PARTIE II – Etude de la réponse cérébrale fœtale à l’anoxie aiguë : partie expérimentale

INTRODUCTION.....	117
MATERIEL ET METHODES.....	119
Design global de l’étude.....	119
I. Modèle expérimental et recueil des données.....	119
I)1. Ethique et démarches légales.....	119
I)2. Protocole chirurgical.....	119
I)3. Protocole expérimental.....	122
I)4. Recueil des données.....	124
II. Analyses EEG.....	125
II)1. Analyse visuelle.....	125
II)2. Analyse quantitative.....	125
III. Analyse de la réponse fœtale à l’anoxo-ischémie.....	126
III)1. Description des données expérimentales.....	126
III)2. Comparaison des cohortes anoxie et témoins.....	126
III)3. Analyse de l’évolution des données avec l’anoxie.....	127
III)4. Rapport entre les données qEEG et les données gazométriques/hémodynamiques.....	127
IV. Analyse du rapport entre données qEEG et lésions anoxo-ischémiques.....	127
IV)1. Analyse anatomopathologique.....	127
IV)2. Analyses statistiques.....	128
RESULTATS.....	129
I. Mise en place de la technique d’acquisition de l’EEG fœtal.....	129
II. Brebis analysées.....	132
III. EEG « témoins ».....	132
III)1. Description visuelle.....	132
III)2. Données quantitatives.....	133
IV. Réponse fœtale à l’anoxo-ischémie.....	137
IV)1. Données gazométriques et hémodynamiques.....	137
IV)2. Données EEG en situation d’anoxie.....	138
IV)3. Rapport entre les données qEEG et les données hémodynamiques/biologiques.....	147
V. Données qEEG et lésions anoxo-ischémiques.....	148
V)1. Description des lésions anoxo-ischémiques.....	148
V)2. Rapport entre les données qEEG et les lésions anoxo-ischémiques.....	149
DISCUSSION.....	151
I. Modèle expérimental.....	151
II. Tracés EEG normaux.....	152
III. Réponse fœtale à l’anoxo-ischémie.....	155
III)1. Données hémodynamiques et biologiques.....	155

III)2. Données EEG	156
IV. Lésions anoxo-ischémiques cérébrales.....	161
V. Hypothèses physiopathologiques	162
VI. Perspectives	166
CONCLUSION.....	168
ANNEXE II	169
CONCLUSION GENERALE.....	173
REFERENCES.....	174
PUBLICATIONS.....	196
- “Quantitative approach of early neonatal EEG visual analysis in hypoxic-ischemic encephalopathy severity. Bridging the gap between eyes and machine” – Lacan et al.....	197
- “Fetal sheep cerebral electrical activity: A new technique to record EEG” – Lacan et al	215

ABREVIATIONS

AC	Arbre de classification
aEEG	Electroencéphalogramme d'amplitude
AFD	Analyse factorielle discriminante
AG	Age gestationnel
ALHA	Activité lente de haute amplitude
ARBA	Activité rapide de basse amplitude
BSR	Burst Suppression Ratio
CTG	Cardiotocogramme
CVS	Cycles Veille/Sommeil
EAI	Encéphalopathie anoxo-ischémique
ECG	Électrocardiogramme
ECOG	Electro-corticogramme
EEG	Electroencéphalogramme
FC	Fréquence cardiaque
HT	Hypothermie thérapeutique
IA	Index d'Amplitude
IBI	Interburst-intervals (intervalles inter-bouffées)
ICF	International Classification of Functioning, Disability and Health
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
KNN	K-nearest-neighbors method – méthode des k plus proches voisins
NAA	N-acetyl-aspartate
NIRS	Near-infrared spectroscopy – spectroscopie infra-rouge
NO	Monoxyde d'azote
NSE	Neuron Specific Enolase
OCC	Occlusion de cordon
PAM	Pression artérielle moyenne
PE	Potentiels évoqués
PN	Poids de naissance
PR	Puissance Relative des basses fréquences
PT	Puissance spectrale Absolue Totale
qEEG	EEG quantifié
RCF	Rythme cardiaque foetal
SA	Semaines d'aménorrhée
SEF	Spectral Edge Frequency
SVM	Support Vector Machine – machine à vecteur de support
VFC	Variabilité de la fréquence cardiaque
VPP	Valeur Prédicative Positive

RESUME

INTRODUCTION : L'anoxie périnatale reste fréquente et peut se compliquer d'une encéphalopathie anoxo-ischémique (EAI), représentant un enjeu de santé publique majeur. Le pronostic des EAI modérées et sévères est amélioré par l'hypothermie thérapeutique (HT) débutée avant 6 heures de vie. L'EEG permet d'évaluer précocement la sévérité de l'EAI mais son interprétation nécessite une expertise qui n'est pas toujours disponible.

A partir de l'analyse quantitative des EEG néonataux enregistrés en phase de latence post-anoxique, l'objectif de ce travail est de développer un outil de classification automatique de la sévérité des EEG permettant de discriminer précocement les nouveau-nés nécessitant un traitement par HT. Ce modèle sera également testé sur des EEG enregistrés après H6 sous HT. Enfin, les marqueurs quantitatifs EEG (qEEG) seront utilisés pour étudier la réponse cérébrale fœtale directe à une anoxie aiguë expérimentale chez le fœtus de brebis.

METHODES : 150 EEG, enregistrés dans les 6 premières heures de vie après une anoxie périnatale, ont été gradés visuellement en 3 groupes de sévérité selon la classification française et quantifiés à l'aide de 6 marqueurs qEEG mesurant l'amplitude, la continuité et le contenu fréquentiel du signal. Les variables qEEG décrivant au mieux les groupes de sévérité ont été combinées dans des algorithmes d'apprentissage automatique. Différents modèles étaient entraînés à classer la sévérité EEG d'une cohorte de développement (n=90) puis testés sur une cohorte de validation (n=60). Le modèle le plus performant était également entraîné à prédire l'évolution clinique à 1 an puis étudié sur 271 tracés enregistrés après H6 chez des nouveau-nés sous HT.

Les mêmes marqueurs qEEG ont été utilisés dans un modèle expérimental de fœtus de brebis pour étudier l'activité cérébrale normale *in utero* chez 7 témoins et la réponse cérébrale fœtale à une anoxie aiguë provoquée par des occlusions de cordon ombilical répétées chez 9 autres fœtus.

RESULTATS : Les variables qEEG discriminaient significativement les 3 groupes de sévérité EEG visuels, ainsi que l'évolution clinique favorable ou défavorable des enfants à l'âge de 1 an. Le modèle de classification automatique le plus efficace était basé sur un algorithme de SVM qui

classait correctement 80% des tracés par rapport aux groupes de sévérité visuels et 94% par rapport à l'évolution clinique. 67% des tracés enregistrés après H6 étaient bien classés par ce modèle selon leur groupe de sévérité.

Nous avons ensuite développé une nouvelle technique d'acquisition EEG chez le fœtus de brebis. La réponse fœtale cérébrale à l'anoxie aiguë était caractérisée par une suppression du signal per-occlusion qui semble adaptative, et une altération globale progressive du signal avec la sévérité de l'anoxie qui refléterait la défaillance des mécanismes d'adaptation. La diminution de la SEF lors des occlusions sévères était corrélée à la survenue de lésions cérébrales.

CONCLUSION : L'utilisation de marqueurs qEEG pertinents cliniquement et disponibles en routine, a permis de décrire quantitativement la sévérité des tracés et de développer un modèle de classification automatique des EEG efficace dès la phase de latence post-anoxique pour discriminer les nouveau-nés nécessitant un traitement par HT. Ce modèle peut également être utilisé chez les enfants mis en HT pour évaluer automatiquement l'évolution des tracés et donc le pronostic à plus long terme. Il peut servir à l'implémentation d'un outil d'évaluation automatique de la sévérité de l'EAI utilisable au lit du malade comme aide clinique pour les décisions thérapeutiques des premiers jours de vie.

L'utilisation de ces marqueurs qEEG a également permis de repérer des marqueurs prénataux potentiellement prédictifs des lésions anoxo-ischémiques cérébrales. Ces marqueurs pourront être utilisés pour le développement de nouveaux moyens de détection précoce et de prévention de l'EAI néonatale.

ABSTRACT

Quantitative and automated analysis of post-anoxic neonatal EEGs

Development of a clinical tool for the early diagnosis of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy

INTRODUCTION: Perinatal anoxia remains common and can lead to hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE), representing a major public health issue. The prognosis of moderate and severe HIE is improved by therapeutic hypothermia (TH) started within 6 hours of life. EEG allows early assessment of HIE severity but its interpretation requires expertise that is not always available.

Based on quantitative analysis of neonatal EEGs recorded in the latent phase after anoxia, we aimed to develop a clinical tool for automatic classification of EEG severity and early discrimination of neonates requiring TH. This model will also be tested on EEGs recorded after H6 under TH. Finally, quantitative EEG markers (qEEG) will be used to study the direct fetal brain response to experimental acute anoxia in the fetal sheep.

METHODS: 150 EEGs recorded within 6 hours of life after perinatal anoxia were visually graded into 3 severity groups according to the French Classification and quantified using 6 qEEG markers measuring signal amplitude, continuity and frequency content. The qEEG variables that best described the severity groups were combined in machine learning algorithms. Different models were trained on a development cohort (n=90) to classify the EEG severity and then tested on a validation cohort (n=60). The most effective model was also trained to predict clinical outcome at 1 year. This model was then studied on 271 EEGs recorded between H12 and H72 in neonates treated with HT.

The same qEEG markers were used in an experimental fetal sheep model to study the normal brain activity in 7 controls and the fetal brain response to acute anoxia induced by repeated umbilical cord occlusions in 9 other fetuses.

RESULTS: The qEEG variables significantly discriminated the 3 visual EEG severity groups, as well as between poor or good clinical outcome at 1 year of age. The most effective automatic

classification model was based on a SVM algorithm with an accuracy of 80% for EEG severity groups and 94% for clinical outcome.

When the model was applied to “TH” EEG recorded after H6, the accuracy was 67% for EEG severity groups.

In the experimental part, we developed a new method for *in utero* EEG acquisition in the fetal sheep. The fetal brain response to acute anoxia was characterized by the suppression of EEG activity during occlusion which would correspond to a neuroprotective adaptive mechanism, and a progressive global alteration of the signal with the severity of the occlusions, which would rather reflect ischemic cerebral repercussion in relation to the failure of cardiovascular adaptation mechanisms. The decrease in SEF during severe occlusions was significantly correlated with neuronal loss.

CONCLUSION: The use of clinically relevant qEEG markers allowed to quantitatively describe the severity of post-anoxic neonatal EEGs according to the French classification and to develop an automatic EEG classification model effective in the post-anoxic latent phase to discriminate neonates requiring TH. This model can also be used in neonates treated by TH to automatically assess the evolution of the EEG and thus the long term prognosis. This model can be used to implement a clinical tool for automatic assessment of HIE severity that can assist medical decisions in the first days of life, particularly for TH indication.

These qEEG markers reflected the fetal cerebral response to acute anoxia and may represent prenatal markers predictive of cerebral hypoxic-ischemic lesions. In the future, these markers may be used to develop new methods for early detection and prevention of neonatal HIE.

RESUME TOUT PUBLIC

Français

Parmi les complications de l'accouchement, un manque d'apport en oxygène chez le fœtus peut mener à la constitution de lésions au niveau du cerveau. Ces lésions peuvent être responsables du décès du nouveau-né ou d'un handicap futur. La mise en hypothermie contrôlée de ces enfants pendant 3 jours permet d'améliorer leur évolution mais ce traitement doit être initié dans les 6 premières heures de vie pour être efficace.

L'enregistrement précoce de l'activité électrique cérébrale (EEG) est l'examen le plus fiable pour évaluer la sévérité de l'atteinte neurologique et donc identifier les enfants éligibles à ce traitement.

Dans ce travail, nous avons développé une méthode de classification automatique de la sévérité des EEG enregistrés chez ces enfants. A partir des mesures de différentes caractéristiques du signal, notre algorithme permet de classer correctement 80% des nouveau-nés selon 3 groupes de sévérité EEG et de prédire à 94% leur évolution clinique à 1 an. Cet algorithme pourra être utilisé pour développer un outil d'aide clinique permettant d'identifier automatiquement les nouveau-nés éligibles au traitement dès les premières heures de vie.

Anglais

Among the complications of childbirth, a lack of oxygen supply to the fetus can lead to brain damage. This damage may result in the death of the newborn or in future disability.

Controlled hypothermia for 3 days can improve the outcome of these infants but this treatment must be initiated within the first 6 hours of life to be effective. Early recording of brain electrical activity (EEG) is the most reliable investigation to assess the severity of brain damage and thus identify newborns eligible for this treatment.

In this work, we developed a method for automatic classification of the severity of these newborns' EEGs. Based on measures of different signal characteristics, our algorithm correctly classifies 80% of newborns into three EEG severity groups and predicts 94% of their clinical course at 1 year. This algorithm could be used to develop a clinical support tool for the automatic identification of newborns eligible for treatment in the first hours of life.

MOTS CLES

EEG néonatal – anoxie périnatale – encéphalopathie anoxo-ischémique – diagnostic précoce
- analyse quantitative EEG – marqueurs quantitatifs EEG - classification automatique EEG –
foetus de brebis – EEG fœtal

KEY WORDS

Neonatal EEG - perinatal anoxia - hypoxic-ischemic encephalopathy – early diagnosis -
quantitative EEG analysis – quantitative EEG features - automated EEG classification – fetal
sheep - fetal EEG

INTRODUCTION GENERALE

Définitions et épidémiologie

L'anoxie périnatale correspond à une altération des échanges gazeux fœto-maternels liée à un évènement périnatal aigu (1). Pendant l'accouchement, elle peut être causée par une anomalie de la présentation du cordon ombilical (procidence, latérocidence, nœud, circulaire, etc.) responsable de compressions cordonales sévères lors des contractions utérines, entraînant une hypoxie et une hypercapnie par l'altération des échanges gazeux, ainsi qu'une ischémie, c'est-à-dire une diminution de la perfusion sanguine tissulaire. D'autres mécanismes peuvent néanmoins être en cause comme une anomalie placentaire (décollement, hématome rétro-placentaire), une dystocie mécanique, une rupture utérine, une hypotension artérielle maternelle ou encore une hémorragie aiguë maternelle ou fœtale (2).

Autour de la naissance, l'anoxie est classiquement suspectée devant une diminution des mouvements actifs fœtaux, la présence d'anomalies du rythme cardiaque fœtal au cardiogramme, d'une acidose métabolique sur les prélèvements au scalp ou au cordon ombilical et une mauvaise adaptation à la vie extra-utérine (score d'Apgar bas à 5-10 minutes, nécessité d'un support ventilatoire à 10 minutes), bien que les critères diagnostiques soient variables.

Son incidence est estimée à environ 1-5 nouveau-nés pour 1000 naissances vivantes à terme dans les pays dits « industrialisés » mais les chiffres varient selon les études et les critères (3-7). Dans une étude rétrospective de 5 364 663 naissances en Californie entre 1991 et 2000, l'incidence globale de l'anoxie périnatale était de 4.5‰ mais celle-ci diminuait de 14.8 à 1.3‰ selon les années d'étude (4). Elle représenterait la troisième cause de mortalité néonatale dans le monde (23%) après la prématurité (28%) et les infections sévères (26%) (8).

Le déficit d'apport énergétique au niveau cérébral, lié à l'hypoxie et/ou l'ischémie, peut entraîner le développement d'une encéphalopathie anoxo-ischémique (EAI) néonatale. Dans la littérature, la limite est floue entre les notions d'anoxie périnatale sévère, d'EAI à « court terme », correspondant au retentissement neurologique précoce de l'anoxo-ischémie dans les premières heures de vie, et d'EAI à « long terme », correspondant aux lésions anoxo-ischémiques cérébrales définitives responsables de séquelles neurologiques à long terme.

Dans les résultats préliminaires de l'étude *Lytonépal*, menée en France entre septembre 2015 et mars 2017, 791 nouveau-nés de plus de 34 semaines d'aménorrhée sur 1 039 586 naissances vivantes, soit 0.76‰, présentaient des critères cliniques précoces d'encéphalopathie modérée ou sévère (équivalent à un stade de Sarnat 2 ou 3), suite à une anoxie périnatale (définie comme une acidose sévère : $\text{pH} \leq 7$ ou excès de base ≤ -16 mmol/l ; ou modérée avec un évènement périnatal aigu, un changement brutal de la fréquence cardiaque fœtale, un score d'Apgar < 5 à 10 minutes de vie et/ou la persistance de la nécessité d'une ventilation à 10 minutes) (9). Avant l'ère de l'hypothermie thérapeutique (HT), 15% des enfants ayant des critères cliniques précoces d'EAI modérée ou sévère décédaient en période néonatale et 25% présentaient des séquelles neurologiques à long terme (10,11). Selon leur sévérité et leur localisation, les lésions anoxo-ischémiques cérébrales peuvent ainsi être responsables de séquelles allant de déficits moteurs, sensoriels et cognitifs légers à une paralysie cérébrale sévère, une déficience intellectuelle, une épilepsie voire un polyhandicap lourd (12). Nous verrons que le traitement par HT a changé le pronostic de l'EAI néonatale mais celle-ci reste encore la cause la plus fréquente de séquelles neurologiques sévères dans le monde et représente donc un enjeu de santé publique majeur (10).

Physiopathologie de l'encéphalopathie anoxo-ischémique

Les lésions neurologiques liées à l'anoxo-ischémie cérébrale surviennent classiquement en plusieurs phases ([figure 0.1](#)) : une première phase de mort neuronale précoce liée directement à l'anoxie par carence énergétique aiguë, suivie d'une phase de latence d'au moins six heures puis une seconde phase de mort neuronale retardée liée à une cascade métabolique délétère, responsable des lésions définitives (13,14). Le pronostic de l'atteinte cérébrale dépend de l'importance et de la localisation de ces lésions (15,16).

Les modèles expérimentaux animaux (en particuliers les rongeurs, les fœtus de brebis, de cochon et de singe) ont permis de mieux comprendre les mécanismes de réponse fœtale à l'anoxo-ischémie aiguë. Chez les mammifères, le fœtus semble avoir une meilleure tolérance cérébrale et cardiaque à l'anoxie que les adultes, grâce à la mise en place rapide de mécanismes adaptatifs coordonnés très efficaces lors de la phase initiale de l'anoxie ([figure 0.2](#)). Lors d'une compression du cordon ombilical chez le fœtus de brebis par exemple,

l'hypoxie stimule les chémorécepteurs carotidiens et aortiques, entraînant une vasoconstriction périphérique et une majoration de la pression artérielle. Ceci va activer le baroréflexe, entraînant une bradycardie transitoire via le système parasympathique. La vasoconstriction périphérique est également majorée par une stimulation surrénale via le système sympathique, induisant la libération de catécholamines (17–24). Ceci permet une redistribution de la circulation sanguine aux organes centraux (myocarde, surrénales, cerveau, etc.) et donc une majoration de la perfusion cérébrale. Celle-ci est également facilitée par une diminution de la résistance vasculaire cérébrale médiée notamment par l'effet local vasodilatateur du CO₂ et semble relativement plus importante dans les régions sous-corticales et le tronc cérébral (25–27).

En parallèle, en réponse à la réduction des apports énergétiques cérébraux (oxygène et glucose), d'autres mécanismes d'autorégulation cérébrale se mettent en place. Une diminution active du métabolisme cérébral est induite par l'intermédiaire de neuromodulateurs inhibiteurs comme l'adénosine ou les neurostéroïdes (28–33), permettant une suppression de la transmission synaptique et ainsi une diminution de l'énergie consommée par le transport ionique potassium-sodium qui accompagne la génération des potentiels synaptiques (26,34). Par ailleurs, l'utilisation du métabolisme (glycolyse) anaérobie contribue au maintien des apports énergétiques, comme le montre l'augmentation de l'extraction de glucose au niveau cérébral alors que l'extraction d'oxygène diminue lors d'une occlusion de cordon chez le fœtus de brebis (26,35).

Lorsque l'hypoxie se prolonge, les mécanismes adaptatifs cardio-vasculaires deviennent insuffisants. L'hypoxie tissulaire est alors responsable d'une activation du métabolisme anaérobie entraînant la production d'acide lactique et une acidose métabolique progressive, majorée par l'hypercapnie liée à l'altération des échanges gazeux fœto-maternels. L'hypoxie tissulaire et l'acidose entraînent progressivement une défaillance cardio-vasculaire, avec une altération de la fonction cardiaque et une perte de la vasoconstriction périphérique initiale, responsables d'une hypotension artérielle (36–42). La perfusion cérébrale ne peut alors plus être maintenue et, en-dessous d'un certain seuil (seuil ischémique inférieur), l'autorégulation cérébrale n'est plus possible, entraînant une défaillance du métabolisme oxydatif, une dépolarisation neuronale anoxique et une cascade d'évènements délétères menant à la mort

neuronale primaire (31,43,44). L'étude de Lotgering et al. montre ainsi une perte de l'autorégulation cérébrale dès 4 minutes d'occlusion cordonale chez le fœtus de brebis, en rapport avec l'hypotension artérielle (45). Le métabolisme anaérobie entraîne une accumulation de lactate au niveau cérébral et une défaillance des pompes ioniques membranaires (Na^+/K^+ ATPase et $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ échangeur), responsable d'une entrée de calcium, de sodium et d'eau dans les cellules et ainsi de la constitution d'un œdème cytotoxique cérébral (1,46). L'entrée de calcium dans les cellules déclenche également la libération et l'accumulation d'acides aminés excitateurs comme le glutamate dans l'espace extracellulaire, ainsi que la production de radicaux libres et de monoxyde d'azote (NO) cérébral (1,46). Toute cette cascade mène à la mort de certains neurones par nécrose ou mort cellulaire programmée (1,47). Selon Hossmann et al., la dépolarisation neuronale anoxique et la constitution de l'œdème cytotoxique surviendraient à partir d'une réduction du flux carotidien cérébral de plus de 70-90% (48,49).

Lors de la reperfusion, le métabolisme oxydatif cérébral récupère au moins partiellement, avec une régression de l'accumulation des acides aminés excitateurs et de l'œdème cytotoxique cellulaire en 30 à 60 minutes environ (31,46,50). Survient alors une phase de latence d'environ six heures, durant laquelle persiste la suppression active du métabolisme cérébral, associée à une hypoperfusion cérébrale mais une amélioration de l'oxygénation tissulaire chez le fœtus de brebis proche terme (44,50–53).

Lorsque l'anoxo-ischémie cérébrale est sévère, cette phase est suivie 6 à 15 heures après par une phase de défaillance énergétique secondaire avec une altération de l'activité mitochondriale cérébrale. Cette phase est caractérisée par une hyperperfusion cérébrale, une réponse inflammatoire systémique et locale, une libération d'acides aminés excitateurs, de NO et de radicaux libres, une dépolarisation neuronale anoxique, la constitution d'un œdème cytotoxique, et une mort cellulaire programmée, provoquée entre autres par l'activation de la caspase-3 (13,14,44,51,52,54–56). Cette cascade secondaire est responsable de la perte neuronale secondaire irréversible et donc des lésions cérébrales définitives. On retrouve durant cette phase la présence d'activités paroxystiques et de crises, corrélées à la perte neuronale (46,57,58).

La localisation et la sévérité des lésions dépendent de la cause et du mécanisme de l'anoxo-ischémie. Un évènement anoxique sévère très aigu semble entraîner une perte neuronale sélective dans les noyaux gris centraux, le thalamus et le tronc cérébral alors qu'une hypoxie partielle prolongée entraînerait plutôt des lésions dans les zones jonctionnelles cérébrales (cortex parasagittal), bien que celles-ci soient retrouvées dans de multiples modèles d'anoxie chez le fœtus de brebis (11,49,59). D'autres lésions peuvent être observées comme une nécrose et une gliose de la substance blanche (leucomalacie périventriculaire), une nécrose ischémique focale ou encore des lésions isolées de l'hippocampe (1,10).

La phase de latence post-anoxique représente ainsi la fenêtre thérapeutique durant laquelle un traitement neuroprotecteur peut être mis en place afin de limiter la phase lésionnelle secondaire et donc la constitution des lésions définitives qui déterminent l'évolution neurologique. Une intervention thérapeutique précoce conditionne le pronostic de ces enfants et l'hypothermie thérapeutique (HT) reste à ce jour le traitement ayant montré le plus grand bénéfice sur le pronostic à long terme.

Figure 0.1 - Différentes phases de constitution des lésions anoxo-ischémiques cérébrales

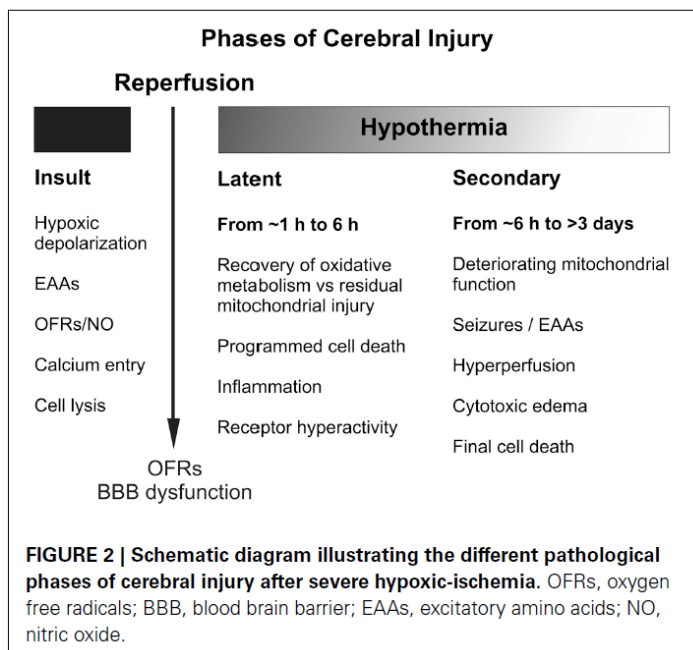


Figure extraite de l'article Wassink G. et al. « The mechanisms and treatment of asphyxia encephalopathy. » *Front Neurosci.* 2014;8:40. (44)

Figure 0.2 - Réponse fœtale à l'hypoxie aiguë

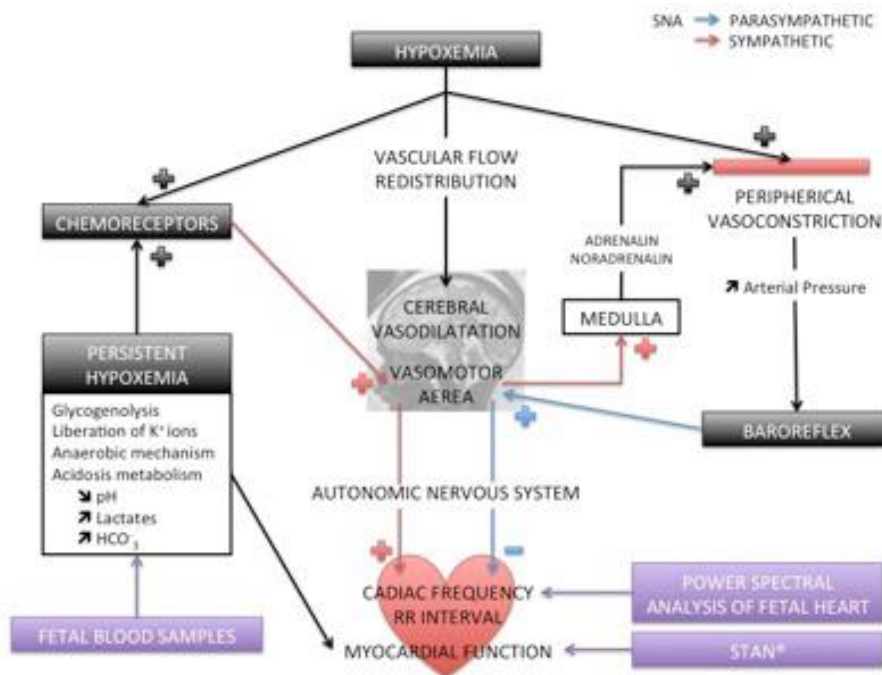


Figure extraite de l'article Garabedian C. et al. « Understanding fetal physiology and second line monitoring during labor » *J Gynecol Obstet Hum Reprod* 2017 (24)

Hypothermie thérapeutique

Les études expérimentales menées sur des fœtus de brebis, de cochons ou de rats ont montré que l'hypothermie permettait de diminuer la demande métabolique cellulaire, retardant la dépolarisation cellulaire anoxique (60,61). Elle réduit l'accumulation des excito-toxines et radicaux libres, la réponse inflammatoire, la défaillance de l'activité mitochondriale, la mort cellulaire programmée, préserve la barrière hémato-encéphalique et l'intégrité des axones et de la myéline (13,44,60,62–67). Ceci permet de limiter l'œdème cytotoxique secondaire, l'activité épileptiforme et les crises (51,68–70), et ainsi la perte neuronale et l'extension des lésions cérébrales (44,51,58,64).

Afin d'obtenir une neuroprotection efficace, les études ont montré que l'hypothermie modérée (entre 32 et 34°C) devait être initiée le plus tôt possible durant la phase de latence, soit dans les 6 premières heures post-anoxie, avant la défaillance énergétique secondaire et l'apparition des crises, et poursuivie pendant toute la phase secondaire, soit au moins 48-72

heures (51,58,71–73). Par contre, la poursuite de l'hypothermie thérapeutique au-delà de 72 heures post-anoxie n'a pas montré de bénéfice (58,73).

Par la suite, l'efficacité d'un traitement précoce par hypothermie contrôlée a été largement démontré par les études cliniques chez des nouveau-nés à terme présentant une EAI modérée à sévère (74–76). L'étude de Jacobs et al., une méta-analyse de 11 essais randomisés (1505 enfants), a prouvé que l'hypothermie modérée débutée avant six heures de vie améliorerait significativement la survie et le pronostic de ces enfants, avec une réduction du risque relatif de décès et de séquelles majeures de 25% à 18 mois (risque relatif 0.75 [95 % CI 0.68 à 0.83]), le nombre de sujet à traiter étant de 7 (5-10) (76). Par exemple, une des études incluses montre ainsi une réduction du taux de décès ou de séquelles modérées-sévères à 18 mois dans un groupe de 102 nouveau-nés mis en HT (44%) par rapport aux 106 nouveau-nés du groupe contrôle (62% ; $p=0.01$) (77). Les groupes de recherche TOBY et NICHD ont également pu montrer une amélioration du devenir à plus long terme avec une diminution du risque de décès, de paralysie cérébrale et de trouble cognitif ($QI < 70$) à 6-7 ans (75,78).

En outre, plus le traitement est initié tôt, plus il semble améliorer le pronostic à moyen et long terme (79). En regard, les risques liés à l'HT semblent relativement limités. L'hypothermie peut entraîner certains effets secondaires : hémodynamiques (hypertension artérielle à l'initiation, bradycardie sinusale), hématologiques (thrombocytopenie mais sans majoration des complications hémorragiques) ou métaboliques (hyperglycémie modérée). Ce traitement représente néanmoins un stress néonatal important puisqu'il implique une séparation des parents, des traitements invasifs (cathéters centraux, ventilation mécanique), l'administration de sédatifs, d'inotropes, etc. (76,80,81).

Actuellement, il s'agit du traitement de référence de l'EAI néonatale chez l'enfant de plus de 36 SA en cas d'EAI modérée ou sévère (74). Les premières recommandations françaises ont été publiées en 2010 (82), entraînant une généralisation de la prise en charge de l'EAI par hypothermie thérapeutique modérée dans les 75 maternités françaises de niveau 3 entre 2010 et 2013 (83). Une étude multicentrique réalisée en France en 2013 montre cependant que la mise en place de ces recommandations est hétérogène (84).

D'autres traitements neuroprotecteurs ont été étudiés (inhibition de la libération de glutamate, blocage des récepteurs NMDA et AMPA, inhibition de la synthèse de NO,

antioxydants, anti-radicaux libres, mélatonine, érythropoétine, cellules souches etc.). Pour être efficaces, certains traitements devaient être initiés pendant ou immédiatement après l'anoxie, ce qui est impossible en pratique. D'autres sont prometteurs, mais toujours en cours d'étude (11).

L'évaluation du retentissement cérébral de l'anoxie aiguë dans les premières heures de vie, et donc le diagnostic de l'encéphalopathie anoxo-ischémique « précoce », représente ainsi un enjeu crucial dans les services de néonatalogie. Il est nécessaire de pouvoir disposer de biomarqueurs pronostiques fiables avant H6, afin de pouvoir discriminer le plus précocement possible les nouveau-nés éligibles au traitement par hypothermie.

Diagnostic de l'encéphalopathie anoxo-ischémique néonatale

Comme nous l'avons évoqué, la définition de l'EAI néonatale est dynamique et ses critères diagnostiques évoluent selon le moment de l'évaluation ([figure 0.3](#)).

Période périnatale : diagnostic de l'anoxie sévère

Cardiotocogramme

Lors du *per partum*, le bien être du fœtus est principalement monitoré par l'analyse de son rythme cardiaque au cardiotocogramme. Les anomalies du rythme cardiaque fœtal (RCF), comme les décélérations lors des contractions utérines, peuvent révéler la survenue d'une anoxie aiguë. Elles ont une bonne valeur prédictive sur l'acidose périnatale (85) mais leur analyse est subjective et ne permet pas de prédire la survenue de complications neurologiques post-anoxiques (86,87). Ainsi, dans l'étude de Murray et al., la majorité des nouveau-nés avec une EAI néonatale sévère (critères cliniques et EEG) présentaient des tracés de cardiotocogramme initialement normaux avec un évènement « sentinelle » aigu juste avant la naissance (88).

Gazométrie

L'acidose métabolique, mesurée sur les gaz du sang prélevés au scalp durant l'accouchement ou au cordon ombilical à la naissance, reflète l'utilisation du métabolisme anaérobie lors d'une anoxie périnatale sévère. Il s'agit d'un marqueur précoce d'hypoxie tissulaire mais du fait des mécanismes d'adaptation évoqués dans la partie précédente, l'acidose même sévère ($\text{pH} < 7$) ne reflète pas directement le retentissement cérébral fœtal de l'anoxie, et notamment la capacité du fœtus à maintenir une perfusion cérébrale au-dessus du seuil ischémique. Elle semble ainsi peu prédictive de la sévérité de l'encéphalopathie à long terme dans les études antérieures (89–96). Ainsi, dans l'étude de Perlman et al., seulement 12% des nouveau-nés avec une acidose sévère développaient une EAI précoce (97). Le pH et lactate à la naissance ne différaient pas non plus selon les grades de sévérité EEG attribués précocement dans l'étude de Murray et al., ni selon l'évolution favorable ou défavorable à 18 mois chez des nouveau-nés ayant une EAI mis en HT dans l'étude de Tokuhsa et al. (93,94).

Score d'Apgar

Un score d'Apgar bas (98) 5 ou 10 minutes après la naissance, semble avoir une bonne valeur prédictive sur la mortalité néonatale (92,99,100). Cependant, sa nature subjective entraîne une importante variabilité inter-observateur et sa valeur pronostique sur la sévérité de l'EAI à long terme reste limitée (101). Ainsi, 80% des nouveau-nés ayant un score inférieur ou égal à 7 à 5 minutes avaient une évolution favorable à 1 an dans l'étude de Ruth et Raivio (89) et 1 enfant sur 5 ayant un score de 0 à 10 minutes survivait jusqu'à l'âge scolaire sans séquelles modérées ou sévères dans l'étude de Natarajan et al. (102).

Ainsi, les outils diagnostiques classiquement utilisés en période périnatale permettent de diagnostiquer la survenue d'une anoxie aiguë mais pas de prédire de façon fiable l'encéphalopathie à long terme. En effet, ils ne rendent pas compte des mécanismes adaptatifs du fœtus à l'anoxie et donc du retentissement cérébral de celle-ci.

Phase de latence : diagnostic du retentissement neurologique précoce de l'anoxie

Dans les premières heures de vie, soit en phase de latence, le retentissement neurologique précoce de l'anoxie est principalement évalué à l'aide de critères cliniques et EEG.

Clinique

L'encéphalopathie néonatale est définie cliniquement par une perturbation des fonctions neurologiques du nouveau-né, se manifestant par des troubles de succion, des difficultés respiratoires et alimentaires, une altération de la conscience (irritabilité, léthargie, obnubilation, coma), de l'activité motrice globale, de la posture et du tonus (103,104).

L'examen neurologique peut-être évalué et gradé à l'aide de classifications standardisées comme celles de Sarnat ou de Thompson (103,105). Avec l'ère de l'hypothermie thérapeutique, la classification de Sarnat, qui incluait dans sa description initiale des critères cliniques et EEG évalués après 24 heures de vie, a été modifiée pour n'utiliser que l'examen clinique dans les 6 heures suivant la naissance, afin de s'aligner sur la fenêtre thérapeutique de la phase de latence post-anoxique (49). Cette classification est ainsi utilisée comme référence dans de nombreux centres pour déterminer l'indication d'HT. Cependant, l'examen clinique précoce n'a pas la même valeur pronostique qu'après 24 heures de vie et peut être trompeur, notamment lorsqu'il est réalisé chez un enfant hypotherme, sédaté voire intubé. De plus, l'évaluation clinique même standardisée reste subjective et l'examen neurologique du nouveau-né nécessite de l'expérience. En phase de latence, l'examen neurologique précoce n'est donc pas très prédictif du devenir à long terme, notamment pour les stades intermédiaires (stade de Sarnat 2 par exemple). Ainsi, dans l'étude de Walsh et al., la sévérité des lésions anoxo-ischémiques cérébrales à l'IRM après hypothermie thérapeutique n'était pas différente en fonction des 3 stades d'EAI cliniques attribués précocement selon la classification de Sarnat (106). A l'inverse, dans l'étude de DuPont et al., 20% des enfants ayant une encéphalopathie évaluée cliniquement comme légère (HT non indiquée) avaient une évolution défavorable à court terme (107).

EEG conventionnel

En phase de latence, l'EEG conventionnel est actuellement l'examen de référence pour évaluer le retentissement neurologique post-anoxique et l'indication de traitement par HT. Cet examen non invasif et immédiatement disponible au lit du patient, permet une évaluation précoce, dynamique et en temps réel des mécanismes de réponse cérébrale post-anoxique.

Son interprétation nécessite avant tout une bonne connaissance du tracé EEG normal d'un nouveau-né à terme : le tracé de fond est continu ou alternant dans le sommeil calme avec une activité de fréquences mixtes et d'amplitude variant entre 50 et 100 μ V environ. Il comporte une organisation temporo-spatiale avec une activité synchrone et symétrique, des cycles veille-sommeil et une bonne réactivité ainsi que des grapho-éléments physiologiques comme des encoches frontales et une dysrythmie lente antérieure (108–110). L'absence ou l'altération de ces caractéristiques après une anoxie périnatale ont une valeur pronostique péjorative dès la phase précoce, notamment la diminution de l'amplitude et la discontinuité du signal, c'est-à-dire la présence de périodes inactives (appelées discontinuités ou intervalles inter-bouffées) séparant des bouffées d'activité (109,111,112). Ainsi, le traitement par hypothermie thérapeutique est indiqué avant H6 chez les nouveau-nés présentant des anomalies EEG modérées ou sévères. Néanmoins, l'évaluation des EEG néonataux post-anoxiques n'est pas standardisée et de nombreuses classifications sont proposées dans la littérature (113). Si la plupart des équipes s'accordent sur les stades extrêmes, les tracés intermédiaires sont particulièrement difficiles à évaluer et leur classification reste controversée (114). La classification visuelle standard en France ([tableau 0.1](#)) est adaptée des critères de Scavone et Pezzani (115,116). Elle classe les EEG en 4 grades de sévérité de 0 à 3 : le grade 0 correspondant à un tracé normal, le grade 1 à un tracé comportant des anomalies minimales (subnormal), le grade 2 à des anomalies intermédiaires et le grade 3 à des anomalies sévères (108). Il a été montré que cette classification était bien corrélée au pronostic à long terme (117).

Tableau 0.1 - Classification EEG française de l'EAI néonatale

Grades EEG de sévérité de l'EAI néonatale selon Lamblin et al. 2013 (108)

Grade EAI	Tracé	Description
0	Normal	Activité moyenne avec un tracé de fond continu ou tracé alternant (pendant le sommeil calme) comportant des grapho-éléments physiologiques (encoches frontales, dysrythmie lente antérieure), une organisation temporo-spatiale avec des cycles veille-sommeil et une bonne réactivité.
1	Subnormal (anomalies minimes)	Présence de pointes fréquentes ou amplitude modérément déprimée (30-50 μ V) ou discontinuités transitoires avec une organisation temporo-spatiale, des cycles veille-sommeil et une réactivité conservés.
2	Intermédiaire (anomalies modérées)	<p>Tracé " hyperactif rapide " : activité de base continue, figures physiologiques présentes intriquées avec des rythmes de 4 à 12 Hz abondants, amples, diffus, souvent asynchrones, parfois aigus. Labilité et réactivité présentes mais faibles, cycles veille-sommeil non reconnaissables.</p> <p>Tracé lent pathologique : tracé continu avec ondes delta diffuses à 0.5 – 1,5 Hz dans la veille et dans le sommeil, faible amplitude < 50 μV. Labilité et réactivité présentes mais faibles, cycles veille-sommeil non reconnaissables.</p> <p>Tracé discontinu type A : bouffées d'amplitude et de morphologie physiologiques, d'une durée de 10 à 30 secondes, IBI d'amplitude inférieure à 10 μV et de durée < 10s, labilité et réactivité partiellement conservées, pas de cycles veille-sommeil mais respect de l'organisation spatiale.</p> <p>Tracé discontinu type B : bouffées d'amplitude constante entre 30 et 50 μV d'une durée de 10 à 30 secondes, IBI d'amplitude inférieure à 10 μV et de durée < 10s, peu labile, absence de grapho-éléments physiologiques, pas d'organisation spatio-temporelle et veille-sommeil.</p>

3	Sévère (anomalies sévères)*	<p>Tracé paroxystique : discontinu sans labilité ni réactivité, absence de grapho-éléments physiologiques, pas d'organisation temporo-spatiale et veille-sommeil. Bouffées courtes (constituées de pointes intriquées avec des éléments thêta et delta) entre 1 et 10 secondes, intervalles inter-bouffées (IBI) d'amplitude <5 µV entre 10 et 60 secondes.</p> <p>Tracé " pauvre + thêta " ou bas voltage plus thêta : bouffées thêta entre 5 - 30 µV de durée variable souvent prolongée, activité de base très faible inférieure à 15µV, pas de labilité ni réactivité, absence de grapho-éléments physiologiques, pas d'organisation spatio-temporelle et veille-sommeil.</p> <p>Tracé inactif : amplitude < 5 µV de façon constante, sans labilité ni activité physiologique.</p>
----------	-----------------------------------	---

* sur des tracés d'une durée d'au moins une heure.

IBI : intervalles inter-bouffées

Chez le nouveau-né, un tracé EEG normal ou subnormal avant H6 permet ainsi d'exclure une atteinte cérébrale anoxique sévère (112,118,119). Dans l'étude de Murray et al. sur une cohorte de 44 nouveau-nés présentant une anoxie périnatale non mis en HT, un tracé normal ou subnormal à H6 était prédictif à 100% d'une évolution favorable à 2 ans (112). De même, dans l'étude de Nash et al. chez 41 nouveau-nés mis en HT, la valeur prédictive d'un tracé normal/subnormal sur l'absence de lésions à l'IRM cérébrale (J5) était de 100%.

La valeur prédictive des tracés intermédiaires comportant des anomalies modérées (discontinuités de moins de 30 secondes par exemple, diminution modérée de l'amplitude, mauvaise organisation temporo-spatiale, etc.) est plus difficile à évaluer mais ils semblent également de bon pronostic lorsqu'ils sont enregistrés précocement. Dans l'étude de Murray et al., l'absence de cycles veille-sommeil à H6 avait une valeur prédictive de 53% sur le devenir anormal à 2 ans. Dans l'étude de Hamelin et al. chez 16 nouveau-nés mis en HT, la présence d'anomalies intermédiaires (discontinuités <50% du tracé, diminution d'amplitude ou faible réactivité) avant H24 avait une valeur prédictive positive de 100% mais une valeur prédictive négative de 40% sur l'évolution favorable à 1 an (120). Dans l'étude de Nash et al., parmi les 15 nouveau-nés présentant des tracés discontinus avant H6 (>50% du tracé avec des

discontinuités d'amplitude 5-25 μV durant > 6 secondes et séparées par des bouffées d'activité normale), 4 (27%) avaient des lésions modérées ou sévères à l'IRM cérébrale (J5), 5 des lésions légères, et 6 avaient une imagerie normale.

Enfin, un tracé sévère avant H6 (tracé hypovolté, très discontinu type « suppression burst » équivalent au tracé « paroxystique », voire inactif) est moins prédictif d'un devenir défavorable à long terme. Chez des nouveau-nés non traités par HT, la valeur prédictive d'un tracé sévère avant H24 (grade 3 de classification française) était de 74% sur l'évolution défavorable à 1 an chez Hamelin et al. (120). Dans l'étude de Murray et al., la présence d'un tracé « suppression burst » (discontinuités 10-60 sec) ou inactif (amplitude $< 10 \mu\text{V}$ discontinuités > 60 sec) avait une valeur pronostique péjorative de 80% (112). Cette valeur pronostique diminue fortement chez les nouveau-nés traités par HT avec une valeur prédictive de 40% avant 24 heures chez Hamelin et al. (120). De même, chez Nash et al., parmi les 14 nouveau-nés présentant un tracé « suppression burst » ou bas voltage ($< 5 \mu\text{V}$) avant H6, seulement 9 (64%) présentaient des lésions modérées ou sévères à l'IRM cérébrale.

Dans les études sur les fœtus de brebis proches du terme, la durée de récupération EEG dépend de la sévérité de l'anoxie (26,57,68,121,122). Après une anoxie courte (occlusion courte de cordon de moins de 5 minutes par exemple), le signal se normalise rapidement et le fœtus ne présente pas ou peu de lésions cérébrales, alors qu'une anoxie longue (occlusion > 15 minutes) entraîne des anomalies de signal persistant en phase de latence.

Ces anomalies EEG précoces reflètent probablement les mécanismes adaptatifs cérébraux décrits en phase de latence post-anoxique, notamment la suppression de l'activité cérébrale à visée neuroprotectrice, davantage que les mécanismes lésionnels et la dépolarisation anoxique décrits plus tardivement. Ces mécanismes neuroprotecteurs seraient d'autant plus marqués que l'anoxo-ischémie a été sévère, entraînant une hypoperfusion cérébrale, ce qui permet d'identifier les nouveau-nés à risque de lésions anoxo-ischémiques. Cependant, si cette adaptation est suffisante, elle peut éviter la constitution de lésions cérébrales sévères, notamment si un traitement neuroprotecteur par HT est mis en place. Les anomalies EEG sévères précoces ne sont donc pas forcément prédictives d'un devenir défavorable mais permettent d'identifier efficacement les nouveau-nés qui vont profiter d'un traitement par HT.

EEG d'amplitude

De nos jours, des outils simplifiés d'analyse du signal EEG sont disponibles et utilisés en pratique courante pour faciliter l'interprétation des tracés. Par exemple, l'EEG d'amplitude (aEEG) est une technique de monitoring cérébral mise en place depuis les années 1960, qui mesure en continu l'enveloppe d'amplitude du tracé EEG standard et la traduit en échelle logarithmique sur une base de temps compressée (123,124). La bande obtenue reflète l'amplitude du tracé avec une marge d'amplitude inférieure et supérieure. Cet outil est largement utilisé dans les services de réanimation néonatale car il est facile à mettre en place à toute heure (à partir de 2 électrodes ou du montage EEG standard) et permet une évaluation simplifiée de la sévérité de l'EAI (125). Des classifications ont été proposées pour grader la sévérité de l'EAI à partir des tracés d'aEEG, comme celle d'al Naqeeb, basée uniquement sur les valeurs d'amplitude inférieure et supérieure (126), ou celle d'Hellström-Westas qui comprend également une analyse des patterns (127). L'interprétation de l'aEEG semble bien corrélée à celle d'un tracé conventionnel (128) et un tracé normal avant H6 est également fortement prédictif d'un devenir normal à long terme. Chez des nouveau-nés non mis en HT, la valeur prédictive d'un tracé aEEG normal (continu d'amplitude normale/discontinu d'amplitude normale) avant H6 était de 96.2% sur l'évolution favorable à 18 mois chez Hellström-Westas et al. et 78% chez Toet et al. (129,130). Dans les études portant sur des nouveau-nés mis en HT, les tracés aEEG normaux restaient très prédictifs d'un devenir favorable, contrairement aux patterns anormaux (suppression burst/continu de bas voltage/inactif). Dans la méta-analyse de Chandrasekaran et al., un tracé aEEG anormal à H6 avait une sensibilité de 96% mais une spécificité de 39% pour la prédiction du devenir anormal (131).

L'interprétation de l'aEEG nécessite néanmoins une certaine expérience et cet examen comprend plusieurs limites : il ne reflète que certaines caractéristiques du tracé de fond (amplitude, continuité, cycles veille-sommeil), son interprétation peut être faussée par la présence d'artefacts, les crises courtes sont difficiles à identifier et il est particulièrement sensible aux sédations et à l'hypothermie (132–139). Ainsi, l'interprétation du tracé d'aEEG reste moins fiable que celle d'un tracé EEG standard et le signal brut doit toujours être vérifié visuellement dès que possible (124).

Nouveaux biomarqueurs biologiques

Ces dernières années, de nombreux nouveaux biomarqueurs ont été étudiés pour l'évaluation précoce du retentissement neurologique de l'anoxie périnatale. Notamment, la S100B, la NSE, l'activine A, l'adrénomédulline, le GFAP ou encore les interleukines 6 et 1B mesurés dans le sang, les urines ou le LCR ainsi que des métabolites mesurés dans le sang de cordon semblent prometteurs pour différencier une anoxie sévère d'une encéphalopathie néonatale de façon précoce et pour prédire le pronostic à long terme (12,140–144). Cependant, ces marqueurs ne semblent pas très spécifiques et d'autres études restent nécessaires pour préciser leur valeur pronostique (141).

Doppler transcrânien

Quelques études se sont intéressées à l'échographie-doppler transcrânienne pour évaluer la sévérité de l'encéphalopathie anoxo-ischémique précoce. Un index de résistance de l'artère cérébrale moyenne bas ($< 0,55$) dans les premières 24 heures peut être le marqueur de lésions de reperfusion et semble associé à une évolution défavorable à court terme après une anoxie périnatale (145–148). L'étude très récente de Natiq et al. (2021) montre ainsi que l'index de résistance baisse significativement avec la sévérité de l'EAI néonatale définie cliniquement (148), mais d'autres études restent nécessaires afin de préciser la valeur pronostique à long terme de ce marqueur.

*Phase secondaire : diagnostic des lésions anoxo-ischémiques cérébrales**EEG/aEEG*

Les études expérimentales et cliniques montrent clairement que le pronostic de l'anoxie périnatale et donc la prédiction de l'EAI à « long terme » dépend de l'évolution de l'EEG dans les premiers jours de vie. Chez les fœtus de brebis, la persistance d'une activité anormale après H6 et la présence de crises est associée à la sévérité des lésions cérébrales (69,122,149,150). Dans les études cliniques, la persistance d'anomalies sévères après 12-24 heures chez les nouveau-nés non traités par HT, voire 36-48 heures chez les nouveau-nés traités par HT, est fortement prédictive d'une évolution défavorable (109,151–157). Dans l'étude de Murray et al., les patterns EEG les mieux associés à un devenir anormal chez des

nouveau-nés non mis en HT étaient l'amplitude du tracé de fond inférieure à 30 μ V, des discontinuités de plus de 30 secondes, la présence de crises et l'absence de cycles veille-sommeil à 48 heures (152). Ces anomalies semblent refléter la dépolarisation neuronale anoxique secondaire puis la constitution des lésions anoxo-ischémiques cérébrales définitives (34,44). Le monitoring de l'activité EEG est donc indispensable dans les premiers jours de vie chez les enfants à risque d'EAI. Il peut être facilité par l'utilisation de l'aEEG qui permet de résumer plusieurs heures de tracé sur une seule page, et donc de mieux visualiser les cycles veille-sommeil ou la fréquence des crises. La persistance d'anomalies aEEG après 24-48 heures sous HT est également très prédictive d'une évolution défavorable, avec une valeur prédictive maximale (100%) à 48-60 heures chez Thorensen et al. (131,136,158–161).

Potentiels évoqués

Les potentiels évoqués multimodaux (visuels, auditifs ou somato-sensitifs) sont généralement réalisés à distance de l'HT après la levée des sédations. Comme l'EEG, ils ont l'avantage d'être non invasifs et rapidement disponibles au lit du patient. Les anomalies retrouvées sont associées à la présence de lésions anoxo-ischémiques cérébrales et ont une bonne valeur prédictive de l'évolution à long terme (162–165).

Imagerie cérébrale

L'IRM cérébrale réalisée dans la première semaine de vie permet de visualiser la présence et la localisation des lésions anoxo-ischémiques et ainsi de prédire l'évolution neurologique à long terme, y compris après hypothermie thérapeutique (157,166–172). Les séquences T1-T2 permettent généralement de détecter les lésions dès J3-J4 et les séquences de diffusion dès J2 (10,166). Les enfants avec une IRM cérébrale normale ne développent pas de séquelles majeures (11). Au contraire, les lésions impliquant les noyaux gris centraux, le thalamus et notamment le bras antérieur de la capsule interne sont associées à des séquelles cognitives et motrices, alors que les lésions prédominant dans les zones jonctionnelles corticales/substance blanche entraînent surtout des séquelles cognitives (1,11,166).

La spectro-IRM est également utilisée pour prédire le pronostic neuro-développemental à long terme des nouveau-nés anoxiques (173). Elle permet d'évaluer la récupération du métabolisme oxydatif et donc de la fonction mitochondriale cérébrale (2). Il a été montré que la diminution du ratio NAA/choline, NAA/créatine ou l'augmentation du ratio lactate/NAA était fortement prédictive d'une évolution défavorable après une anoxie périnatale (59,171,174).

Cependant, pour des raisons pratiques et physiopathologiques, ces examens radiologiques sont réalisés à distance, lorsque les lésions sont déjà constituées. En effet, avant la levée de l'hypothermie thérapeutique, le nouveau-né est difficilement transportable et les lésions peuvent ne pas être encore visibles ou être sous-estimées.

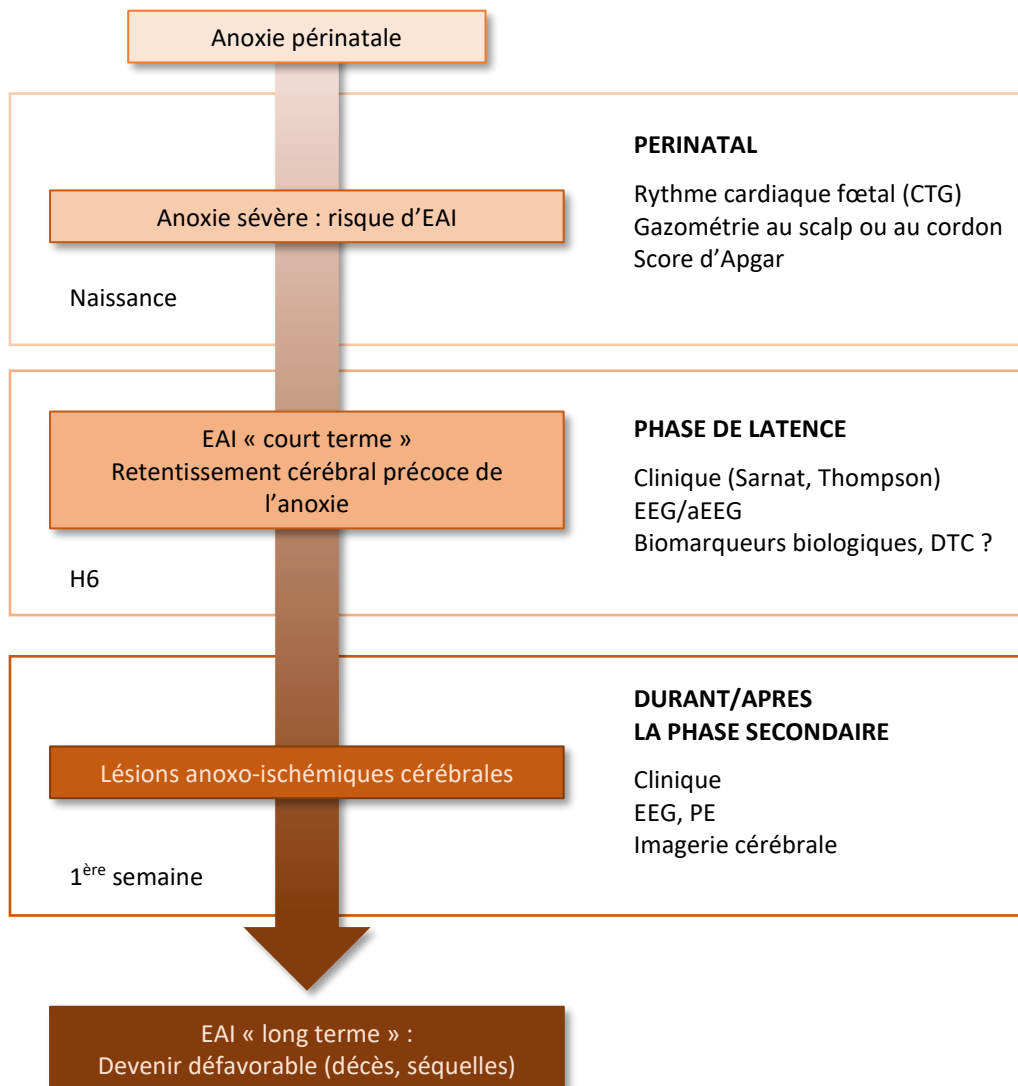
Autres

La NIRS, une mesure non invasive de l'oxygénation cérébrale du nouveau-né, semble associée au devenir à long terme lorsqu'elle est mesurée vers H24-H48 (171).

La variabilité de la fréquence cardiaque (VFC) du nouveau-né a également été identifiée comme un marqueur prédictif de l'EAI néonatale dans les premiers jours de vie. La VFC, mesurée à partir de l'ECG, reflète la régulation du système cardio-vasculaire par le système nerveux autonome et semble diminuer avec la sévérité de l'encéphalopathie. Il a été montré qu'elle était associée aux grades de sévérité EEG, aux patterns de lésions cérébrales à l'IRM et au devenir à 2 ans (175–177).

Cependant, aucun de ces marqueurs n'est encore utilisé en routine clinique.

Figure 0.3 - Outils diagnostiques de l'EAI néonatale



CTG : cardiotocogramme ; DTC : doppler transcrânien ; aEEG : EEG d'amplitude ; PE : potentiels évoqués

Pour résumer : en *per-partum* ou à la naissance, les outils classiquement utilisés pour diagnostiquer une anoxie périnatale aiguë (cardiotocogramme, gazométrie, score d'Apgar) permettent donc d'identifier les nouveau-nés à risque d'EAI en cas d'anoxie sévère mais pas de prédire la constitution des lésions cérébrales définitives (EAI à « long terme »).

La valeur pronostique des outils diagnostiques utilisés augmente ensuite avec le délai post-natal. Dans les premières heures de vie, le retentissement neurologique post-anoxique précoce (EAI à « court terme ») est principalement évalué à l'aide de critères cliniques et EEG.

Cependant, les modifications cérébrales survenant en phase de latence peuvent être liées aux mécanismes adaptatifs de neuroprotection maintenus durant cette phase et ne reflètent pas forcément les lésions définitives.

Enfin, l'évolution des tracés EEG après 24-48 heures de vie, les potentiels évoqués et les examens d'imagerie cérébrale après J3 permettent de diagnostiquer la présence de lésions cérébrales. Ces examens sont ainsi très prédictifs du devenir neurologique et donc de l'EAI à « long terme » mais rendent compte des lésions définitives bien après la fenêtre thérapeutique durant laquelle doit être initiée l'HT.

En phase de latence, l'EEG conventionnel reste ainsi l'examen le plus fiable pour le diagnostic et l'évaluation précoce du retentissement neurologique post-anoxique des nouveau-nés et donc pour déterminer l'indication d'HT. Selon une enquête réalisée en 2021 par notre équipe et interrogeant les pratiques de 41 centres de niveau 3 en France, plus de 80% des équipes confirmaient avoir recours à un enregistrement EEG conventionnel avant H6 pour l'évaluation des nouveau-nés à terme après anoxie mais seulement 44% l'utilisaient en-dehors des heures ouvrables (source non publiée encore). En effet, bien qu'un accès permanent à l'EEG puisse être rendu possible dans beaucoup de services, avec du matériel spécifique à disposition et une équipe soignante formée, la disponibilité d'un neurophysiologiste pour interpréter le tracé 24h/24 est loin d'être assurée dans la plupart des centres hospitaliers. Or, comme nous l'avons vu, l'interprétation du tracé EEG conventionnel d'un nouveau-né nécessite de l'expérience et les outils d'analyse simplifiée comme l'aEEG présentent de nombreuses limites. Dans un contexte d'anoxie périnatale, un outil d'analyse automatisée de la sévérité des EEG néonataux, rapidement disponible au lit du patient dans les premières heures de vie, serait donc particulièrement utile. Cela permettrait d'aider les cliniciens à diagnostiquer précocément le retentissement cérébral de l'anoxie et identifier le plus rapidement possible les nouveau-nés pouvant bénéficier d'un traitement par HT.

Objectifs

L'objectif principal de ce travail, développé dans la **partie IA**, sera de développer un modèle de classification automatique de la sévérité des EEG néonataux enregistrés en phase de latence post-anoxique (avant H6), permettant d'identifier les nouveau-nés nécessitant un traitement par HT. La sévérité des tracés sera quantifiée à l'aide de marqueurs quantitatifs EEG afin de reproduire la classification EEG visuelle française, puis des modèles de classification automatique seront développés à partir de la combinaison de ces marqueurs.

Les objectifs secondaires seront :

- de déployer le modèle de classification automatique sur les tracés enregistrés plus tardivement, en phase secondaire post-anoxique chez des nouveau-nés traités par HT (**partie IB**). Cette partie permettra de vérifier la pertinence du modèle dans ce contexte et de l'envisager comme outil d'évaluation du pronostic à long terme.
- d'utiliser les marqueurs quantitatifs EEG dans un modèle expérimental d'anoxie périnatale provoquée chez le fœtus de brebis afin d'analyser la réponse cérébrale fœtale en phase aiguë d'anoxie (**partie II**). Dans cette partie, l'objectif sera de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques mis en place lors de l'anoxie aiguë afin de déterminer des marqueurs prénataux prédictifs de l'EAI.

PARTIE IA - Etude de la phase de latence post-anoxique : quantification et classification automatique de la sévérité des EEG initiaux

INTRODUCTION

L'activité électrique cérébrale enregistrée en EEG est la résultante des champs de courant créés par les potentiels post-synaptiques excitateurs et inhibiteurs reçus par des populations synchrones de neurones. L'EEG est utilisé depuis le début du 20^{ème} siècle : le premier signal d'activité cérébrale était enregistré en 1929 par le physiologiste allemand Hans Berger puis l'utilisation de l'EEG s'est répandue dans les années 1950 après que le médecin britannique Edgar Adrian eut repris et achevé ses travaux. Depuis, les techniques d'acquisitions ont énormément évolué, passant d'un enregistrement sur papier à une acquisition numérique de plus en plus perfectionnée. Actuellement, les machines EEG amplifient et filtrent le signal, réalisent une conversion analogique numérique puis l'échantillonnage du signal qui est ensuite stocké et visualisé sur un ordinateur. L'utilisation de l'EEG a de nombreuses applications cliniques et scientifiques et s'est généralisée à toute la population, de l'enfant prématuré à l'adulte.

Ces 30 dernières années, de nombreuses équipes se sont intéressées à l'analyse quantitative de l'EEG (qEEG). Des valeurs numériques sont obtenues à partir des mesures de certaines caractéristiques du signal, permettant une étude plus objective, comparable et reproductible du fonctionnement cérébral normal et pathologique. L'analyse qEEG a été étudiée dans différents contextes, essentiellement chez l'adulte mais également chez le nouveau-né.

En néonatalogie, les marqueurs quantifiant l'amplitude, la continuité ou le contenu fréquentiel du signal sont particulièrement utiles pour évaluer la maturation cérébrale du prématuré ou l'activité cérébrale normale ou pathologique du nouveau-né à terme.

Différentes mesures de l'amplitude du signal, comme l'amplitude moyenne, minimale ou maximale sur un intervalle donné peuvent être calculées à partir de l'EEG d'amplitude. La discontinuité des tracés peut être mesurée par la durée moyenne, prédominante ou maximale des intervalles inter-bouffées (IBI), l'amplitude des IBI, la durée des bouffées, l'amplitude des bouffées ou encore le ratio IBI/bouffées.

Enfin, l'analyse spectrale quantifie l'intensité et la distribution de la fréquence du signal EEG. La puissance de chaque fréquence est calculée à l'aide d'une transformation de Fourier. De nombreuses variables reflétant le contenu spectral du signal ont ainsi été étudiées chez le nouveau-né, comme la puissance spectrale totale, la puissance spectrale absolue ou relative d'une bande de fréquence définie ou encore la Spectral Edge Frequency (SEF), définie comme la fréquence en-dessous de laquelle plus de 90 ou 95% de la puissance du signal existe (90 ou 95%SEF).

Les valeurs d'amplitude, de continuité et de fréquence du signal sont corrélées à la maturation cérébrale et au devenir cognitif et moteur à long terme du prématuré (178–183). Les valeurs de SEF augmentent avec la maturation cérébrale, atteignant des valeurs de 24 Hz en moyenne à terme (37-41 SA) chez des nouveau-nés sains contre 10.8 Hz en moyenne chez les prématurés (29-36 SA) dans l'étude de Bell et al. (184). Chez des nouveau-nés prématurés, la présence de lésions de la substance blanche est associée à une diminution de la SEF jusque 6 Hz [5.6-6.5] chez les enfants ayant des lésions sévères, en comparaison aux enfants ne présentant pas de lésions : 11.2 Hz [8.0-14.9 Hz] (185,186).

Ces marqueurs ont également été étudiés dans un contexte d'anoxie périnatale, pour l'évaluation de la sévérité de l'EAI précoce et la prédiction du pronostic à long terme. Comme nous l'avons vu, la sévérité des tracés EEG post-anoxiques est principalement caractérisée par une diminution de l'amplitude, une augmentation de la longueur des discontinuités et une diminution de la puissance spectrale dans toutes les bandes de fréquence. Par exemple, dans l'étude de Chandrasekaran et al., une amplitude inférieure à 5 μ V avant H6 était associée à un devenir anormal à 18 mois avec une sensibilité de 94% mais une spécificité de 39% (131).

Il a également été montré que la sévérité de l'encéphalopathie anoxo-ischémique et son pronostic à long terme étaient significativement liés à la longueur et au seuil d'amplitude des discontinuités (187–190). Plusieurs algorithmes de détection des discontinuités (ou intervalles inter-bouffées IBI) ont été développés ces dernières années, permettant une analyse automatique de la sévérité de certains tracés néonataux (191–197).

Dans l'étude de Dunne et al., lorsque la durée moyenne des discontinuités (seuil < 10 μV) était de plus de 30 secondes par minute à H24 d'une anoxie périnatale, la valeur prédictive d'un devenir défavorable à 18 mois était de 100%.

Enfin, après une anoxie, les valeurs d'analyse spectrale sont également corrélées au devenir des nouveau-nés. Dans l'étude de Jain et al. par exemple, la puissance absolue totale à H9 post-anoxie était plus basse chez les nouveau-nés ayant des lésions anoxo-ischémiques modérées à sévères à l'IRM cérébrale après HT ($26.9 \mu\text{V}^2 \pm 65.3$) que ceux n'ayant pas ou peu de lésions ($71.6 \pm 64.8 \mu\text{V}^2$, $p=0.02$) (168). La SEF diminue lors de la survenue d'une ischémie cérébrale provoquée par un clampage des carotides lors d'un acte chirurgical (198). Elle a également été étudiée en contexte d'anoxie mais sa valeur pronostique dans ce contexte reste controversée dans les études (199–201).

La littérature montre donc que ces différentes mesures quantitatives EEG, en particulier les données d'amplitude et de continuité, sont intéressantes pour quantifier le retentissement cérébral de l'anoxie dans les premières heures de vie et prédire le pronostic à long terme (155). Cependant, les techniques d'enregistrement EEG, les filtres utilisés et les méthodes d'analyse quantitative ont beaucoup évolué ces dernières années. Il semble donc intéressant de réévaluer certains de ces marqueurs avec les technologies actuelles afin de redéfinir les valeurs qEEG décrivant au mieux la sévérité des tracés EEG néonataux post-anoxiques.

De plus, aucune mesure quantitative ne permet à elle seule de différencier les différents grades de sévérité EEG et individuellement, leur valeur pronostique est limitée (201). Afin de mieux refléter les différentes caractéristiques du tracé de fond EEG et tenter de reproduire l'évaluation visuelle neurophysiologique, ces mesures peuvent être combinées au sein d'algorithmes de classification automatique. Plusieurs équipes proposent déjà des méthodes d'évaluation automatisée de la sévérité des EEG, basées pour la plupart sur des algorithmes de « machine learning » (apprentissage automatique), un sous-domaine d'intelligence artificielle (202–208). Cependant, comme nous le discuterons, aucun de ces modèles n'a été optimisé sur l'évaluation des EEG enregistrés avant la sixième heure de vie et donc sur l'aide à la décision de mise en HT. De plus, la plupart sont basés sur des méthodes complexes, combinant des marqueurs qEEG peu intuitifs et non représentatifs des caractéristiques EEG analysées en pratique clinique neurophysiologique. Enfin, ces modèles ne sont pas forcément

reproductibles et peu adaptés à la pratique clinique. Ainsi, à notre connaissance, aucun outil de diagnostic automatisé de l'EAI basé sur un de ces modèles n'est disponible au lit du malade à ce jour. Cet outil doit être adapté à la pratique clinique : c'est-à-dire disponible 24h/24, facile d'utilisation, fiable dès les premières heures de vie et pouvant donc être utilisé comme support clinique dans les décisions de stratégie thérapeutique.

L'objectif de la première partie de ce travail sera donc d'étudier la pertinence d'un certain nombre de marqueurs qEEG pour quantifier la sévérité des EEG post-anoxiques précoces selon la classification française EEG de l'EAI néonatale. Nous testerons notamment des marqueurs qEEG concrets, déjà disponibles en pratique et reflétant des caractéristiques du tracé de fond EEG analysées par le neurophysiologiste dans ce contexte. Ces marqueurs seront ensuite combinés pour développer un modèle de classification automatique de la sévérité des EEG et de l'évolution clinique des enfants à l'âge de 1 an.

MATERIEL ET METHODES

Design global de l'étude

Dans cette première partie du travail, nous avons étudié les tracés EEG initiaux de nouveau-nés avec une anoxie périnatale. Ces tracés étaient enregistrés avant la sixième heure de vie, soit pendant la phase de latence post-anoxique. Nous avons sélectionné des variables quantitatives EEG (qEEG) permettant de décrire au mieux la classification EEG française de l'EAI néonatale. A partir de la combinaison de ces variables nous avons construit des modèles de classification automatique de la sévérité des EEG. Différentes méthodes ont été testées (*phase de développement*) et les modèles développés ont ensuite été validés sur une cohorte indépendante (*phase de validation*) afin de sélectionner le modèle le plus efficace.

Ces modèles ont ensuite été utilisés pour prédire l'évolution clinique des enfants à 1 an.

I) Base de données

Nous allons présenter 1) les démarches respectées pour le recueil de notre base de données, 2) la population étudiée, 3) les données cliniques et 4) les données EEG recueillies.

I)1. Ethique et démarches légales

L'étude était préalablement déclarée à la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés. Les parents étaient informés de l'utilisation anonyme des données de leur enfant par un document écrit avec obtention de leur non-opposition (référence : DEC20-138).

I)2. Population étudiée

Nous avons utilisé deux bases de données collectées chez des nouveau-nés hospitalisés dans le service de réanimation néonatale du CHRU de Lille pour une anoxie périnatale ([figure I.1](#)).

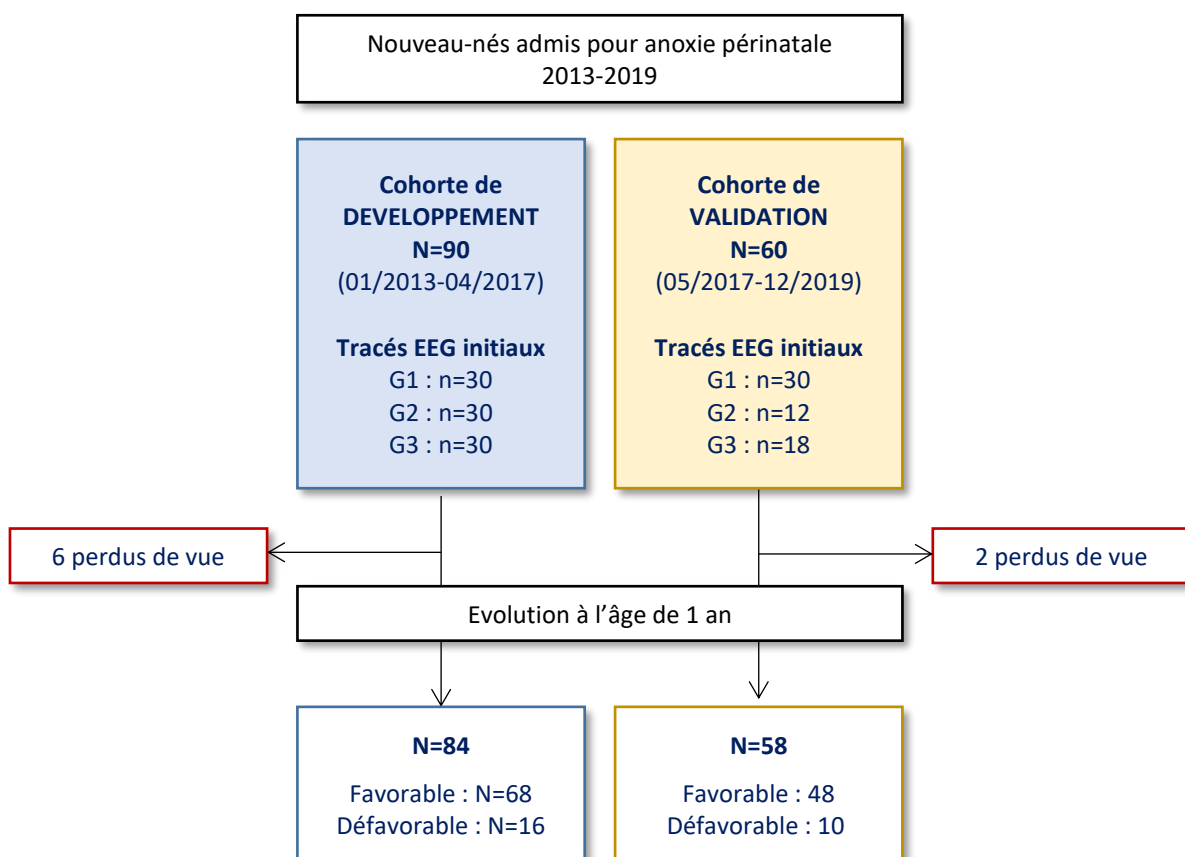
[1] La première base de données, appelée *cohorte de développement*, comprenait 90 nouveau-nés pris en charge entre janvier 2013 et avril 2017.

[2] La deuxième base de données, appelée *cohorte de validation*, comprenait 60 nouveau-nés pris en charge entre mai 2017 et décembre 2019.

Les critères d'inclusion étaient les suivants (209) :

- Contexte périnatal évocateur d'anoxie
- Âge gestationnel ≥ 36 semaines d'aménorrhée (SA) et poids de naissance > 1800 g
- Critères cliniques et/ou biologiques d'anoxie périnatale, comprenant au moins un des critères suivants à la naissance : acidose métabolique avec $\text{pH} \leq 7$ et/ou Base Deficit ≥ 13 mmol/L et/ou lactate ≥ 11 mmol/L au cours de la première heure de vie (prélèvement de sang au cordon, capillaire, veineux ou artériel) ; ou en l'absence de documentation biologique de l'acidose métabolique : un score d'Apgar ≤ 5 à 10 minutes de vie ou la nécessité d'une réanimation ventilatoire à la naissance (intubation ou ventilation au masque), poursuivie à 10 minutes de vie.
- Enregistrement d'un tracé EEG conventionnel avant la 6^{ème} heure de vie (EEG initial).

Figure I.1- Diagramme de flux



G1, G2 et G3 : groupes 1, 2 et 3 de sévérité EEG

1)3. Données cliniques

1.3.1. Données périnatales

Les données cliniques et biologiques néonatales étaient recueillies à partir du compte-rendu d'hospitalisation du service de néonatalogie, en particulier les marqueurs d'anoxie périnatale ou d'EAI suivant :

- Le pH et le lactate sanguins (mmol/l) dosés au cours de la première heure de vie (cordon, capillaire, veineux, artériel)
- Le score d'Apgar (0-10) attribué à 10 minutes de vie (98)
- Le stade de Sarnat (0-3) avant 6 heures de vie (210).

1.3.2. Evolution clinique

L'évolution clinique des enfants était recueillie à l'âge de 1 an, à partir des courriers de consultation de suivi systématique ou par appel téléphonique des médecins traitants pour les enfants perdus de vue.

L'examen neurologique était gradé de 0 à 4 à l'aide d'un score adapté de la classification ICF (International Classification of Functioning, Disability and Health) présenté dans le [tableau I.1](#). L'évolution était décrite comme favorable (score < 3) ou défavorable en cas de séquelles majeures (score ≥ 3) ou du décès de l'enfant. A 1 an, l'évolution clinique a pu être recueillie chez 84 enfants de la cohorte de développement (6 perdus de vue) et 58 enfants de la cohorte de validation (2 perdus de vue), soit 142 enfants au total ([figure I.1](#)).

Tableau I.1 – Score ICF

Score clinique de 0 à 4 adapté de la classification de l'ICF (International Classification of Functioning, Disability and Health (World Health Organization Geneva, 2002)) par Jill C. Heathcock, kinésithérapeute.

1 point est attribué par catégorie de dysfonction :

Score	Type de dysfonction	Exemple
1 point	Déficiences d'une structure ou d'une fonction corporelle*	Hypotonie ou hypertonie axiale, parésie, spasticité, ataxie, déficit sensorial, etc.
1 point	Limitation d'activité	A 1 an : mauvaise tenue de tête, tenue assise non acquise A 2 ans : marche autonome non acquise, absence de développement du langage
1 point	Restriction de participation	Absence de communication à 1 an, absence de jeux à 2 ans, impact sur la vie de famille

* Si plusieurs structures ou fonctions corporelles sont atteintes, le nombre de déficiences est compté dans la catégorie « amount ». En cas d'amount > 4, 1 point est ajouté au score final.

1)4. Données EEG

1.4.1. Tracés analysés

Les 90 tracés EEG initiaux enregistrés chez les nouveau-nés de la *cohorte de développement* étaient utilisés pour sélectionner les variables qEEG les plus pertinentes et entraîner les différents modèles de classification automatique. Les 60 tracés de la *cohorte de validation* étaient utilisés pour tester les modèles développés sur des données indépendantes.

Ces enregistrements étaient débutés dès que possible après la naissance ($3,6 \pm 1,2$ [1-6] heures de vie en moyenne) et duraient 52 ± 29 [20-250] minutes. Le tracé était enregistré à l'aide du logiciel System Plus Evolution Software® (Micromed SAS, Mâcon, France), par l'intermédiaire de 8 électrodes de scalp Nicolet® (F4, C4, T4, O2, F3, C3, T3, O1) positionnées selon le Système International 10 :20 modifié pour la néonatalogie, une électrode terre et une électrode de référence. Les électrodes cupules étaient attachées après nettoyage du scalp grâce à de la pâte adhésive et maintenues par un filet. L'impédance était inférieure à 5 kOhm. Les EEG étaient échantillonnés à 256 Hz.

1.4.2. Groupes de sévérité EEG visuels de référence

Les tracés EEG initiaux des 2 cohortes étaient analysés visuellement et gradés selon la classification EEG française de l'EAI néonatale (108) (tableau 0.1, p.29). Le grade de 0 à 3 était attribué pour le tracé entier selon deux analyses neurophysiologiques indépendantes : une première analyse basée sur le compte-rendu initial de l'EEG, confirmée rétrospectivement par une deuxième analyse en aveugle par rapport aux données cliniques que je réalisais avec l'aide du Dr M-D Lamblin. La cohérence inter-observateur était élevée (tableau I.2) : 89% des EEG initiaux étaient gradés de façon similaire (kappa de Cohen $k=0.84$). En cas de discordance, un troisième neurophysiologiste attribuait le grade final (Dr Laurence Chaton ou Pr Sylvie Nguyen).

Le 1^{er} groupe de sévérité de EEG comprenait les enfants avec un tracé de grade 0 (normal) ou 1 (anomalies minimales). Les groupes 2 et 3 correspondaient respectivement aux tracés avec des anomalies modérées (grade 2) ou sévères (grade 3) (figure I.2).

Les crises étaient définies comme des décharges soudaines, répétitives et stéréotypées durant au moins 10 secondes (211).

Tableau I.2 – Matrice de confusion présentant la cohérence inter-observateur entre les 2 analyses neurophysiologiques visuelles des tracés EEG initiaux.

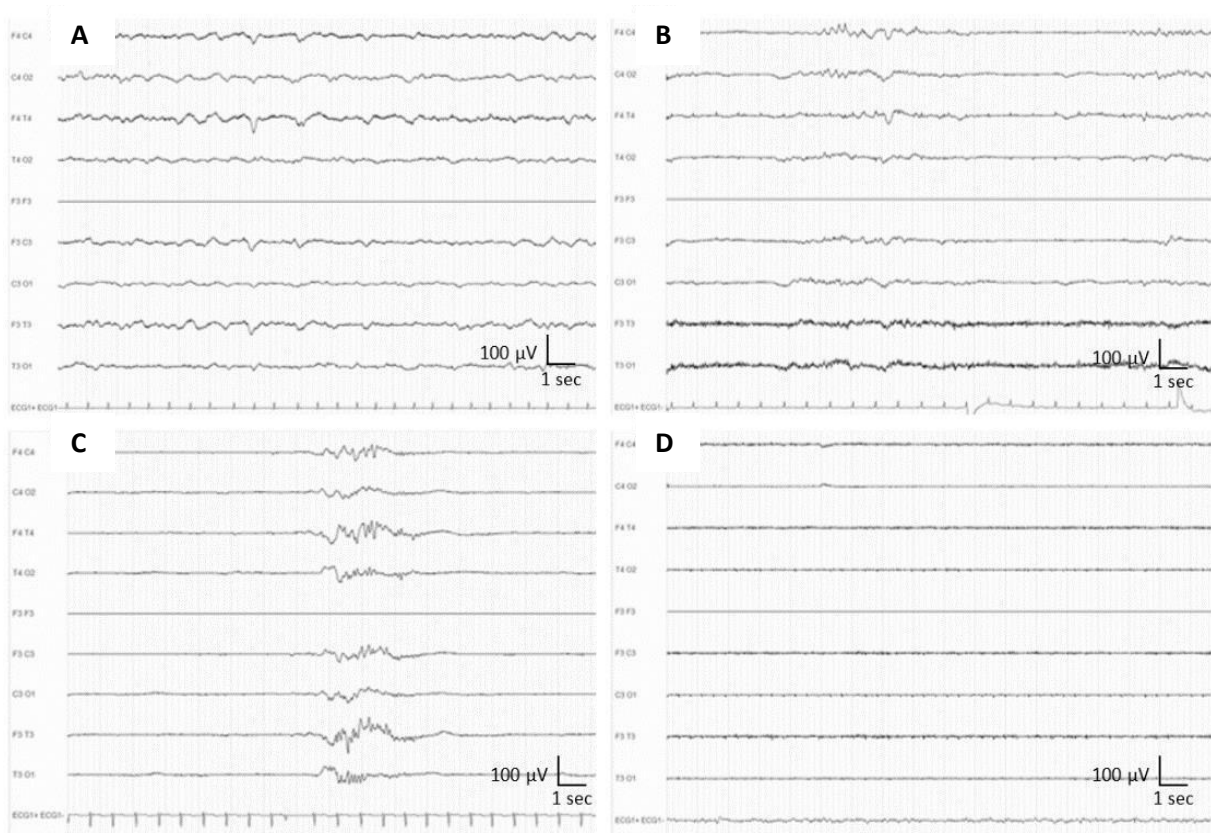
N=150 (ensemble des deux cohortes). **En vert** : tracés classés de façon identique lors des 2 analyses.

2 ^{ème} analyse	1 ^{ère} analyse			Total (2 ^{ème})	Sensibilité
	1	2	3		
1	58	3	0	61	95,1 %
2	6	33	2	41	80,5 %
3	0	5	43	48	89,6 %
Total (1 ^{ère})	64	41	45	150	89,3 %
VPP	90,6%	80,5%	95,6%		

VPP : valeurs prédictives positives

Figure I.2 – Exemples de groupes de sévérité EEG attribués visuellement.

A. Groupe de sévérité 1 : grade 0 (tracé normal) ; **B.** Groupe de sévérité 2 : grade 2B (discontinu type B) ;
C. Groupe de sévérité 3 : grade 3 (tracé paroxystique) ; **D.** Groupe de sévérité 3 : grade 3 (tracé inactif).



Dans la cohorte de développement (n=90), 30 tracés EEG initiaux étaient inclus de façon consécutive dans chaque groupe de sévérité afin d'obtenir 3 groupes de tailles égales. La cohorte de validation (n=60) comprenait 30 tracés EEG initiaux dans le groupe 1, 12 tracés dans le groupe 2 et 18 tracés dans le groupe 3 (figure I.1).

RESUME I / BASE DE DONNEES

- **2 bases de données : nouveau-nés à terme avec anoxie périnatale**
 - Cohorte de développement (N=90)
 - Cohorte de validation (N=60)
- **3 groupes de sévérité EEG visuels selon la classification française**
 - G1 : tracés normaux / anomalies minimales
 - G2 : anomalies modérées
 - G3 : anomalies sévères
- **Evolution clinique à 1 an :**
 - Favorable
 - Défavorable (décès ou séquelles majeures)

II. Quantification de la sévérité des EEG initiaux

Les trois groupes de sévérité EEG visuels, déterminés à partir de la classification visuelle française de l'EAI néonatale, étaient quantifiés à l'aide de marqueurs quantitatifs EEG mesurant l'amplitude, la continuité et le contenu fréquentiel du tracé de fond, soit les aspects EEG utilisés en pratique pour différencier visuellement les stades de cette classification.

Nous allons présenter 1) la méthode d'analyse quantitative des EEG, 2) la sélection des variables qEEG les plus pertinentes pour décrire les groupes de sévérité EEG visuels, 3) les analyses statistiques utilisées pour étudier ces variables qEEG par rapport aux groupes de sévérité et par rapport à l'évolution clinique.

II)1. Analyse quantitative EEG

L'analyse quantitative était réalisée à partir des tracés EEG bruts entiers sans traitement préalable du signal ([figure 1.3](#)), à l'aide de l'outil « EEG Analyser » (System Plus Evolution, Micromed®). Le logiciel était paramétré avec un filtre de 0,5-70 Hz et les bandes de fréquence étaient définies comme telles : Delta = 0,5-3,5 Hz ; Thêta = 4,0-7,5 Hz ; Alpha 8,0-12,5 Hz ; Beta 13-19,5 Hz.

Six marqueurs qEEG étaient utilisés (figure I.3B) :

- les *Index d'Amplitude* (IA) minimal et maximal, correspondant aux pics minimal et maximal de l'enveloppe d'amplitude de l'aEEG (CFM) sur un segment donné (μV). Le signal était préalablement filtré à 2-20 Hz.

- le *Burst Suppression Ratio* (BSR), correspondant au ratio de la durée des discontinuités sur la durée totale du segment analysé (%). Les discontinuités étaient détectées lorsque l'amplitude était inférieure à $5 \mu\text{V}$ durant plus de 500 ms. S'il y avait plusieurs segments de discontinuités sur l'intervalle analysé, la mesure correspondait à la somme de ces segments.

Trois paramètres d'analyse spectrale, mesurant l'intensité et la distribution du signal EEG :

- la *Puissance spectrale Absolue Totale* (PT), calculée à l'aide d'une transformée de Fourier comme la puissance spectrale absolue sur toutes les fréquences entre 0,5 et 19,5 Hz (μV^2).

- la *Puissance spectrale Relative des Basses Fréquences* (PR), correspondant au ratio de la puissance absolue des basses fréquences (0,5-5 Hz) sur la puissance absolue totale (%).

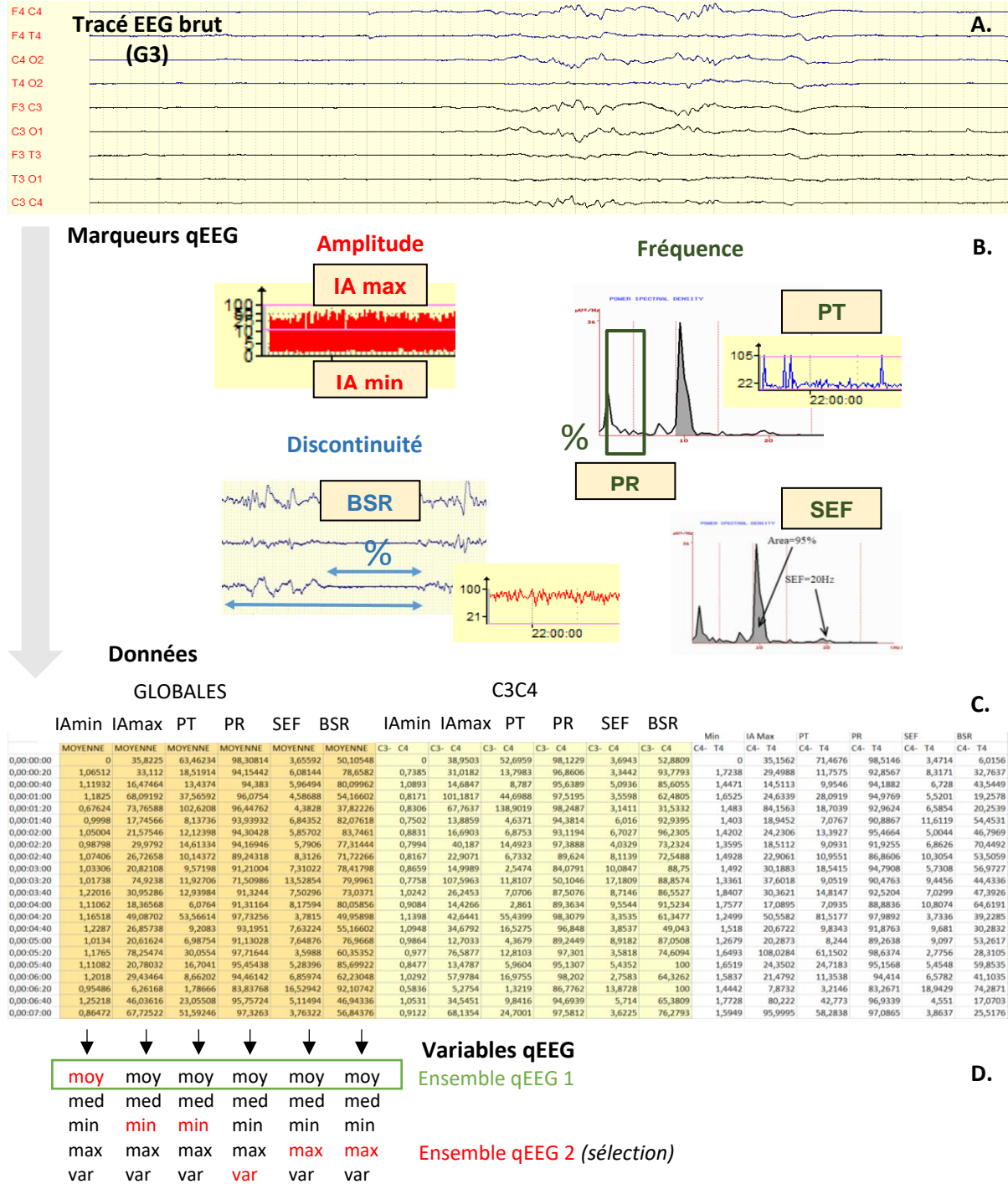
- la *Spectral Edge Frequency* (SEF), correspondant à la fréquence en-dessous de laquelle 95% de la puissance spectrale absolue totale existe (Hz).

Les marqueurs qEEG étaient mesurés automatiquement toutes les 2 secondes (fenêtre de glissement de 50%) avec une moyenne toutes les 20 secondes sur les dérivation bipolaires C3-C4, C4-T4, C4-O2, C3-T3 et C3-O1. Les mesures des 5 dérivation étaient moyennées afin d'obtenir pour chaque marqueur une mesure reflétant l'ensemble de l'EEG (*EEG global*) toutes les 20 secondes (figure I.3C),

Les valeurs minimale, maximale, moyenne, médiane et le coefficient de variation étaient calculées à partir des mesures des 6 marqueurs qEEG sur le tracé entier, soit 30 variables qEEG par tracé (figure I.3D).

Figure I.3 – Marqueurs qEEG et méthode d’analyse quantitative.

- A. Analyse quantitative du tracé EEG brut entier (groupe 3 visuel) avec l’outil EEG Analyser, Micromed ©
- B. Mesure de 6 marqueurs quantitatifs reflétant l’amplitude, la discontinuité et le contenu fréquentiel du signal, toutes les 20 sec sur chaque dérivation bipolaire.
- C. Calcul de la moyenne des données qEEG sur l’ensemble des dérivations pour chaque mesure.
- D. Calcul des valeurs moyenne, médiane, minimale, maximale et coefficient de variation de chaque marqueur sur le tracé entier.



IA min : Index d’Amplitude minimal (μV) ; IA max : Index d’Amplitude maximal (μV) ; BSR : Burst Suppression Ratio (%) ; PT : Puissance Absolue Totale (μV^2) ; PR : Puissance Relative des Basses Fréquences (%) ; SEF : Spectral Edge Frequency (Hz).

II)2. Sélection des variables qEEG

Parmi les 30 variables qEEG obtenues, deux ensembles de variables étaient considérés pour construire les modèles de classification automatique des EEG :

- L'ensemble de variables *qEEG 1*, correspondant aux valeurs moyennes des 6 marqueurs qEEG sur le tracé entier : IA min [moy], IA max [moy], BSR [moy], PT [moy], PR [moy] et SEF [moy].
- L'ensemble de variables *qEEG 2*, correspondant aux 6 variables sélectionnées préalablement sur la cohorte de développement comme les plus pertinentes pour décrire les 3 groupes de sévérité EEG visuels :
 - la valeur moyenne de l'Index d'Amplitude minimal (IA min [moy])
 - la valeur minimale de l'Index d'Amplitude maximal (IA max [min])
 - la valeur maximale du Burst Suppression Ratio (BSR [max])
 - la valeur minimale de la Puissance Totale (PT [min])
 - le coefficient de variation de la Puissance Relative des basses fréquences (PR [var])
 - la valeur maximale de la SEF (SEF [max]).

Il s'agissait des variables les mieux associées aux 3 groupes de sévérité lors d'une analyse de régression logistique, les moins corrélées entre elles (analyse de corrélation de Spearman) et les moins sensibles à la présence d'artefacts. Ce travail préalable a été publié dans l'article « Quantitative approach of early neonatal EEG visual analysis in hypoxic-ischemic encephalopathy severity. Bridging the gap between eyes and machine; Lacan L, Betrouni N, Lamblin MD, Chaton L, Delval A, Bourriez JL et al. Journal Neurophysiologie Clinique. 2020 » (212).

Ces différentes variables étaient calculées à partir des données qEEG de l'ensemble des dérivations (*EEG global*) ou des données de la dérivation C3-C4 seule.

II)3. Analyses statistiques

2.3.1. Analyses descriptives

Les caractéristiques cliniques, biologiques et les données qEEG étaient décrites par la moyenne, l'écart-type, les valeurs minimales et maximales pour les variables quantitatives et par le pourcentage de données disponibles pour les variables qualitatives.

2.3.2. Analyses par rapport aux groupes de sévérité EEG

Les variables quantitatives étaient analysées par rapport aux 3 groupes de sévérité EEG par un test de Kruskal-Wallis (seuil de significativité $p \leq 0,05$). Si les résultats étaient significatifs, une analyse post-hoc des grades différenciés était réalisée par un test de Dunn (seuil de significativité $p \leq 0,016$ après correction de Bonferroni). Les variables qualitatives étaient analysées par un test du khi² ($p \leq 0,05$).

2.3.3. Analyses par rapport à l'évolution clinique

Les variables quantitatives étaient testées par rapport à l'évolution clinique favorable ou défavorable à 1 an par un test de Mann-Whitney (seuil de significativité $p \leq 0,05$). La valeur prédictive des données qEEG sur l'évolution clinique était calculée selon l'aire sous la courbe ROC.

Je réalisais les analyses avec le logiciel XlStat pour Microsoft Excel (AddInSoft, Paris, France), avec l'aide de Nacim Betrouni (service de Neurophysiologie Clinique, CHRU Lille).

RESUME II / QUANTIFICATION DES GROUPES DE SEVERITE EEG

- **6 marqueurs qEEG**

- amplitude : IA min, IA max
- discontinuité : BSR
- contenu fréquentiel : PT, PR et SEF

- **2 ensembles de variables qEEG**

- valeurs moyennes des 6 marqueurs (IA min [moy], IA max [moy], BSR [moy], PT [moy], PR [moy] et SEF [moy])
- valeurs sélectionnées des 6 marqueurs (IA min [moy], IA max [min], BSR [max], PT [min], PR [var] et SEF [max])

Issues de l'EEG global ou de C3C4

III. Classification automatique des groupes de sévérité EEG initiaux

Les 6 variables qEEG étaient combinées dans des modèles de classification automatique. Plusieurs méthodes étaient évaluées afin d'obtenir le modèle le plus performant pour classer les groupes de sévérité EEG visuels selon la classification française (figure I.4).

Nous allons présenter 1) les différents modèles testés selon les données qEEG et les algorithmes utilisés, 2) la phase de développement des algorithmes, 3) la phase de validation sur une cohorte indépendante.

III)1. Différents modèles de classification automatique

3.1.1. Selon les données qEEG combinées

Différentes combinaisons de variables qEEG étaient testées :

- l'ensemble de variables *qEEG 1*, correspondant aux valeurs moyennes des 6 marqueurs : IA min [moy], IA max [moy], BSR [moy], PT [moy], PR [moy] et SEF [moy] (*modèle qEEG 1*).
- l'ensemble de variables *qEEG 2*, correspondant aux variables sélectionnées : IA min [moy], IA max [min], BSR [max], PT [min], PR [var] et SEF [max] (*modèle qEEG 2*).

Ces variables qEEG étaient issues de l'ensemble des dérivation (modèles qEEG 1-2/*global*) ou d'une seule dérivation (modèles qEEG 1-2/*C3C4*).

3.1.1. Selon les algorithmes de classification automatique utilisés

Plusieurs types d'algorithmes d'apprentissage machine avec différents paramètres étaient testés pour combiner ces variables :

- Arbres de classification (AC)
- Analyses factorielles discriminantes (AFD) : linéaire, quadratique
- Machines à vecteur de support (SVM) : noyau linéaire, quadratique, cubique, gaussien
- Méthodes des k plus proches voisins (KNN) : distance euclidienne, cosinus, cubique

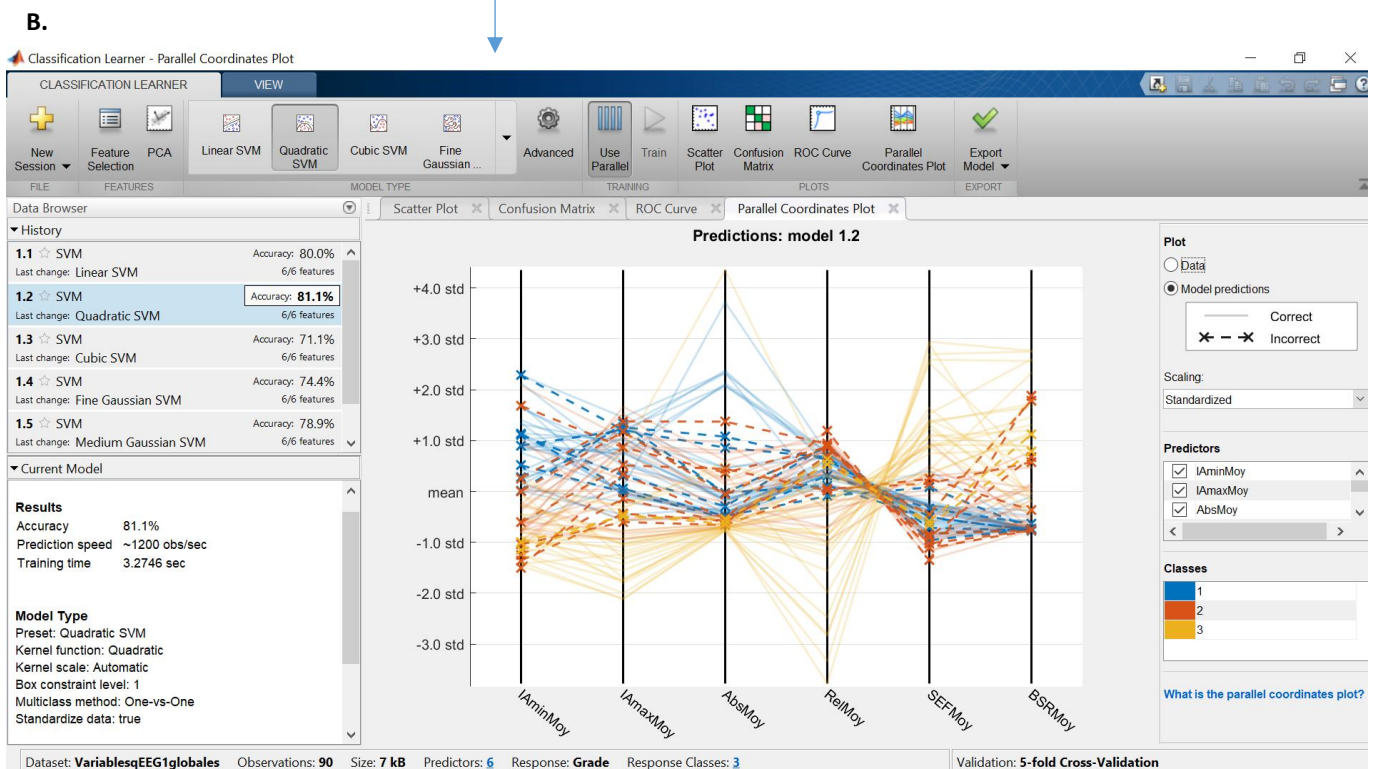
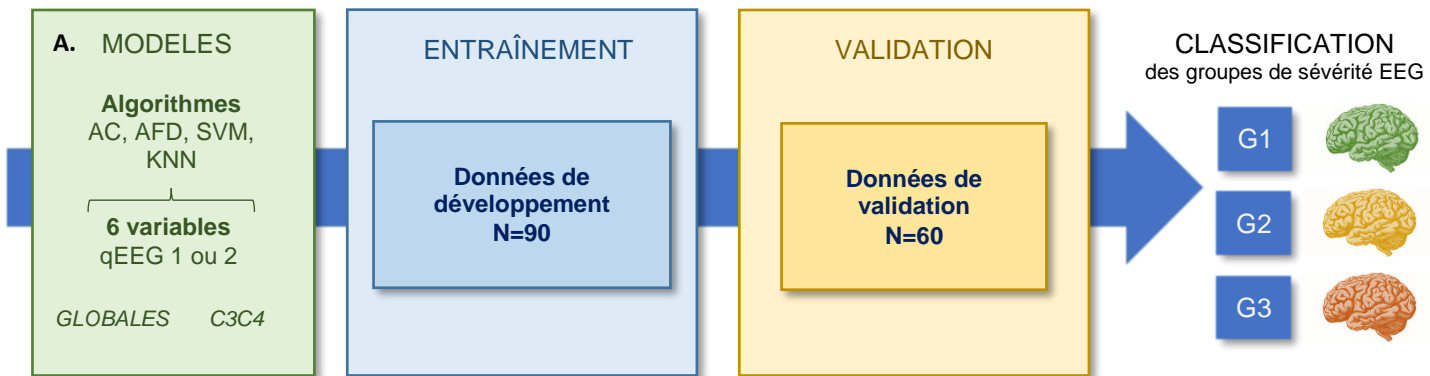
Ces différentes méthodes de classification automatique sont détaillées en annexe (A.1).

Je réalisais les analyses à l'aide du logiciel MATLAB (version 2017a), Classification Learner App©.

Figure I.4 - Développement et validation des différents modèles de classification automatique de la sévérité des EEG initiaux

A. En phase de développement : entraînement des algorithmes à classer les tracés de la cohorte de développement (N=90) selon les 3 groupes de sévérité EEG visuels : à partir des données des variables qEEG 1 ou 2 issues de l'ensemble des dérivations (globales) ou de C3C4. En phase de validation, application des modèles obtenus sur la cohorte de validation (N=60) pour classer les groupes de sévérité EEG.

B. Exemple d'entraînement de modèles EEG : algorithmes de SVM avec différents réglages (Matlab®). Ici, l'algorithme de SVM à noyau quadratique permet de classer correctement 81,1% des tracés à partir des données des 6 variables qEEG 1 issues de l'EEG global.



* AC : arbre de classification, AFD : analyse factorielle discriminante, SVM : Machine à vecteur de support, KNN : méthode des plus proches voisins.

Variables qEEG 1 : valeurs moyennes des marqueurs sur le tracé entier ; Variables qEEG 2 : valeurs sélectionnées des marqueurs, calculées sur le tracé entier.

Globales : calculées à partir de l'EEG global (ensemble des dérivations) ; C3C4 : calculées à partir de la dérivation C3C4.

G1, G2 et G3 : groupes 1, 2 et 3 de sévérité EEG selon la classification française.

III)2. Phase de développement des modèles

Les algorithmes des différents modèles étaient entraînés à classer au mieux les 3 groupes de sévérité EEG à partir des données de la cohorte de développement (n=90). Une méthode de validation croisée à 5 échantillons* était utilisée et les résultats de développement de chaque modèle sont présentés comme la performance moyenne sur 10 entraînements. La performance de classification globale correspond au pourcentage total de tracés bien classés dans les 3 groupes (sensibilité). La performance de classification du groupe 1 par rapport aux groupes 2 et 3 combinés était également calculée, correspondant au seuil thérapeutique pour l'indication d'HT. L'objectif était d'obtenir la meilleure performance de classification globale tout en minimisant le nombre d'enfants du groupe 2-3 sous-classés dans le groupe 1 (correspondant aux enfants non traités par erreur).

** Méthode d'apprentissage automatique avec laquelle les données sont divisées en N échantillons (ici 5), l'algorithme est entraîné automatiquement sur 1 échantillon et appliqué sur les N-1 autres avec répétition de l'opération afin d'obtenir une moyenne des performances de classification sur tous les échantillons.*

III)3. Phase de validation des modèles

Les différents modèles ainsi optimisés étaient ensuite testés directement sur les tracés EEG initiaux de la cohorte de validation (n=60). Les modèles étaient exportés dans Matlab puis appliqués aux données qEEG de validation afin de les classer selon les 3 groupes de sévérité. Les groupes attribués étaient comparés aux groupes visuels de référence afin de déterminer la performance de chaque modèle. Les résultats des modèles les plus performants sont présentés sous forme d'une matrice de confusion avec calcul du kappa de Cohen, de la sensibilité, spécificité et des valeurs prédictives positives et négatives. Les données des enfants mal classés étaient analysées afin de mieux comprendre les erreurs des modèles.

RESUME III / CLASSIFICATION AUTOMATIQUE DE LA SEVERITE DES EEG

- **Algorithmes** de classification automatique combinant les 6 variables qEEG 1 ou 2, issues de l'EEG global ou de C3C4
- **Entraînement** à classer au mieux les 90 tracés EEG initiaux de la cohorte de développement en 3 groupes de sévérité EEG visuels de référence.
- **Validation** des modèles sur les 60 tracés initiaux de la cohorte de validation indépendante.

IV. Prédiction automatique de l'évolution clinique à 1 an

Dans un deuxième temps, nous avons utilisé les mêmes variables qEEG mesurées à partir des tracés EEG initiaux pour prédire automatiquement l'évolution clinique des enfants à l'âge de 1 an. Les 6 variables qEEG étaient utilisées seules (*modèle EEG*) ou associées à des marqueurs cliniques et biologiques d'anoxie périnatale et d'encéphalopathie, afin de vérifier si ces dernières permettaient d'améliorer la prédiction du pronostic à long terme (*figure I.5*).

Marqueurs cliniques/biologiques d'anoxie périnatale ou d'EAI associés :

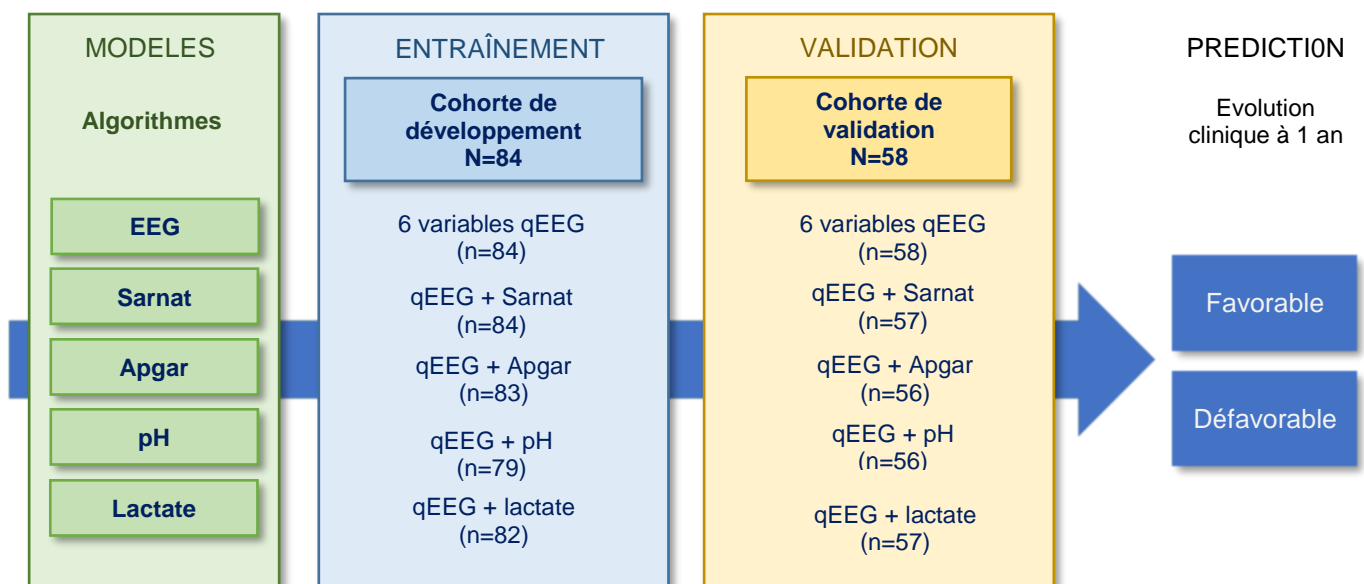
- pH et lactate (mmol/l) dosés avant H1 (*modèles pH et lactate*)
- score d'Apgar (0-10) attribué à 10 minutes de vie (*modèle Apgar*)
- stade de Sarnat (0-3) attribué avant H6 (*modèle Sarnat*)

Les différents modèles étaient entraînés sur les données de la cohorte de développement (n=84) puis testés sur la cohorte de validation (n=58) selon la même méthode. Les prédictions des modèles étaient comparées à l'évolution réelle des enfants.

Figure I.5 - Développement et validation des différents modèles de prédiction automatique de l'évolution clinique à 1 an.

Phase de développement : entraînement de l'algorithme à classer automatiquement les tracés de la cohorte de développement selon l'évolution clinique favorable ou défavorable à 1 an : à partir des données des variables qEEG seules ou associées à des marqueurs multimodaux d'anoxie périnatale/d'EAI.

Phase de validation : application des modèles sur la cohorte de validation pour prédire l'évolution clinique.



RESUME IV / PREDICTION AUTOMATIQUE DE L'EVOLUTION CLINIQUE

- **Algorithmes** de classification automatique combinant 6 variables qEEG ± 1 marqueur clinique ou biologique d'anoxie / d'EAI
- **Entraînement** à classer au mieux les tracés EEG initiaux de la cohorte de développement (N=84) selon l'évolution clinique favorable / défavorable de l'enfant à l'âge de 1 an
- **Validation** : prédiction de l'évolution clinique à partir des tracés de la cohorte de validation (N=58)

RESULTATS**I. Caractéristiques cliniques de la base de données**

Concernant les données démographiques : le genre, l'âge gestationnel et le poids de naissance des nouveau-nés des deux bases de données étaient similaires entre les 3 groupes de sévérité EEG.

Pour la majorité des patients, la grossesse s'était déroulée sans complication et l'accouchement se faisait par césarienne en urgence ([tableau I.3A](#)).

Concernant les marqueurs cliniques et biologiques d'anoxie/d'EAI : le score d'Apgar à la naissance et le stade de Sarnat avant H6 différaient de façon significative entre les 3 groupes de sévérité contrairement aux valeurs de pH et de lactate. La majorité des patients ayant un stade de Sarnat à 1 étaient dans le groupe 1 et ceux ayant un Sarnat à 3 dans le groupe 3. Le stade de Sarnat 2 était retrouvé dans les 3 groupes ([tableau I.3B](#)).

Les conditions d'enregistrement des EEG initiaux différaient pour le groupe 3 (tracés sévères) dans lequel la majorité des patients étaient sédatisés (44%), intubés (90%) et en hypothermie passive (69%). Les caractéristiques visuelles des tracés sont détaillées dans le [tableau I.3C](#), il y avait peu de crises.

Tableau I.3 - Caractéristiques cliniques des patients en fonction des groupes de sévérité EEG initiaux.

A. Caractéristiques périnatales ; B. Marqueurs d'anoxie périnatale ; C. Caractéristiques des tracés EEG initiaux ; D. Evolution clinique à 1 an. Cohortes de développement et de validation (N=150).

Les valeurs p sont calculées par rapport aux 3 groupes de sévérité (test de Kruskal-Wallis ou khi²).

A. Caractéristiques périnatales					
<i>moyenne ± e-t ou N(%)</i>	N=150	Groupe 1 (n=60)	Groupe 2 (n=42)	Groupe 3 (n=48)	Valeur p
Genre (M/F)	101/49	42/18	25/17	34/14	0.44 / 0.44
Âge gestationnel (SA)	39,4 ± 4,8	39,6 ± 1,7	39,4 ± 6,2	39,2 ± 5,9	0.335
Poids de naissance (g)	3132 ± 622	3205 ± 614	2984 ± 663	3168 ± 571	0.197
Déroulement de la grossesse :					
Normal	96 (64%)	41 (69%)	23 (55%)	32 (67%)	0.290
Complication maternelle ¹	32 (21%)	12 (20%)	11 (26%)	9 (19%)	0.667
Complication foetale ²	21 (14%)	6 (10%)	8 (19%)	7 (15%)	0.447
Modalités d'accouchement :					
Césarienne en urgence	81 (54%)	34 (57%)	24 (57%)	23 (48%)	0.914
Voie basse simple	34 (23%)	10 (17%)	9 (21%)	15 (31%)	0.193
Extraction instrumentale	31 (21%)	14 (23%)	8 (19%)	9 (19%)	0.805
Césarienne programmée	4 (3%)	2 (3%)	1 (2%)	1 (2%)	0.914
B. Marqueurs d'anoxie périnatale					
<i>moyenne ± e-t ou N(%)</i>	N=150	Groupe 1 (n=60)	Groupe 2 (n=42)	Groupe 3 (n=48)	Valeur p
Marqueurs cliniques					
Apgar à 10 min	5,2 ± 2,9	6,1 ± 2,9	5,9 ± 2,5	3,5 ± 2,6	<0.001
Stade de Sarnat					
1	34 (23%)	26 (43%)	6 (14%)	2 (4%)	<0.001
2	87 (58%)	33 (55%)	31 (74%)	23 (48%)	<0.001
3	29 (19%)	1 (2%)	5 (12%)	23 (48%)	<0.001
Marqueurs biologiques					
pH avant H1	6,97 ± 0,17	6,97 ± 0,10	6,98 ± 0,21	6,95 ± 0,19	0.780
Lactate avant H1 (mmol/L)	12,1 ± 3,8	11,9 ± 3,4	12,0 ± 3,9	12,4 ± 4,1	0.723
C. Tracés EEG initiaux					
<i>moyenne ± e-t ou N(%)</i>	N=150	Groupe 1 (n=60)	Groupe 2 (n=42)	Groupe 3 (n=48)	Valeur p
Conditions d'enregistrement :					
Sédation or analgésie ³	38 (25%)	4 (7%)	13 (31%)	21 (44%)	<0.001
Ventilation invasive	88 (59%)	17 (28%)	28 (67%)	43 (90%)	<0.001
Hypothermie (T°<34°C)	62 (42%)	9 (16%)	20 (48%)	33 (69%)	<0.001
Température corporelle (°C)	34,5 ± 1,7	35,5 ± 1,3	34,3 ± 1,6	33,7 ± 1,6	<0.001

Analyse visuelle :					
Présence de crises	16 (11%)	0	5 (12%)	11 (23%)	0.001
Grades visuels détaillés ⁴		0 : 20 (33%)	2A : 23 (55%)	3P : 27 (56%)	
		1 : 40 (67%)	2B : 19 (45%)	3I : 21 (44%)	-
D. Evolution clinique à 1 an					
<i>N(%)</i>	N=142	Groupe 1 (n=59)	Groupe 2 (n=38)	Groupe 3 (n=45)	Valeur p
Favorable	116 (82%)	59 (100%)	36 (95%)	21 (47%)	<0.001
Défavorable	26 (18%)	0	2 (5%)	24 (53%)	<0.001
dont décès néonataux	22	0	2	20	

¹ Complication maternelle : ex. diabète gestationnel, pathologie maternelle, prise de traitement ou de toxiques, etc.

² Complication fœtale : ex. RCIU, anomalie échographique, grossesse gémellaire, etc.

³ Prise d'un traitement sédatif, anticonvulsivant ou antalgique : phénobarbital, clonazepam, morphine ou sufentanyl.

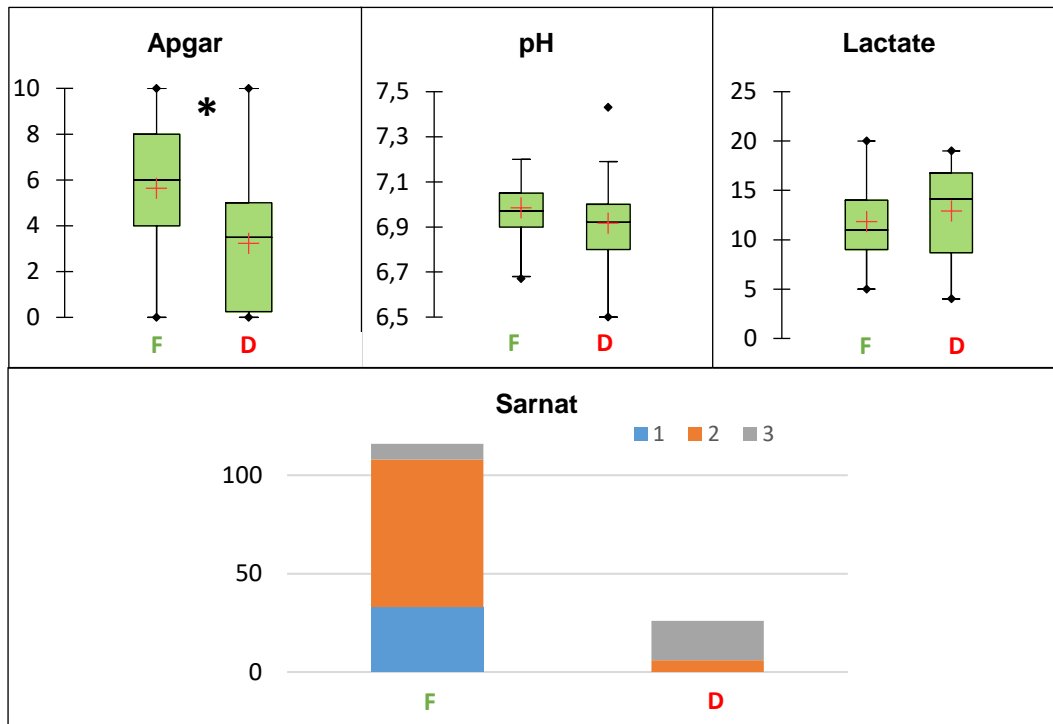
⁴ Grade 0 : tracé normal ; Grade 1 : tracé subnormal ; Grade 2A : tracé discontinu type A ou tracé hyperactif rapide ou tracé lent ; Grade 2B : tracé discontinu type B ; Grade 3P : tracé paroxystique ou tracé pauvre plus thêta ; Grade 3I : trace inactif (cf tableau 0.1).

L'évolution clinique à 1 an des 142 enfants suivis était significativement différente entre les 3 groupes : 82% des enfants avaient une évolution clinique favorable, notamment tous les enfants ayant un tracé EEG initial du groupe 1. Parmi les 26 enfants ayant une évolution clinique défavorable (18%), 22 étaient décédés en période néonatale dont 20 enfants du groupe 3 (tableau I.3D). Ces 26 enfants avaient un score d'Apgar à 10 minutes de vie significativement plus bas et la majorité (77%) avait un stade de Sarnat à 3. Les valeurs des marqueurs biologiques (pH et lactate) ne différaient pas en fonction de l'évolution (figure I.6).

Figure I.6 – Marqueurs cliniques et biologiques d'anoxie périnatale ou d'EAI en fonction de l'évolution clinique des enfants à 1 an.

Box Plots : données des deux cohortes dans les 2 groupes d'évolution (F=favorable, D=défavorable) avec la moyenne (+) et la médiane (-). Score d'Apgar à 10 minutes (n=147), pH (n=142), lactate en mmol/L (n=146), stade de Sarnat : nombre de patient pour chaque stade 1-3 (n=150).

* : différence significative entre les 2 groupes (test de Mann-Whitney).



II. Données quantitatives des EEG initiaux

II)1. Par rapport aux groupes de sévérité EEG visuels de la classification française

Les valeurs quantitatives d'amplitude, de puissance absolue totale et de puissance relative des basses fréquences EEG diminuaient avec la sévérité des tracés alors que les valeurs de discontinuité (BSR), de SEF et de variation de la puissance relative augmentaient.

Les données qEEG des deux cohortes différaient significativement entre les 3 groupes de sévérité EEG pour toutes les variables étudiées (tableau I.4). Lors des analyses post-hoc, les variables étaient différentes entre chaque groupe de sévérité après correction de Bonferroni ($p < 0,001$) hormis entre les groupes 1 et 2 pour la valeur moyenne de l'Index d'Amplitude maximal ($p = 0,032$), la valeur moyenne et le coefficient de variation de la PR ($p = 0,079$ et $p = 0,036$ respectivement) et les valeurs moyenne et maximale de la SEF ($p = 0,185$ et $p = 0,081$ respectivement).

Tableau I.4 - Données quantitatives EEG en fonction des groupes de sévérité EEG visuels.

Variabes qEEG *globales* : moyenne des 6 marqueurs (ensemble qEEG 1) et variables sélectionnées (ensemble qEEG 2) surlignées en gris.

Valeurs moyennes \pm écart-type (min-max) : sur l'ensemble des 2 cohortes (N=150), dans les groupes 1, 2 et 3. Les valeurs p sont calculées par un test de Kruskal-Wallis entre les 3 groupes de sévérité EEG visuels ($p < 0,05$). Analyse post-hoc (test de Dun) : * valeurs significatives versus G1 ($p < 0,016$) ; + valeurs significatives versus G2 ($p < 0,016$).

Variables qEEG		N=150	Groupe 1 (n=60)	Groupe 2 (n=42)	Groupe 3 (n=48)	Valeur p
IA min	moyenne	2.9 \pm 1.3 (0.8–6.1)	4.0 \pm 1.0 (1.9–6.1)	2.7 \pm 1.2 (1.3–6.1)*	1.7 \pm 0.7 (0.8–3.4)*+	<0.001
	IA max	57.0 \pm 22.8 (7.0–91.6)	71.7 \pm 11.7 (42.2–89.7)	63.1 \pm 16.7 (33.8–91.6)	33.2 \pm 18.4 (7.0–72.3)*+	<0.001
BSR	min	29.5 \pm 18.3 (3.1–73.5)	43.2 \pm 10.9 (18.8–64.0)	32.1 \pm 16.6 (5.5–73.5)*	10.1 \pm 7.0 (3.1–37.5)*+	<0.001
	moyenne	19.2 \pm 26.5 (0–97.2)	1.1 \pm 2.8 (0.0–16.8)	11.6 \pm 13.3 (0.0–48.0)*	48.3 \pm 26.9 (3.8–97.2)*+	<0.001
PT	max	34.8 \pm 34.2 (0–100)	6.4 \pm 8.3 (0.0–44.6)	33.9 \pm 28.3 (0.0–94.4)*	71.0 \pm 23.6 (12.7–100)*+	<0.001
	moyenne	257.9 \pm 315.8 (1.3–21791.2)	390.5 \pm 381.3 (85.2–2179.2)	203.8 \pm 158.8 (20.4–589.4)*	139.5 \pm 268.7 (1.3–1629.5)*+	<0.001
PR	min	42.6 \pm 43.4 (0.4–211.0)	73.5 \pm 35.1 (12.6–177.5)	40.6 \pm 44.6 (1.5–211.0)*	5.8 \pm 9.7 (0.4–57.5)*+	<0.001
	moyenne	86.7 \pm 9.3 (48.6–97.4)	91.7 \pm 2.5 (84.9–96.4)	89.5 \pm 5.0 (77.3–96.7)	78.2 \pm 11.5 (48.6–97.4)*+	<0.001
SEF	variation	6.6 \pm 5.6 (1.2–30.4)	3.6 \pm 1.5 (1.4–8.6)	5.2 \pm 3.1 (1.2–12.0)	11.5 \pm 7.2 (3.5–30.4)*+	<0.001
	moyenne	10.4 \pm 4.8 (4.1–24.5)	7.6 \pm 1.6 (4.4–12.5)	8.6 \pm 2.7 (4.2–15.2)	15.3 \pm 5.1 (4.1–24.5)*+	<0.001
	max	18.9 \pm 5.3 (7.5–28.0)	15.9 \pm 4.1 (7.5–24.3)	17.8 \pm 4.8 (7.6–25.8)	23.7 \pm 3.5 (13.3–28.0)*+	<0.001

IA min : Index d'Amplitude minimal (μV) ; IA max : Index d'Amplitude maximal (μV) ; BSR : Burst Suppression Ratio (%) ; PT : Puissance Absolue Totale (μV^2) ; PR : Puissance Relative des Basses Fréquences (%) ; SEF : Spectral Edge Frequency (Hz).

II)2. Par rapport à l'évolution clinique

Les valeurs moyennes des 6 marqueurs différaient également selon l'évolution clinique des enfants à 1 an ([figure I.7](#)). Les seuils permettant de discriminer au mieux l'évolution favorable ou défavorable des enfants étaient de 2 μV pour l'amplitude minimale (Se 0.70 ; Sp 0.85 ; VPP 0.95 ; VPN 0.39), 42 μV pour l'amplitude maximale (Se 0.85 ; Sp 0.81 ; VPP 0.95 ; VPN 0.54), 6% pour le BSR (Se 0.65 ; Sp 1 ; VPP 1 ; VPN 0.39), 83 μV^2 pour la puissance totale (Se 0.81 ; Sp 0.85 ; VPP 0.96 ; VPN 0.50), 85% pour la puissance relative (Se 0.86 ; Sp 0.73 ; VPP 0.94 ; VPN 0.54) et 11 Hz pour la SEF (Se 0.78 ; Sp 0.85 ; VPP 0.96 ; VPN 0.47).

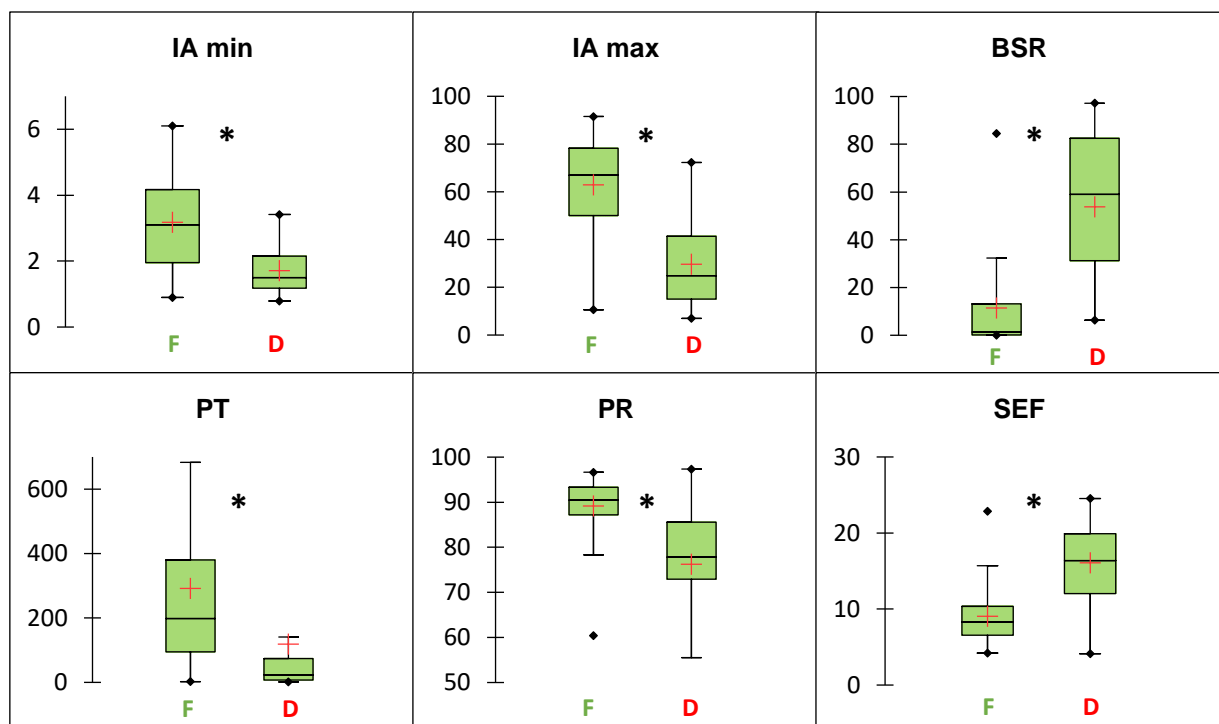
A noter que la valeur prédictive d'une évolution favorable était de 100% au-delà d'un seuil de 3 μV d'amplitude minimale, 72 μV d'amplitude maximale et en-dessous du seuil de 6% de discontinuité (BSR). Les courbes ROC sont présentées dans la [figure I.8](#).

Figure I.7 – Données qEEG en fonction de l'évolution clinique des enfants à 1 an.

Box Plots : données des deux cohortes (N=150) dans les 2 groupes d'évolution (F=favorable, D=défavorable) avec la moyenne (+) et la médiane (-).

Données qEEG : moyennes des marqueurs sur le tracé EEG global.

* : différence significative entre les 2 groupes (test de Mann-Whitney).

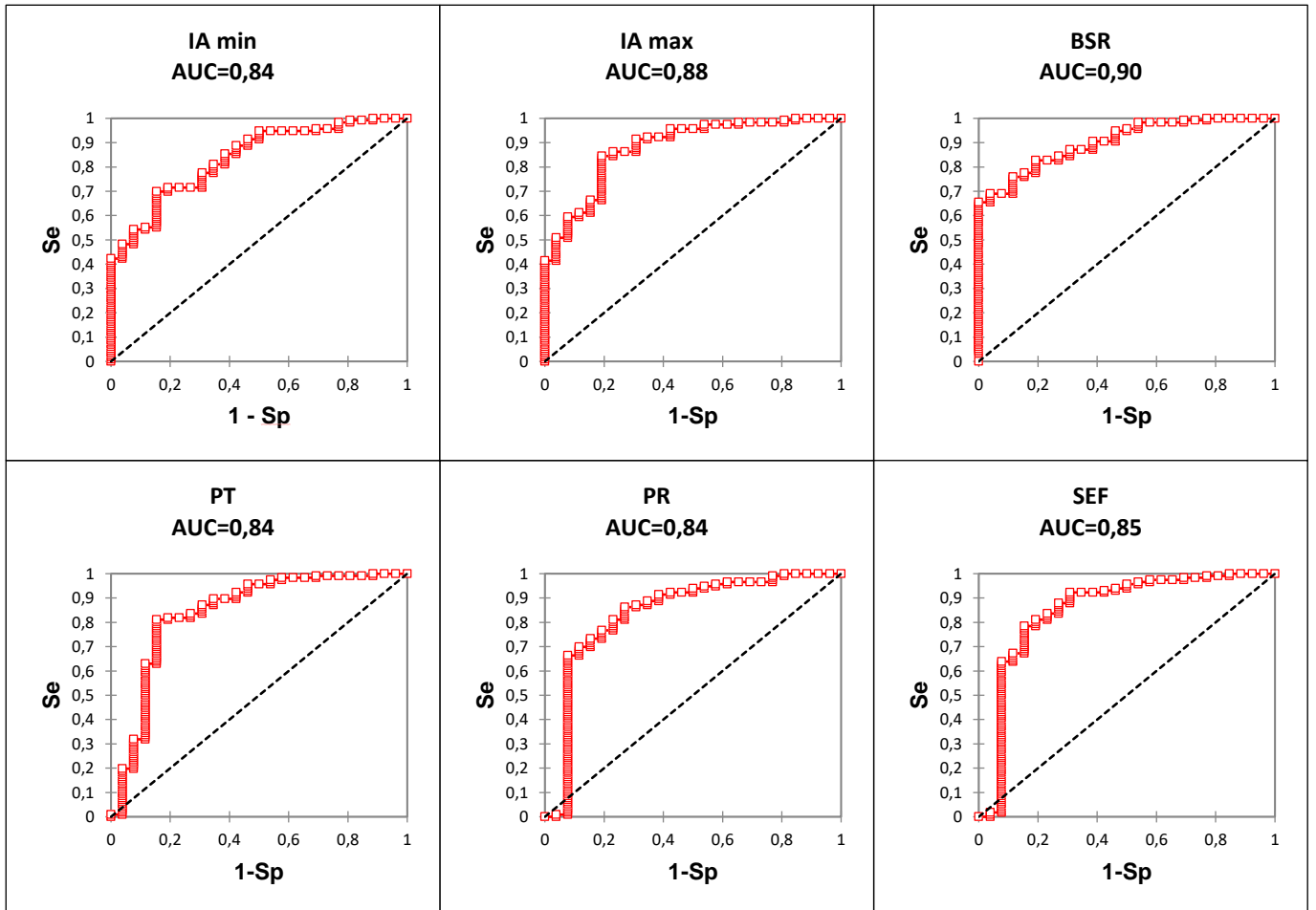


IA min : Index d'Amplitude minimal (μV) ; IA max : Index d'Amplitude maximal (μV) ; BSR : Burst Suppression Ratio (%) ; PT : Puissance Absolue Totale (μV^2) ; PR : Puissance Relative des Basses Fréquences (%) ; SEF : Spectral Edge Frequency (Hz)

Figure I.8 – Courbes ROC des variables qEEG par rapport à l'évolution clinique favorable ou défavorable des enfants à 1 an.

Courbes ROC avec le taux de faux positifs (1-spécificité) en abscisse, le taux de vrais positifs (sensibilité) en ordonnée et l'aire sous la courbe ROC (AUC).

Données qEEG des deux cohortes (moyennes des marqueurs sur l'EEG global).



III. Classification automatique des groupes de sévérité EEG

De façon générale, les algorithmes de **SVM** étaient plus efficaces pour classer les 3 groupes de sévérité EEG que les autres types d'algorithmes testés, seuls les résultats SVM seront donc présentés.

Le modèle le plus performant, notamment pour la classification du groupe 2-3, était le modèle basé sur un algorithme de **SVM (noyau quadratique)** combinant les **valeurs moyennes** des 6 marqueurs qEEG (*variables qEEG 1*) calculées à partir de l'EEG **global** (tableau I.5). En phase de développement, la performance de classification était de 80,6% en moyenne : 83% pour le groupe 1, 68% pour le groupe 2 et 91% pour le groupe 3. L'apprentissage de l'algorithme durait en moyenne 0,97 secondes. Lorsque ce modèle était appliqué sur la cohorte de validation, il permettait de classer correctement 80,0% des tracés : 87% des tracés du groupe 1, 67% du groupe 2 et 78% du groupe 3 (tableau I.6). Le kappa de Cohen était de 0.71 pour les deux cohortes réunies. En phase de validation, aucun tracé du groupe 3 n'était mal classé par ce modèle dans le groupe 1 et inversement. Seuls 2 des 12 tracés du groupe 2 étaient mal classés dans le groupe 1.

Tableau I.5- Performances des différents modèles SVM pour la classification des groupes de sévérité EEG selon les combinaisons de variables qEEG utilisées.

Pour chaque modèle SVM : résultats du meilleur type d'algorithme avec la performance de classification globale en 3 groupes de sévérité (TOTAL), la performance de classification du groupe 1 (G1) et de l'ensemble des groupes 2 et 3 (G2-3) en phase de développement et en phase de validation.

Modèle	Algorithme	Développement			Validation		
		TOTAL (%)	G1 (%)	G2-3 (%)	TOTAL (%)	G1 (%)	G2-3 (%)
qEEG1/global	SVM quadratique	80,6	83,0	87,4	80,0	86,7	93,3
qEEG2/global	SVM linéaire	77,6	79,3	86,7	71,7	83,3	93,3
qEEG1/C3C4	SVM linéaire	80,6	92,3	84,0	75,0	76,7	90,0
qEEG2/C3C4	SVM gaussien	72,4	87,0	78,3	75,0	93,3	86,7

Variables qEEG 1 : valeurs moyennes des marqueurs sur le tracé entier ; Variables qEEG 2 : valeurs sélectionnées des marqueurs. Global : calculées à partir de l'EEG global (ensemble des dérivations) ; C3C4 : calculées à partir de la dérivation C3C4 seule.

Tableau I.6 – Classification des 3 groupes de sévérité EEG par le modèle SVM qEEG1/global.

Ce modèle est basé sur un algorithme de SVM quadratique combinant les valeurs moyennes des 6 marqueurs qEEG (*variables qEEG 1*) calculées à partir de l'EEG global (ensemble des dérivation).

La matrice de confusion présente les résultats en phase de validation avec le pourcentage de tracés bien classés par le SVM dans les 3 groupes de sévérité EEG par rapport aux groupes de référence (sensibilité) ainsi que les valeurs prédictives positives (VPP) pour chaque groupe.

En vert : tracés bien classés (vrais positifs). **En rouge** : les tracés du groupe 2 ou 3 mal classés dans le groupe 1.

Groupes de référence	Groupes SVM			Total (référence)	Sensibilité
	1	2	3		
1	26	4	0	30	86,7 %
2	2	8	2	12	66,7 %
3	0	4	14	18	77,8 %
Total (SVM)	28	16	16	60	80,0 %
VPP	92,9%	50,0%	87,5%		

Les 2 tracés EEG du groupe 2 sous-classés dans le groupe 1 par le modèle retenu étaient également sous-classés par les autres modèles testés. Les caractéristiques cliniques des 2 enfants sont présentées dans le [tableau I.7](#).

Le premier tracé était classé différemment en grade 1 par le premier neurophysiologiste et en grade 2A par les 2 autres ([figure I.8A](#)). L'enfant était traité par hypothermie thérapeutique et l'EEG du monitoring se normalisait avant H24.

Le deuxième tracé était classé en grade 2 par les deux neurophysiologistes ([figure I.8B](#)). Les valeurs des marqueurs qEEG calculés à partir de ce tracé pouvaient correspondre au groupe 1 ou au groupe 2 sauf le BSR qui était quasiment nul, correspondant plutôt à un groupe 1 ([figure I.9A](#)). Le groupe attribué par le modèle était fluctuant entre 1 et 2 tout au long de ce tracé ([figure I.9B](#)). L'EEG s'améliorait rapidement sous hypothermie avec un grade 1 dès 8 heures de vie. Ces deux enfants avaient un examen neurologique normal à l'âge de 1 an.

Tableau I.7 – Caractéristiques cliniques des 2 enfants du groupe de sévérité EEG 2 mal classés dans le groupe 1 par le modèle SVM qEEG1/global.

	Enfant 1	Enfant 2
Âge gestationnel	41 SA + 5 jours	39 SA + 1 jour
Poids de naissance	2760 g	2290 g
Accouchement	Césarienne en urgence (ARCF)	Césarienne en urgence (procidence du cordon)
pH à la naissance	7.05	7.17
Lactate à la naissance	6 mmol/L	12 mmol/L
Score d'Appgar à 10'	6	5
Stade de Sarnat	2	2
EEG initial	Enregistré à H4 sous ventilation invasive, hypothermie passive (33.4°C) et sédation par sufentanil (0.6 µg/kg/h) Neurophysiologiste 1 : grade 1 Neurophysiologistes 2 et 3 : grade 2A	Enregistré à H6, enfant en air ambiant, sans sédation, température 34.9°C Neurophysiologistes 1 et 2 : grade 2
Evolution	IRM cérébrale normale à J3, examen neurologique normal à 1 an	IRM cérébrale normale à J3, examen clinique normal à 1 et 3 ans

Figure I.8 – Extraits des 2 tracés EEG initiaux du groupe de sévérité EEG 2 mal classés dans le groupe 1 par le modèle SVM qEEG1/global.

A. Tracé gradé 1 ou 2A selon les différentes analyses visuelles. Le tracé est normal en sommeil agité avec la présence de grapho-éléments physiologiques (A.1). Par contre, le tracé est un peu trop déprimé et discontinu en sommeil calme (A.2). A noter, un artefact de signal est retrouvé en continu sur la dérivation F4.

B. Tracé classé visuellement en grade 2. Le tracé est asymétrique au dépens de la gauche où il est plus lent et déprimé. A droite, le tracé est continu avec des grapho-éléments physiologiques mais marqué par la présence de rares pointes temporales.

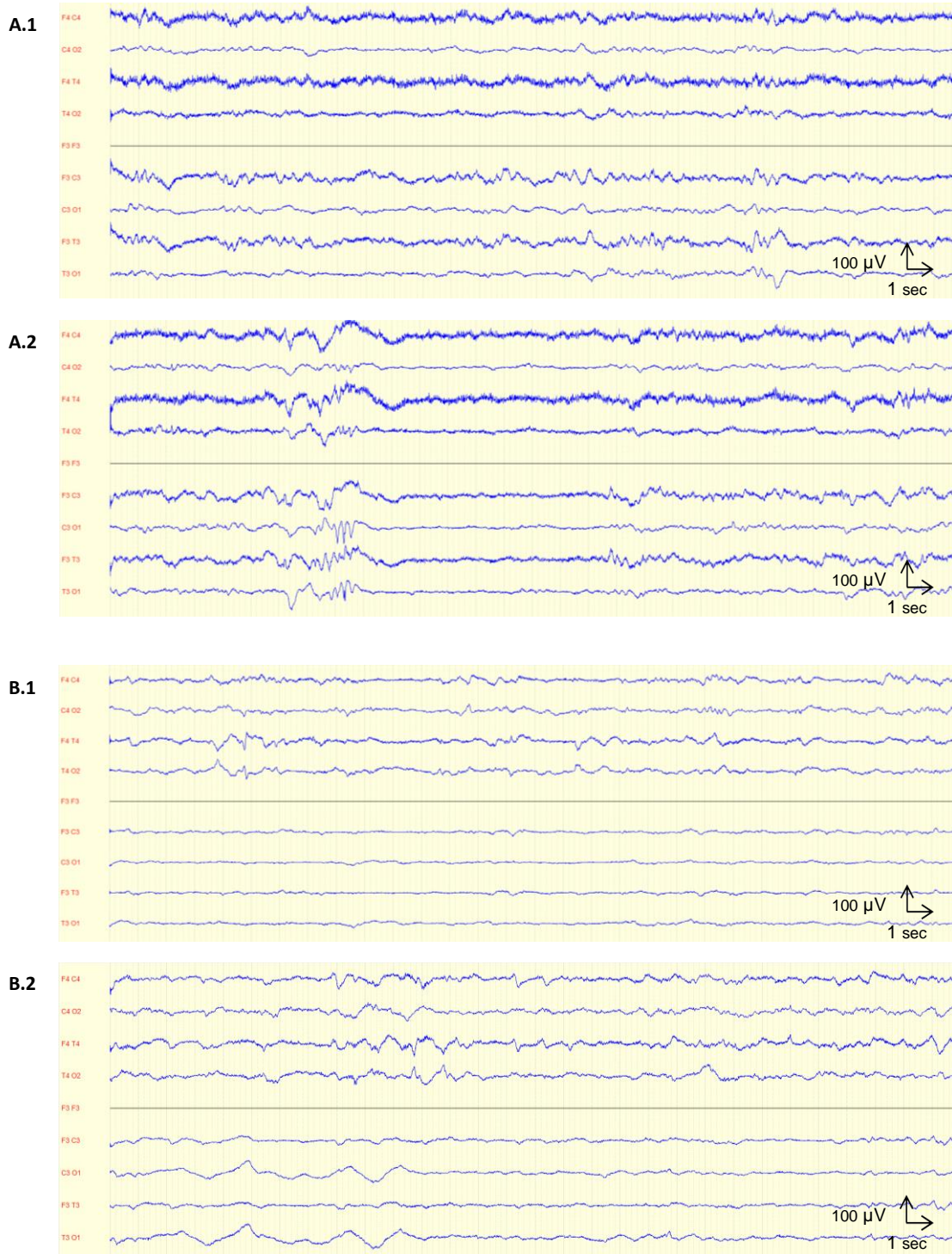
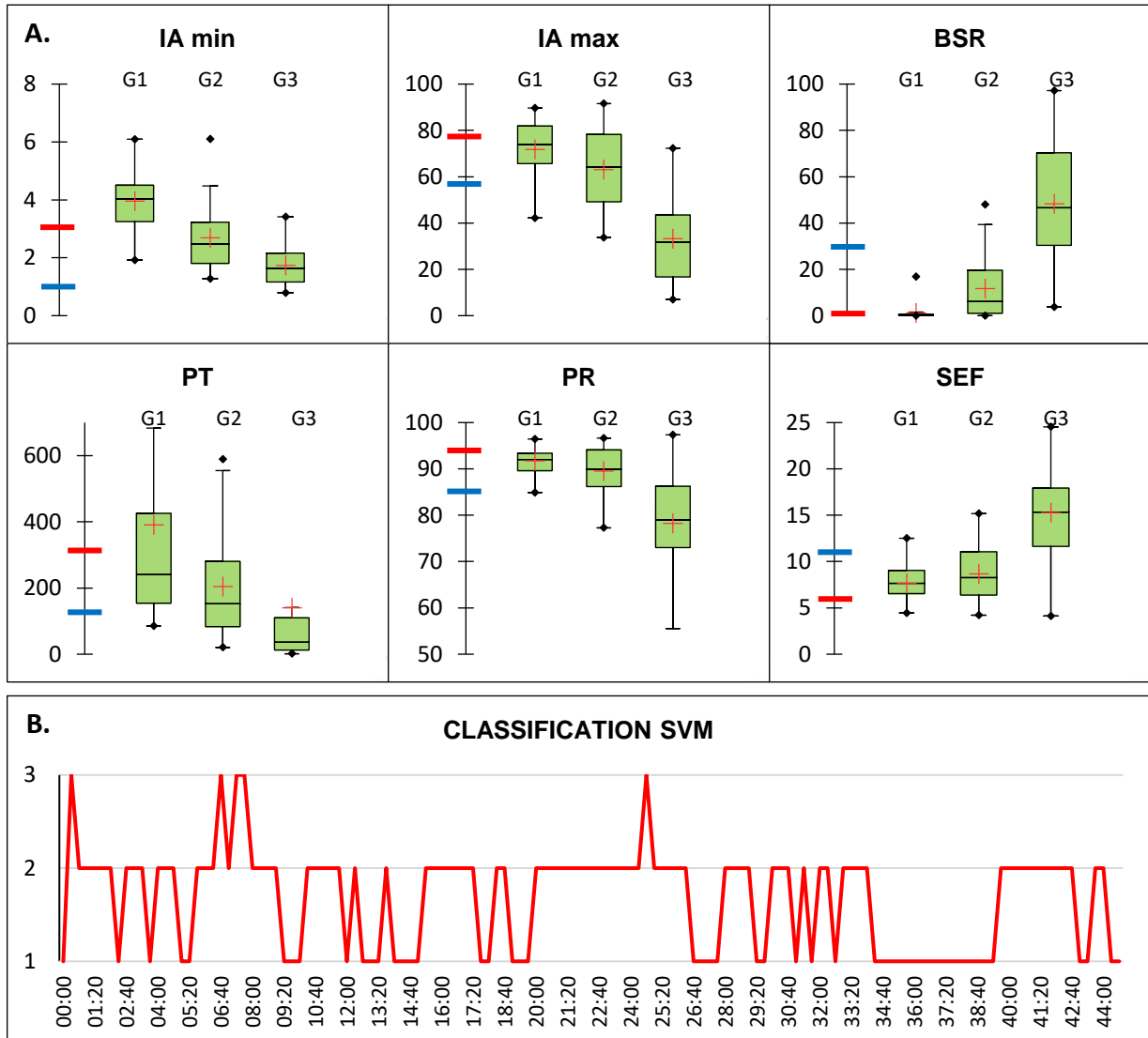


Figure I.9 – Exemples de valeurs qEEG du groupe 2 de sévérité.

A. Box Plots : données qEEG des deux cohortes (N=150) dans les 3 groupes de sévérité (variables qEEG 1 globales).

Curseur rouge : exemple de tracé du groupe 2 mal classé dans le groupe 1 par le modèle SVM qEEG1/global (enfant 2). Curseur bleu : exemple de tracé du groupe 2 bien classé par le modèle.

B. Grade attribué par le modèle à partir de chaque mesure qEEG du tracé de l'enfant 2, soit 1 grade par 20 secondes.



IA min : Index d'Amplitude minimal (μV) ; IA max : Index d'Amplitude maximal (μV) ; BSR : Burst Suppression Ratio (%) ; PT : Puissance Absolue Totale (μV^2) ; PR : Puissance Relative des Basses Fréquences (%) ; SEF : Spectral Edge Frequency (Hz).

IV. Prédiction automatique de l'évolution clinique

Lorsque le modèle SVM qEEG1/global retenu (SVM quadratique combinant les valeurs moyennes des 6 marqueurs qEEG calculées sur l'EEG global) était entraîné à prédire l'évolution clinique à 1 an, il permettait de classer correctement **80,6%** des tracés EEG initiaux en phase de développement et **93,1%** des tracés en phase de validation ([tableau I.8](#)).

L'ajout du stade de Sarnat dans le modèle permettait d'améliorer légèrement la performance de classification totale (**83,5%** en développement et **94,7%** en validation). L'ajout du score d'Apgar, du pH ou du lactate ne permettait pas d'améliorer la performance de classification du modèle. Les résultats du modèle Sarnat sont détaillés dans le [tableau I.9](#).

Tableau I.8 - Performances des différents modèles SVM pour la prédiction de l'évolution clinique à 1 an.

Modèles présentés : algorithme de SVM quadratique combinant les 6 variables qEEG1/globales seules (*modèle EEG*) ou associées au stade de Sarnat (*modèle Sarnat*), au score d'Apgar (*modèle Apgar*), au pH (*modèle pH*) ou au lactate (*modèle lactate*). Performance de classification globale (TOTAL), performance de classification du groupe d'évolution défavorable (D) et du groupe d'évolution favorable (F) en phase de développement et en phase de validation.

Modèle	Développement			Validation		
	TOTAL (%)	D (%)	F (%)	TOTAL (%)	D (%)	F (%)
EEG	80,6	34,4	91,5	93,1	80,0	95,8
Sarnat	83,5	45,0	92,5	94,7	80,0	97,9
Apgar	76,2	36,3	85,7	82,1	0,0	100,0
pH	81,0	37,1	90,5	91,1	55,6	97,9
Lactate	78,3	46,3	86,1	82,5	0,0	100,0

Tableau I.9 – Prédiction de l'évolution clinique à 1 an par le modèle Sarnat.

Prédictions du modèle en phase de validation comparées à l'évolution clinique réelle des enfants à l'âge de 1 an (sensibilité et valeurs prédictives positives VPP). **En vert** : vrais positifs.

Evolution	Prédiction SVM		Total (référence)	Sensibilité
	Favorable	Défavorable		
Favorable	46	1	47	97,9%
Défavorable	2	8	10	80,0%
Total (SVM)	48	9	57	94,7%
VPP	95,8%	88,9%		

Les trois erreurs de classification du modèle Sarnat concernaient des nouveau-nés ayant un tracé initial de grade 3 : le modèle prédisait à tort une évolution favorable chez 2 nouveau-nés et une évolution défavorable chez un nouveau-né.

Les deux nouveau-nés classés par erreur dans le groupe d'évolution favorable avaient un tracé EEG initial sévère et un stade de Sarnat estimé à 3. Le tracé du *premier nouveau-né* avait été évalué différemment par les 2 neurophysiologistes : grade 3 inactif avec des artefacts de gasps chez le premier, grade 2B chez le deuxième, et finalement classé en 3 par le 3^{ème} neurophysiologiste (figure I.10A). Il était gradé automatiquement dans le groupe 2 par le modèle de classification des groupes de sévérité EEG. Le tracé restait sévère jusqu'à la fin de l'HT à H72.

Le *deuxième nouveau-né* avait un tracé EEG initial inactif avec des artefacts intermittents liés à des frissons, gradé automatiquement dans le groupe 3 également (figure I.10B). Sous HT, le tracé évoluait vers un grade 2B avant H12, avec de nombreuses crises, puis vers un grade 2A à partir de H36. Ces deux enfants avaient des lésions anoxo-ischémiques sévères à l'IRM cérébrale et le décès survenait en période néonatale après un arrêt des thérapeutiques actives.

Le nouveau-né classé par erreur dans le groupe d'évolution défavorable avait un tracé initial inactif (figure I.10C) classé automatiquement dans le groupe 3. Durant l'HT, le monitoring EEG enregistrerait des crises à J1 avec un tracé de grade 2B puis 2A à partir de J2. Les PES étaient normaux et l'IRM cérébrale à J3 mettait en évidence des lésions anoxo-ischémiques capsulo-thalamiques bilatérales. A l'âge de 1 an, l'enfant avait une légère spasticité des membres inférieurs mais un bon développement bien corrélé à l'âge avec un très bon langage.

Au total, l'algorithme parvenait à prédire l'évolution favorable ou défavorable de 14 enfants sur les 17 ayant un tracé initial de grade 3 et dont l'évolution était connue (82%).

Figure I.10 - Extraits des 3 tracés EEG initiaux à partir desquels l'évolution était incorrectement prédite par le modèle Sarnat.

- A.** Tracé isoélectrique avec artefacts de gasps, classé visuellement en 2B/3 et automatiquement dans le groupe 2. Prédiction : évolution favorable. Evolution réelle : décès.
- B.** Tracé isoélectrique avec quelques artefacts intermittents de frissons, classé visuellement et automatiquement dans le groupe 3. Prédiction : évolution favorable. Evolution réelle : décès.
- C.** Tracé isoélectrique, classé visuellement et automatiquement dans le groupe 3. Prédiction : évolution défavorable. Evolution réelle : favorable (séquelles légères).



PARTIE IB - Etude de la phase secondaire post-anoxique : application du modèle de classification automatique aux EEG enregistrés après H6

Dans cette deuxième partie, nous avons étudié la performance du modèle de classification automatique de la sévérité des EEG lorsqu'il était appliqué sur des tracés EEG plus tardifs, enregistrés sous hypothermie thérapeutique chez des nouveau-nés traités pour une EAI modérée ou sévère.

METHODES

I. Base de données

Nous présenterons 1) la population étudiée, 2) les données EEG analysées, 3) les analyses réalisées à partir de cette partie de la base de données.

I)1. Population étudiée

Dans cette partie, nous avons étudié les nouveau-nés de la cohorte de développement mis en hypothermie thérapeutique entre 2013 et 2015 (n=53). L'HT était initiée avant H6 en cas d'EAI modérée (n=20) ou sévère (n=33) selon des critères cliniques (stade de Sarnat 2-3) et EEG (anomalies modérées à sévères selon la classification française) puis maintenue entre 32 et 34°C pendant au moins 48 heures.

I)2. Données EEG

Ces enfants étaient monitorés durant toute la durée de l'HT par un EEG continu, débuté en moyenne à 5.4 ± 4 [2,4-10] heures de vie, enregistré à l'aide du logiciel « Micromed EEG System® », par l'intermédiaire de 8 électrodes cupules (Nicolet®) positionnées selon le système international 10:20 modifié pour la néonatalogie, 1 électrode terre et 1 électrode de référence. Les électrodes cupules étaient attachées après nettoyage du scalp grâce à de la pâte adhésive et maintenue par un filet. L'impédance était inférieure à 5 kOhm et le signal EEG était échantillonné à 256 Hz.

Cinq tracés de 30 minutes étaient extraits de chaque enregistrement à H12, H24, H36, H48 et H72 de vie. Quatre tracés manquaient du fait de l'interruption précoce de 2 enregistrements avant H48. Au total, **261 tracés « HT »** étaient analysés.

Ces tracés étaient analysés visuellement et classés en 3 groupes de sévérité EEG selon la méthode décrite dans la partie IA. La cohérence inter-observateur était correcte avec 83% des tracés classés à l'identique ($k=0.74$).

Parmi les 261 tracés : 65 étaient inclus dans le groupe 1, 121 dans le groupe 2 et 75 dans le groupe 3.

Les extraits EEG bruts de 30 minutes étaient ensuite analysés quantitativement selon le protocole détaillé dans la partie IA.

I)3. Analyses statistiques

Les caractéristiques cliniques et EEG de la base de données étaient décrites par la moyenne et l'écart-type pour les variables quantitatives, par la fréquence et le pourcentage pour les variables qualitatives. Les valeurs prédictives positives des grades EEG sur l'évolution clinique étaient calculées aux différents délais postnataux.

II. Classification automatique des groupes de sévérité EEG après H6

Ces tracés HT étaient classés automatiquement selon les groupes de sévérité EEG par le modèle sélectionné sur les tracés EEG initiaux (SVM qEEG1/global) afin de vérifier son efficacité sur ces tracés EEG enregistrés après H6 sous hypothermie thérapeutique. La performance totale était calculée sur l'ensemble des tracés ($n=261$) et à chaque délai postnatal (H12, H24, H36, H48 et H72).

III. Prédiction automatique de l'évolution clinique

Le modèle SVM qEEG1/global entraîné à prédire l'évolution clinique à 1 an à partir des EEG initiaux était également appliqué sur les tracés HT aux différents délais postnataux.

RESULTATS

I. Caractéristiques de la base de données

Les caractéristiques cliniques des patients de la cohorte « HT » sont présentées dans le [tableau I.10](#). Les tracés HT étaient tous enregistrés chez des enfants mis en hypothermie thérapeutique et donc intubés, ventilés et sédatisés. Les tracés avaient tendance à s'améliorer au cours du temps avec une diminution des tracés inactifs, paroxystiques et discontinus de type B au profit des tracés normaux et subnormaux ([figure I.11](#)). Une légère dégradation des tracés était néanmoins retrouvée entre H48 et H72. Des crises étaient retrouvées dans 35 tracés (13%) : 27 tracés du groupe 3 (36%), 8 tracés du groupe 2 (7%) et aucun tracé du groupe 1.

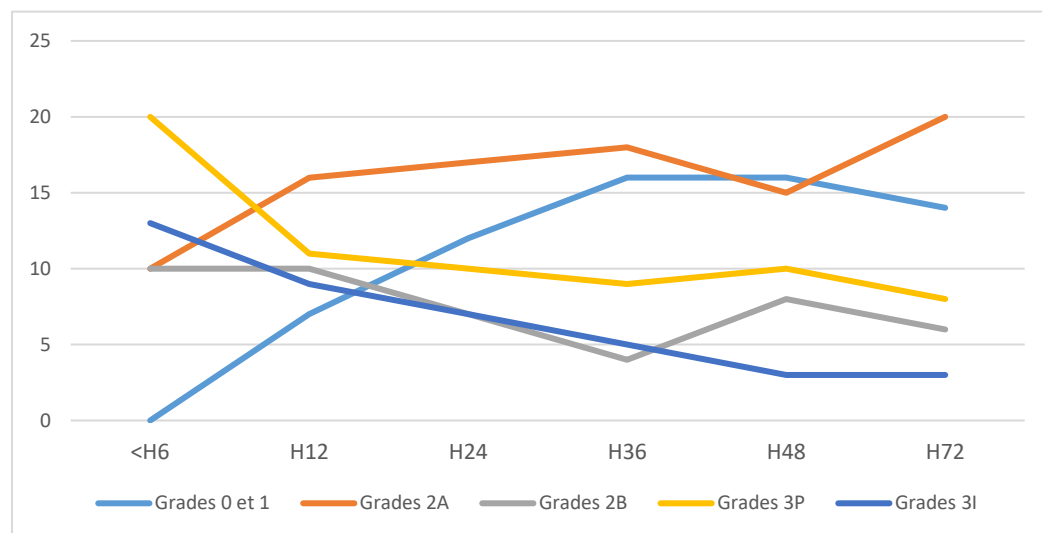
Concernant l'évolution clinique : 80% des enfants ayant un tracé du groupe 3 à H12 avaient une évolution défavorable, 88% à H24, 93% à H36 et 100% à H48 et H72 ([tableau I.11](#)).

Tableau I.10 - Caractéristiques cliniques des patients de la cohorte « HT »

Caractéristiques périnatales	
<i>moyenne ± e-t ou N(%)</i>	N=53
Genre (M/F)	36/17
Âge gestationnel (SA)	39.5 ± 1.2
Poids de naissance (g)	3158 ± 622.6
Déroulement de la grossesse :	
Normal	24 (45.3%)
Complication maternelle ¹	12 (22.6%)
Complication foetale ²	17 (32.1%)
Modalités d'accouchement :	
Césarienne en urgence	28 (52.8%)
Voie basse simple	8 (26.7%)
Extraction instrumentale	15 (28.3%)
Césarienne programmée	2 (3.8%)
Marqueurs d'anoxie périnatale :	
Apgar à 10 min	5,2 ± 2,9
Stade de Sarnat	
	1 4 (7.5%)
	2 33 (62.3%)
	3 16 (30.2%)
pH avant H1	7.0 ± 0.1
Lactate avant H1 (mmol/L)	12.6 ± 4.2

Figure I.11 – Evolution de la sévérité des tracés HT selon le délai post-natal

Evolution du nombre de tracés HT par grade de sévérité selon le délai post-natal (H6-H72).
Les tracés HT sont issus des monitorings EEG enregistrés en continu chez 53 nouveau-nés mis en hypothermie thérapeutique.



Grade 0 : tracé normal ; Grade 1 : tracé subnormal ; Grade 2A : tracé discontinu type A ou tracé hyperactif rapide ou tracé lent ; Grade 2B : tracé discontinu type B ; Grade 3P : tracé paroxystique ou tracé pauvre plus thêta ; Grade 3I : tracé inactif.

Tableau I.11 – Valeur pronostique du groupe de sévérité EEG des tracés HT sur l'évolution clinique à 1 an

Valeurs prédictives positives (VPP) des groupes de tracés HT aux différents délais sur l'évolution clinique favorable ou défavorable à 1 an.

VPP	Groupes	H12	H24	H36	H48	H72
Evolution clinique favorable	G1	100%	100%	93%	100%	100%
	G2	100%	95%	89%	84%	83%
	G3	20%	12%	7%	0%	0%
Evolution clinique défavorable	G1	0%	0%	7%	0%	0%
	G2	0%	5%	11%	16%	17%
	G3	80%	88%	93%	100%	100%

G1, G2, G3 : groupes de sévérité EEG 1, 2 et 3

II. Classification automatique des groupes de sévérité EEG

Lorsqu'il était appliqué sur les données des 261 tracés HT enregistrés sous hypothermie thérapeutique, le modèle sélectionné sur les tracés EEG initiaux (SVM qEEG1/global) permettait de classer correctement **66,7%** des tracés ([tableau I.12](#)). Si l'on considère les performances par délai post-natal : 64% des 53 extraits à H12 étaient bien classés par le modèle, 68% à H24, 69% à H36, 67% à H48 et 65% à H72.

Tableau I.12 - Matrice de confusion du modèle SVM qEEG1/global pour la classification des groupes de sévérité à partir des tracés EEG « HT »

En vert : tracés bien classés (vrais positifs).

Groupes de référence	Groupes SVM			Total (référence)	Sensibilité
	1	2	3		
1	32	31	2	65	49,2 %
2	32	81	8	121	66,9 %
3	1	13	61	75	81,3 %
Total (SVM)	65	125	71	261	66,7 %
VPP	49,2%	64,8%	85,9%		

VPP : valeurs prédictives positives

III. Prédiction automatique de l'évolution clinique

Lorsque le modèle SVM qEEG1/global était utilisé pour prédire l'évolution clinique à 1 an à partir des tracés HT aux différents délais postnataux, il avait une performance totale de 87,5% à H12, 81% à H24, 85% à H36, 77% à H48 et 80% à H72 ([tableau I.13](#)).

Tableau I.13 – Performances du modèle SVM qEEG1/global pour prédire l'évolution clinique à 1 an

Performance de classification globale (TOTAL), performance de classification du groupe d'évolution défavorable (D) et du groupe d'évolution favorable (F) en phase de développement et en phase de validation.

Performances de prédiction SVM			
Délai	TOTAL (%)	D (%)	F (%)
H12	87,5	68,8	96,9
H24	81,3	50,0	96,9
H36	85,1	62,5	96,8
H48	76,6	37,5	96,8
H72	80,4	46,7	96,8

DISCUSSION

Dans cette première partie, nous avons analysé quantitativement des EEG néonataux enregistrés avant H6 (phase de latence) après une anoxie périnatale, à l'aide de marqueurs reflétant l'amplitude, la continuité et le contenu fréquentiel du signal EEG (IA min, IA max, BSR, PT, PR et SEF). Nous avons sélectionné les 6 variables qEEG décrivant au mieux la classification EEG française de l'EAI néonatale. Ces variables discriminaient significativement les 3 groupes de sévérité EEG attribués visuellement, ainsi que l'évolution clinique favorable ou défavorable des enfants à l'âge de 1 an.

A partir des variables qEEG, nous avons développé et validé des modèles de classification automatique de la sévérité des EEG. Le modèle le plus efficace était basé sur un algorithme de SVM combinant les valeurs moyennes des 6 marqueurs qEEG calculés sur l'ensemble des dérivations (EEG global), avec une performance totale de 80% de tracés bien classés en phase de validation.

Ce modèle était également entraîné à prédire l'évolution clinique des enfants à l'âge de 1 an avec une performance de 93% en phase de validation. L'ajout dans le modèle de marqueurs d'anoxie périnatale cliniques ou biologiques (score d'Apgar, pH ou lactate) ne permettait pas d'en améliorer l'efficacité. Par contre, l'ajout d'un marqueur clinique d'EAI (stade de Sarnat avant H6), améliorait légèrement la performance de prédiction (95% en validation).

Dans un second temps, nous avons utilisé le modèle de classification automatique des EEG sélectionné sur les tracés EEG initiaux et l'avons appliqué sur des tracés enregistrés en phase secondaire (après H6) chez des enfants mis en hypothermie thérapeutique pour une EAI modérée ou sévère. Le modèle permettait de classer correctement 67% de ces tracés. Par ailleurs, le modèle de prédiction de l'évolution clinique avait une performance variant entre 77 et 87% selon le délai post-natal auquel les tracés EEG utilisés étaient enregistrés.

I. EEG initiaux enregistrés avant H6 en phase de latence post-anoxique

Dans un premier temps, nous allons discuter de l'analyse quantitative des EEG néonataux post-anoxiques, des différentes variables qEEG sélectionnées dans ce travail et de leur signification physiopathologique, puis nous discuterons des modèles de prédiction automatique de la sévérité de l'EAI.

I)1. Quantification de la sévérité des EEG

Afin de quantifier la sévérité des EEG initiaux, nous nous sommes basés sur des groupes de sévérité visuels attribués selon la classification EEG française de l'EAI néonatale. Ces groupes ont été décrits à l'aide des données de 6 marqueurs quantitatifs EEG reflétant les différentes caractéristiques du tracé de fond sur lesquelles sont basés les critères de classification visuelle en pratique clinique : l'amplitude, la continuité et le contenu fréquentiel du signal. Ces aspects du tracé de fond caractérisent la sévérité de l'atteinte cérébrale post-anoxique chez le nouveau-né avec des valeurs pronostiques prouvées dès la phase de latence. Ces marqueurs apportent donc des informations neurophysiologiques précoces, concrètes et complémentaires.

Les données de ces marqueurs différaient significativement entre les trois groupes de sévérité EEG visuels. Comme attendu, les tracés sévères étaient caractérisés par une baisse de l'amplitude, de la puissance spectrale et de la continuité du signal.

Amplitude

Les valeurs d'amplitude des différents groupes de sévérité correspondaient aux valeurs retrouvées dans des études précédentes. Par rapport aux classifications aEEG proposées par al Naqeeb en 1999 (213) et Hellström-Westas en 2006 (133), nos tracés du groupe 1 étaient caractérisés par une limite inférieure d'amplitude un peu plus basse (entre 2 et 6 μV en moyenne contre 5-10 μV pour les tracés normaux dans ces classifications) et une limite supérieure plus haute (42-90 μV contre 10-50 μV). Par contre les valeurs d'amplitude du groupe 2 (limite haute 34-92 μV et limite basse 1-6 μV) correspondaient bien à celles des tracés d'amplitude modérément anormale chez al Naqeeb (limite haute > 10 μV et limite basse

$\leq 5 \mu\text{V}$) et l'amplitude du groupe 3 (limite haute 7-72 μV et limite basse 0.8-3.4 μV) à celles des tracés Burst-Suppression chez Hellström-Westas (limite basse 0-2 μV et bouffées d'amplitude $> 25 \mu\text{V}$) ou d'amplitude déprimée chez al Naqeeb (limite haute $< 10 \mu\text{V}$ et limite basse $< 5 \mu\text{V}$).

Tout comme ces classifications, nos valeurs quantitatives d'amplitude peuvent servir de repères concrets et faciliter l'analyse visuelle du tracé de fond EEG/aEEG. Cependant, la diminution d'amplitude du signal EEG ne représente qu'un aspect des modifications neurophysiologiques post-anoxiques liées à des processus physiopathologiques complexes.

Dans l'étude de Korotchikova et al., une amplitude inférieure à 3 μV permettait à elle seule de discriminer les tracés inactifs, mais l'amplitude ne discriminait pas les autres grades EEG (201). Ainsi, la classification d'Hellström-Westas repose également sur une analyse des patterns et notamment de la continuité du tracé de fond, mais cette analyse reste qualitative et son interprétation est moins fiable que celle de l'analyse visuelle des tracés EEG conventionnels (124,133,135). De plus, l'aEEG peut être particulièrement perturbé par la présence d'artefacts (214–216), ce qui explique probablement les différences de valeurs retrouvées pour nos tracés du groupe 1 contenant davantage d'artefacts de mouvement. Enfin, il a été montré que les valeurs qEEG d'amplitude pouvaient varier selon les machines utilisées, la distance et la localisation des électrodes (217). Dans de nombreuses études, dont celles d'al Naqeeb et de Hellström-Westas, l'aEEG était enregistré à partir de deux dérivations seulement, ce qui peut limiter la comparabilité des valeurs obtenues avec nos propres valeurs qEEG, calculées sur l'ensemble des dérivations. Ces différentes limites soulignent la nécessité d'associer nos marqueurs d'amplitude à d'autres marqueurs quantitatifs EEG reflétant des caractéristiques du tracé de fond différentes et complémentaires.

Discontinuité

Le pourcentage de discontinuité mesuré par le BSR augmentait significativement avec les groupes de sévérité, passant de 1% en moyenne dans le groupe 1 (valeurs maximales 0-45%) ; à 12% dans le groupe 2 (valeurs maximales très variables entre 0 et 97%) ; et 48% dans le groupe 3 (valeurs maximales 13-100%). Le BSR est un algorithme simple correspondant au rapport de la durée du tracé discontinu (amplitude $< 5 \mu\text{V}$) sur la durée totale de l'intervalle

analysé et ses valeurs reflètent bien la majoration de la discontinuité du signal EEG avec la sévérité de l'atteinte cérébrale décrite suite à une anoxie périnatale. Il permet de quantifier indirectement la durée des intervalles inter-bouffées, dont la valeur pronostique a été bien prouvée dans ce contexte (188,189,191), y compris après traitement par hypothermie (195,196). Dans l'étude de Menache et al., portant sur des EEG enregistrés dans les premières 24 heures de vie chez 43 nouveau-nés à terme avec anoxie, la durée maximale et la durée prédominante des intervalles inter-bouffées (IBI) étaient les caractéristiques les mieux corrélées au devenir des enfants (non traités par HT) avec une probabilité de 100% de séquelles sévères ou de décès si la durée prédominante d'IBI (seuil < 10 μV) était supérieure à 30 secondes (189). La durée des IBI est également associée au pronostic à long terme des nouveau-nés mis en hypothermie : une discontinuité moyenne (seuil < 10 μV) de plus de 30 secondes par minute à H24 et H48 avait une valeur prédictive positive de 100% sur le devenir défavorable à 18 mois dans l'étude de Dunne et al. (195) et la valeur pronostique des discontinuités semblait maximale entre H18 et H24 dans l'étude de Dereymaeker et al. (196).

Puissance spectrale

La puissance spectrale totale diminuait également avec la sévérité des tracés avec des valeurs minimales passant de 73 μV^2 en moyenne dans le groupe 1 à 40 μV^2 dans le groupe 2 et s'effondrait à 6 μV^2 dans le groupe 3, reflétant la suppression du signal dans les tracés inactifs. Dans l'étude de Bell et al. chez des nouveau-nés non mis en HT, la puissance spectrale totale après une anoxie périnatale était également plus basse à J1 chez les nouveau-nés ayant un devenir défavorable à 18 mois comparé à ceux ayant un devenir normal (0-30 μV^2 contre 50-300 μV^2) (178). Dans l'étude de Jain et al. portant sur des nouveau-nés avec une EAI traitée par hypothermie, les enfants ayant des lésions modérées à sévères à l'IRM cérébrale avaient une puissance absolue totale plus basse à H9 que les enfants n'ayant pas ou peu de lésions (26.9 $\mu\text{V}^2 \pm 65.3$ contre 71.6 ± 64.8 μV^2 , $p=0.02$) (168). L'étude de Govindan et al. rapporte également dans les deux premiers jours de vie des valeurs de PT plus basses chez deux nouveau-nés évoluant défavorablement (décès néonatal) par rapport à ceux ayant un devenir normal (218). L'étude de Wong et al. par contre, ne retrouve pas de différence de puissance totale entre des nouveau-nés à risque ou avec une EAI clinique après anoxie périnatale et des nouveau-nés sains (200). A noter que nos valeurs moyennes de PT étaient malheureusement

assez sensibles aux artefacts avec des valeurs parfois aberrantes (jusque 21791 μV^2 dans le groupe 1 par exemple), ce qui avait déjà été relevé auparavant par Govindan et al. (218).

La puissance relative des basses fréquences diminuait de façon significative dans le groupe 3, c'est-à-dire que la bande de fréquence 0.5-5 Hz avait une puissance moindre par rapport à la puissance totale du signal dans les tracés sévères. En effet, la dépression de l'activité cérébrale est associée à un effondrement de la puissance spectrale de façon globale dans toutes les bandes de fréquence EEG (178,219) mais il est intéressant de constater que la diminution de puissance des basses fréquences prédominait. D'autres études antérieures font le même constat : la puissance relative des fréquences 0-1 Hz est plus basse à J1 chez les nouveau-nés ayant une évolution défavorable dans l'étude de Bell et al., ainsi qu'à H30 chez des nouveau-nés avec une EAI modérée évoluant défavorablement dans l'étude de Doyle et al. (178,199). Korotchikova et al. retrouvent également une diminution significative de la puissance relative delta avec la sévérité des grades EEG (201). Dans l'étude de Thordstein et al., l'analyse du contenu spectral des bouffées de tracés discontinus de différentes sévérités chez des nouveau-nés à terme met en évidence une plus grande proportion de fréquences basses dans les « bouffées » des tracés alternants des nouveau-nés sains en sommeil calme que dans les bouffées des tracés discontinus post-anoxiques (220). Doyle et al. supposent ainsi que les basses fréquences représentent un processus neurologique essentiel et nécessaire au développement cérébral normal (199).

La variation de la puissance relative, au contraire, augmentait avec la sévérité des tracés, reflétant l'alternance entre les bouffées amples et la suppression du signal inter-bouffée dans les tracés discontinus. Dans l'étude de Thordstein et al., la quantité relative d'activité haute et basse fréquence semble également être un des paramètres les plus discriminants pour différencier les tracés alternants des tracés discontinus pathologiques (220).

Enfin la SEF, correspondant à la fréquence délimitant 95% de la puissance absolue totale, augmentait dans le groupe 3 alors que le contraire aurait pu être attendu puisque la puissance du signal diminuait. Cette augmentation reflète en fait la suppression du signal dans les tracés sévères : la puissance du signal étant alors quasiment nulle dans toutes les bandes de fréquence, la SEF devient indéfinie. Cette particularité de calcul a été récemment identifiée dans une étude analysant les différents paramètres du BIS (un outil largement utilisé pour le

monitorage cérébral d'une anesthésie générale) : lorsque le tracé EEG était parfaitement isoélectrique, la SEF augmentait à une valeur inhabituelle de 30 Hz, ce qui correspondrait pour l'auteur à une erreur dans l'implémentation de l'algorithme (221). Par ailleurs, l'étude de Thordstein et al. retrouvait également une SEF plus élevée dans les bouffées des tracés paroxystiques post-anoxiques que dans celles des tracés alternants des nouveau-nés sains ($11.96 \text{ Hz} \pm 2.31$ en moyenne contre 7.29 ± 0.99) (220). Dans les modèles expérimentaux d'anoxie chez des fœtus de brebis, la SEF diminuait significativement en phase aiguë d'anoxie provoquée sur les enregistrements d'électro-corticogramme, puis récupérait progressivement en fonction de la sévérité et de la durée de l'hypoxie (52,122,222–224). Cependant, chez le fœtus de brebis, les tracés sont caractérisés par une dépression du signal mais ne sont quasiment jamais discontinus. Dans l'étude de Wong et al., la SEF n'était pas différente entre les groupes de nouveau-nés sains (médiane à 9.00 Hz), ceux à risque d'EAI (8.69 Hz) et ceux ayant une EAI clinique (9.18 Hz) (200). La SEF ne permettait pas non plus de discriminer les différents grades EEG visuels selon la classification de Murray dans l'étude de Korotchikova et al. avec une médiane à 4.03 Hz pour les grades 1, 4.15 Hz pour les grades 2, 4.08 Hz pour les grades 3 et 4.39 Hz pour les grades 4 (201). Dans l'étude de Doyle et al., 3 des 4 nouveau-nés ayant une EAI clinique évoluant défavorablement avaient des SEF plus basses par rapport à ceux évoluant favorablement (199). Le quatrième avait une SEF haute mais le tracé de ce nouveau-né n'était malheureusement pas décrit précisément dans cette étude.

Enfin, les valeurs de SEF doivent être interprétées avec précaution notamment dans les tracés normaux du fait de variations temporelles en présence de cycles veille-sommeil (valeurs hautes dans le sommeil agité et basses dans le sommeil calme (184,200,225)) et de variations spatiales selon la localisation de l'enregistrement EEG (220).

Nos marqueurs permettent donc de reproduire quantitativement les différents grades de la classification EEG française de l'EAI néonatale et les seuils déterminés peuvent être utilisées comme aide à l'interprétation visuelle, notamment pour certains tracés intermédiaires difficiles à classer ainsi que pour comparer les tracés entre eux.

Les valeurs des tracés sévères reflètent principalement la dépression et la discontinuité du signal EEG, caractéristiques retrouvées visuellement en phase de latence après une anoxie sévère.

1)2. Aspects physiopathologiques

En phase aiguë, l'anoxie entraîne une suppression de l'activité cérébrale et donc de l'activité EEG dès sa phase initiale. En réponse à la carence d'apport énergétique, des mécanismes neuroprotecteurs visant à diminuer le métabolisme cérébral sont mis en place rapidement, avec notamment la suppression active de la transmission synaptique par l'intermédiaire de neuromodulateurs inhibiteurs (26,28–34). Si l'hypoxie se prolonge, la défaillance des mécanismes cardio-vasculaires entraîne une hypotension artérielle puis une diminution de la perfusion cérébrale en-dessous du seuil ischémique inférieur. Les mécanismes de neuroprotection ne suffisent plus, entraînant une défaillance énergétique de la membrane cellulaire et la suppression du signal EEG reflèterait alors la dépolarisation neuronale anoxique (34,45,226).

Les études chez les fœtus de brebis montrent qu'après une anoxie sévère, la suppression active du métabolisme cérébral persiste durant les premières heures, malgré la normalisation des mécanismes énergétiques (50–53). La diminution de l'amplitude et le ralentissement du signal retrouvés en phase de latence chez ces fœtus sont donc probablement liés à la suppression active de l'activité cérébrale et donc aux mécanismes neuroprotecteurs (150). La persistance de ces anomalies dépend de la sévérité et de la longueur de l'anoxo-ischémie cérébrale mais n'est pas forcément associée à la constitution de lésions cérébrales (26,150,226,227).

La discontinuité du signal par contre, c'est-à-dire l'alternance entre des périodes inactives (dites discontinues) et des bouffées d'activité, n'est quasiment jamais rapportée dans les tracés post-anoxiques des fœtus animaux et les mécanismes physiopathologiques sous-jacents sont très peu connus. Le pattern de « burst suppression » (soit les tracés paroxystiques de notre classification) pourrait refléter des lésions cérébrales bilatérales sévères impliquant le cortex (109). Les bouffées seraient produites par le cortex isolé ou par la formation réticulaire projetant une activité électrique via les voies réticulo-corticales tandis que l'activité du cortex lésé est inhibée (228,229).

En phase de latence, il est donc difficile de déterminer si les anomalies EEG modérées à sévères, quantifiées par nos marqueurs, reflètent uniquement les mécanismes

neuroprotecteurs mis en place lors de cette phase, en lien avec la sévérité de l'anoxo-ischémie cérébrale, ou déjà la constitution précoce d'un œdème cytotoxique voire de lésions cérébrales définitives.

Nos groupes de sévérité EEG de la classification française, basés sur des critères neurophysiologiques visuels, ne sont donc pas déterminés à partir des mécanismes physiopathologiques sous-jacents. Ainsi, ces groupes peuvent être hétérogènes en termes de pronostic. Notamment, le groupe 2 inclut des tracés discontinus de type A qui présentent par définition des grapho-éléments physiologiques, une labilité et une réactivité partiellement conservés, ce qui semble être de bon pronostic, et des tracés discontinus de type B qui en sont dépourvu et peuvent avoir un pronostic plus réservé.

De plus, ces groupes peuvent être critiquables en raison de l'existence d'autres systèmes de classification des EEG néonataux post-anoxiques dans la littérature (113). Par exemple, le système de Murray classe les EEG selon 5 grades de sévérité (0-4) avec des critères moins détaillés mais selon des seuils légèrement différents (204) : les tracés inactifs par exemple sont définis par une amplitude inférieure à 10 μ V contre 5 μ V dans le système français.

Dans un second temps, nous avons donc voulu vérifier la capacité de nos variables qEEG à discriminer directement l'évolution clinique des nouveau-nés dès la phase de latence post-anoxique, indépendamment des grades EEG visuels.

1)3. Variables qEEG et évolution clinique à 1 an

Les différentes variables qEEG, calculées à partir des tracés initiaux, étaient fortement associées à l'évolution clinique des enfants. Elles permettaient de discriminer significativement les enfants évoluant favorablement des enfants évoluant défavorablement à l'âge de 1 an (après hypothermie thérapeutique pour les 2 tiers). Les marqueurs d'amplitude et de discontinuité semblaient les plus prédictifs, en accord avec la littérature (109,119,154,155,171). Tous les enfants ayant une amplitude minimale moyenne supérieure à 3 μ V, une amplitude maximale supérieure à 72 μ V et une discontinuité inférieure à 6% sur leur EEG initial avaient une évolution favorable.

Ces résultats montrent que le retentissement cérébral post-anoxique quantifié par nos marqueurs qEEG dans les premières heures de vie est bien associé au devenir à long terme des enfants.

Au final, en mesurant des composantes spécifiques de l'activité électrique cérébrale, l'analyse quantitative de l'EEG permet d'apporter en temps réel des informations pertinentes et objectives reflétant les processus physiopathologiques cérébraux post-anoxiques. Bien que les anomalies du signal EEG en phase de latence ne reflètent pas forcément la constitution de lésions définitives, celles-ci semblent traduire la sévérité de l'anoxo-ischémie cérébrale et sont donc prédictives du pronostic. Ainsi, ces marqueurs qEEG évalués précocement peuvent donc être utilisés pour discriminer les nouveau-nés qui vont bénéficier d'un traitement par HT.

Cependant, il a été montré que tous ces marqueurs pris individuellement n'apportaient que des informations partielles. Dans l'étude de Korotchikova et al., aucune variable qEEG ne permettait de différencier tous les grades sévérité (201). Bien que très corrélées entre elles, nos différentes variables qEEG apportent des informations complémentaires. L'objectif était donc de les combiner afin de développer des modèles d'aide au diagnostic de l'EAI néonatale précoce, grâce à la classification automatique de la sévérité des EEG dans un premier temps, puis à la prédiction automatique de l'évolution clinique dans un deuxième temps.

1)4. Classification automatique

Nous avons développé des modèles basés sur les six variables qEEG, combinées par des algorithmes d'apprentissage machine, afin de classer automatiquement la sévérité des EEG néonataux initiaux, enregistrés en phase de latence post-anoxique.

1.4.1. Classification des groupes de sévérité EEG

Afin d'obtenir le modèle le plus performant, différentes méthodes ont été testées. Le modèle le plus performant était basé sur un algorithme de SVM combinant les 6 variables qEEG correspondant aux valeurs moyennes des 6 marqueurs dans le temps (tracé entier) et l'espace (ensemble des dérivations).

Selon l'algorithme utilisé

Parmi les différents types d'algorithmes testés, les algorithmes de SVM semblaient les plus efficaces pour classer les données selon les 3 groupes de sévérité EEG visuels de la classification française. L'algorithme de SVM sépare automatiquement les données en différentes classes par des hyperplans, avec une maximisation des marges à l'aide de vecteurs (méthode détaillée en annexe A1). Selon les paramètres utilisés, les algorithmes de SVM linéaires (permettant une séparation linéaire des données) et l'utilisation de noyaux gaussien ou quadratique (permettant de séparer les données en 3 dimensions selon une fonction gaussienne ou quadratique) permettaient d'obtenir les meilleurs résultats.

La méthode de SVM est particulièrement intéressante car, grâce à la méthode de maximisation des marges, elle peut fonctionner sur de plus petites bases de données et l'utilisation de noyaux (méthode Kernel) permet de diviser des données dont la distribution n'est pas linéaire. Elle est connue pour avoir une bonne précision de prédiction et une durée rapide d'apprentissage (230), ce que confirment nos résultats. Ce modèle a déjà été utilisé pour prédire la sévérité de l'EAI néonatale dans plusieurs études antérieures avec de bonnes performances (197,203–207,231,232). Ces études utilisent des algorithmes de SVM avec noyau linéaire ou gaussien mais à notre connaissance, le SVM avec noyau quadratique n'avait pas été testé. Dans l'étude récente de Modghadam et al. (2021), qui compare plusieurs types d'algorithmes (SVM, MFNN, RNN), le modèle de SVM semblait également le plus performant pour classer les grades EEG visuels (207).

Selon les dérivations EEG utilisées

La classification des groupes de sévérité EEG visuels semblait meilleure lorsqu'elle était basée sur les données qEEG issues de l'EEG global (ensemble des dérivations) qu'à partir des données de la dérivation C3-C4 uniquement, notamment pour classer les tracés du groupe 2-3 par rapport au groupe 1. Ces résultats paraissent logiques car l'encéphalopathie anoxo-ischémique est classiquement considérée comme une atteinte cérébrale globale. De plus, les valeurs qEEG peuvent être modifiées par la localisation des électrodes (217) et la moyenne des données sur l'ensemble des dérivations permet d'atténuer l'impact des artefacts localisés sur une ou plusieurs dérivations. Les résultats entre les modèles basés sur l'EEG global et sur C3C4 étaient cependant très proches, ce qui avait également été constaté dans l'étude de

Raurale et al. (2021) où la performance de prédiction de l'EAI était identique lorsque le nombre de dérivations utilisées était réduit de 8 à 2 (F3-C3 et F4-C4) (208). Par ailleurs, l'étude de Moghadam et al. mettait en évidence une variation spatiale de la performance de classification lors de la comparaison de plusieurs modèles utilisant chacun les données d'une électrode EEG unique (207).

En pratique, il est recommandé d'utiliser un montage EEG complet avec le maximum d'électrodes plutôt qu'un montage réduit (233). Ces résultats montrent cependant qu'en cas de nécessité, 2 électrodes peuvent suffire pour classer automatiquement la sévérité de l'EAI avec une performance correcte. Cela pourrait être particulièrement utile dans les centres ne disposant pas de personnel formé à la mise en place d'un EEG complet.

Selon les variables qEEG utilisées

Contrairement à ce qui était attendu, l'utilisation de l'ensemble des 6 variables qEEG sélectionnées dans la première partie de ce travail (soit la valeur moyenne de l'IA min, les valeurs minimales de l'IA max et de la PT, maximales du BSR et de la SEF et le coefficient de variation de la PR) semblait moins efficace que l'utilisation des valeurs moyennes des 6 marqueurs pour classer les tracés de la cohorte de validation. Ces variables avaient pourtant été sélectionnées sur la cohorte de développement comme les plus pertinentes pour décrire les 3 groupes de sévérité de l'EAI et les moins sensibles aux artefacts, mais leur application à une autre cohorte de tracés était moins efficace.

Néanmoins, l'utilisation des valeurs moyennes des marqueurs a un intérêt pratique car le modèle peut être appliqué à chaque mesure quantitative (c'est-à-dire toutes les 20 secondes) pour attribuer automatiquement un groupe de sévérité à partir des données qEEG calculées. L'analyse automatique du groupe de sévérité peut ainsi être réalisée tout au long du tracé, ce qui permet d'identifier des variations de sévérité et de refléter la labilité du tracé, comme dans la figure I.9B (p.69).

D'autres variables qEEG auraient pu être utilisées comme les marqueurs de la connectivité cérébrale, une caractéristique neurophysiologique quantifiable de plus en plus étudiée actuellement (219). Cependant, nous avons choisi de n'utiliser que des marqueurs déjà disponibles dans un outil commercialisé afin de faciliter l'application clinique des modèles.

Résultats du modèle retenu

Le modèle SVM qEEG1/global retenu permettait de classer correctement 80% des nouveau-nés en phase de validation avec de bonnes performances de classification pour chaque groupe de sévérité (87% du groupe 1, 67% du groupe 2 et 78% du groupe 3). Comme attendu, le groupe 2 correspondant aux anomalies EEG modérées (EEG de grade 2), était le moins bien classé. En pratique clinique, les nouveau-nés ayant un retentissement cérébral post-anoxique « intermédiaire », soit une encéphalopathie néonatale modérée, sont les plus difficile à discriminer, notamment en phase de latence. Cliniquement, leur examen neurologique précoce est variable comme le montre l'attribution des stades de Sarnat dans ce groupe (stade 2 majoritairement mais plusieurs enfants ont un stade 1 ou 3) et les tracés EEG de sévérité modérée sont également difficiles à discriminer des tracés subnormaux ou sévères. Les classifications EEG proposées permettent de standardiser l'analyse visuelle en délimitant des groupes de gravité au sein d'un panel continu de sévérité. Cependant, comme nous l'avons évoqué, les limites de ces groupes varient entre les différents systèmes existants, notamment pour les tracés de sévérité modérée, et n'ont pas forcément été établies à partir de données reflétant la physiopathologie sous-jacente (113,155). Notamment, les tracés comportant des caractéristiques intermédiaires ou fluctuantes ne rentrent pas toujours dans les critères des classifications et l'attribution du grade de sévérité dépend alors de l'appréciation du neurophysiologiste. Par exemple, un tracé de fond très légèrement discontinu peut être classé en grade 1 (subnormal) selon la classification française si les intervalles inter-bouffées sont « transitoires avec une organisation temporo-spatiale, des cycles veille-sommeil et une réactivité conservés ». Cependant les critères ne précisent pas le seuil en durée et en abondance des IBI pour différencier ce tracé subnormal d'un tracé discontinu de type A. Un tracé subnormal peut également comporter de rares éléments paroxystiques sans que le seuil en fréquence ne soit spécifié. De même, les tracés continus mais légèrement trop lents, les tracés présentant une amplitude modérément réduite entre 15 et 30 μ V, les tracés continus mais peu labiles ne rentrent dans aucun des critères. A l'inverse, un tracé discontinu de type B sévère peut se rapprocher d'un tracé de grade 3 paroxystique.

Le groupe 2 (grades 2) était ainsi sujet à la plus grande discordance inter-observateur lors des analyses neurophysiologiques visuelles. Seuls 72% des tracés classés en grade 2 lors de la première ou de la deuxième analyse neurophysiologique étaient gradés en 2 par les deux

analyses. La cohérence totale entre les 2 observateurs était de 89% avec un kappa de Cohen à 0.84 contre 0.71 lorsque les prédictions du modèle étaient comparées aux grades visuels finaux. De plus, l'étude étant monocentrique, tous les tracés étaient analysés par la même équipe avec une formation et des habitudes communes. La cohérence inter-observateur serait probablement moins bonne dans une étude multicentrique voire internationale. Dans l'étude de Moghadam et al., la cohérence entre le modèle automatique et l'analyse visuelle selon 5 stades de sévérité EEG était meilleure que la cohérence entre les 2 neurophysiologistes (207). La discrimination précoce de ces nouveau-nés ayant un retentissement cérébral anoxo-ischémique modéré représente ainsi l'enjeu médical le plus important dans les premières heures de vie, puisqu'il s'agit des enfants qui profitent le plus du traitement neuroprotecteur par hypothermie thérapeutique (70,234). La sous-évaluation de ces enfants peut entraîner une perte de chance importante, c'est pourquoi nous avons porté une attention particulière à la classification du groupe 2-3 afin de minimiser le nombre d'enfants sous-classés dans le groupe 1 par les modèles et qui ne seraient pas traités par HT alors qu'elle était potentiellement indiquée. Au contraire, la sur-classification de ces enfants semble moins problématique car l'HT paraît plutôt bien tolérée (54). Certaines études récentes suggèrent même d'étendre les indications d'HT aux EAI légères car ces enfants seraient susceptibles de présenter des séquelles cognitives à long terme (49,107,235–240). Cependant, les potentiels effets secondaires cardio-vasculaires, hématologiques et métaboliques de l'HT ainsi que le stress important engendré chez le nouveau-né (séparation des parents, traitements invasifs, sédations, etc.) restent non négligeables (241,242).

Erreurs de classification

Deux enfants du groupe 2 étaient sous-classés dans le groupe 1 par le modèle retenu.

Le premier enfant était un exemple typique de cas intermédiaire entre une EAI légère et modérée. L'examen clinique était perturbé avec un score d'Apgar à 6 à 10 minutes et un stade de Sarnat évalué à 2 mais le bilan biologique était peu contributif avec un pH bas mais un lactate peu élevé à 6 mmol/l. Le tracé EEG était intermédiaire, fluctuant entre un grade 0-1 et 2A du fait de discontinuités un peu trop marquées dans le sommeil calme (figure I.8A). Dans ce type de cas, le modèle peut éventuellement aider le neurophysiologiste à trancher entre les 2 grades. Cet enfant traité par HT avait une IRM cérébrale normale à J3 et un examen

clinique normal à 1 an, nous pouvons supposer qu'il aurait bien évolué même en l'absence de traitement.

Le deuxième enfant avait un tracé EEG de grade 2, caractérisé par une asymétrie marquée au dépens de la gauche et la présence de pointes temporales à droite (figure I.8B). Nos marqueurs ne permettaient pas de mesurer ces dernières caractéristiques et comme le tracé était globalement continu avec une amplitude normale à droite, il a été classé automatiquement dans le groupe 1. De plus, les prédictions du modèle semblaient fluctuantes entre un groupe 1 ou 2 lorsqu'il était appliqué tout au long du tracé (figure I.9B). Ainsi, pour les tracés intermédiaires, il peut être intéressant de vérifier les prédictions dans le temps afin d'évaluer la labilité du tracé. Ce cas illustre les limites de l'analyse quantitative EEG qui ne reflète qu'une partie de toutes les caractéristiques complexes du tracé. En effet, nos marqueurs mesurent principalement la continuité et l'amplitude du signal mais les 6 mesures résumant le tracé entier ne permettent pas de rendre compte de l'organisation temporo-spatiale du tracé de fond et donc de sa labilité, réactivité, de la présence de cycles veille-sommeil ou encore de la symétrie et de la synchronie. De même, ces marqueurs ne reflètent que des caractéristiques du tracé de fond et ne prennent pas en compte la présence de grapho-éléments physiologiques ou au contraire d'éléments paroxystiques comme des pointes ou des crises. Tous ces éléments sont analysés visuellement et ont pour certains une valeur pronostique prouvée (112,114,243–246). Des algorithmes de détection automatique des pointes, des crises, des cycles veille-sommeil ou encore de l'asymétrie du tracé de fond ont été proposés dans des études antérieures (247–251) mais l'ajout de ces algorithmes complexifierait beaucoup notre modèle alors que l'objectif du travail était de développer un algorithme basé sur des paramètres d'analyse quantitative EEG déjà disponibles en pratique et pouvant servir à la création d'un outil directement utilisable en routine.

Enfin, l'analyse quantitative peut être perturbée par la présence d'artefacts de signal comme dans l'exemple de l'enfant 1 (figure I.8A). Les artefacts de mouvement sont fréquents chez les enfants du groupe 1 et les artefacts permanents comme les artefacts respiratoires liés à une ventilation mécanique par exemple peuvent être analysés quantitativement comme une activité continue. Dans l'étude de Stevenson et al. par exemple, la présence d'artefacts entraînait 9% de plus d'erreurs de classification (202). L'étude de Raurale et al. en 2021 ne retrouvait pas contre pas de différence significative de performance de classification en

fonction du pourcentage d'artefacts des tracés analysés (208). L'utilisation d'outils de détection automatisée des artefacts pourrait être envisagée afin de retirer automatiquement les artefacts intermittents et améliorer la performance du modèle (252,253).

Ces résultats soulignent l'importance d'une vérification secondaire des résultats de l'analyse automatique, le groupe attribué automatiquement devant toujours être confronté à une expertise neurophysiologique.

Enfin, ces deux enfants étaient sous-classés par quasiment tous les modèles testés et nous avons vu qu'il existait également une discordance visuelle pour le tracé du premier. Nous pouvons donc supposer que ces limites de classification sont liées à la base de données elle-même et qu'aucun modèle automatique ne permettrait de classer ces données à 100%.

1.4.2. Prédiction du pronostic clinique

Résultats du modèle retenu

Dans un second temps, nous avons entraîné le modèle qEEG1/global à prédire l'évolution clinique favorable ou défavorable des enfants à l'âge de 1 an à partir des données EEG des tracés initiaux (modèle EEG). En phase de validation, ce modèle était efficace, avec une performance totale de 93% d'évolutions correctement prédites.

L'ajout dans le modèle d'un marqueur d'anoxie périnatale clinique (score d'Apgar) ou biologique (pH ou lactate) ne permettait pas d'améliorer la prédiction du pronostic à 1 an (respectivement 82%, 91% et 82,5%). Pour les variables biologiques, ces résultats pouvaient être attendus car contrairement au score d'Apgar ou au stade de Sarnat, ni le pH ni le lactate ne discriminait significativement les enfants évoluant défavorablement de ceux ayant une évolution favorable. Nous avons décidé de tester leur association aux marqueurs qEEG car ces marqueurs sont utilisés en routine clinique dans l'évaluation précoce de l'EAI néonatale et pourraient améliorer l'évaluation EEG en apportant des informations différentes et complémentaires. Ces résultats confirment cependant que ces marqueurs reflètent la sévérité de l'anoxie périnatale mais ne sont pas fiables pour prédire l'EAI et donc le pronostic. Ils ne semblent pas apporter d'information supplémentaire par rapport aux données qEEG qui mesurent directement le retentissement cérébral de l'anoxo-ischémie.

Au contraire, l'ajout du stade de Sarnat (1-3) dans le modèle permettait d'améliorer légèrement la performance de prédiction à 95%. En effet, les stades de Sarnat quantifient l'état neurologique du nouveau-né et donc le retentissement clinique de l'atteinte cérébrale post-anoxique. Comme nous l'avons déjà évoqué, cette classification a de nombreuses limites : elle est subjective, nécessite une certaine expérience, l'analyse en 3 stades ne permet pas une évaluation précise de la sévérité de l'EAI et il a été montré qu'elle n'était pas toujours très fiable dans les premières heures de vie (106,107). Cependant, cette évaluation semble apporter des informations complémentaires aux données qEEG sur le retentissement cérébral néonatal en phase de latence post-anoxique.

Erreurs de classification

Comme attendu, le modèle était moins efficace pour prédire une évolution clinique défavorable à partir de ces tracés initiaux et les 3 erreurs de classification concernaient des tracés avec des anomalies sévères. En effet, comme nous l'avons vu ci-dessus, les anomalies EEG sévères précoces peuvent être le reflet des mécanismes adaptatifs cérébraux et ne sont pas forcément associés à un mauvais pronostic. En effet, dans la littérature les tracés EEG enregistrés avant H6 sont peu prédictifs d'une mauvaise évolution clinique, notamment si le nouveau-né est traité par HT. Dans les études menées chez des nouveau-nés mis en HT, la valeur pronostique négative des tracés EEG anormaux ne devient significative que lorsque les anomalies sévères persistent au-delà de 24-48 heures (109,119,156,157,195). Au contraire, un tracé normal précoce est extrêmement prédictif d'un devenir favorable (VPP de 100% dans l'étude de Nash et al. 2011).

Les résultats étaient meilleurs que ceux escomptés mais doivent être interprétés avec précaution du fait du petit effectif de patients dans le groupe défavorable. De plus, la plupart des enfants ayant une évolution défavorable étaient décédés en période néonatale après une limitation des thérapeutiques actives (20/26).

Le modèle Sarnat prédisait à tort une évolution favorable chez deux enfants. Dans les deux cas, l'erreur de prédiction était probablement due à la présence intermittente d'artefacts perturbant les tracés inactifs par ailleurs (liés à des gasps, frissons ou aux électrodes). Ces deux enfants étaient décédés en période néonatale suite à un arrêt des thérapeutiques actives devant des lésions anoxo-ischémiques sévères à l'IRM cérébrale de J3. La troisième erreur

concernait un nouveau-né avec un tracé initial inactif, également classé automatiquement dans le groupe 3. Il était donc attendu que le modèle prédise un devenir défavorable. Ce nouveau-né avait une évolution dite favorable car il ne présentait que des séquelles légères à l'âge de 1 an (bon développement psychomoteur et légère spasticité des membres inférieurs). Il faudrait cependant vérifier l'évolution clinique de cet enfant à plus long terme.

Le modèle automatique pourrait être utilisé pour prédire, dans une certaine mesure, l'efficacité du traitement par HT chez un nouveau-né ayant un tracé EEG précoce comportant des anomalies sévères. Cela permet d'apporter des données variées et complémentaires aux cliniciens même si les modèles s'appuient sur les mêmes éléments neurophysiologiques pour classer la sévérité des EEG et prédire le pronostic.

Afin de tenter d'améliorer l'efficacité de prédiction de l'évolution clinique par l'algorithme, des marqueurs de variabilité de la fréquence cardiaque peuvent également être combinés aux marqueurs qEEG. Ce travail a été réalisé en parallèle de ma thèse et fera l'objet d'une publication.

Enfin, il aurait pu être intéressant de tester d'autres marqueurs potentiels d'EAI utilisables précocement comme la NIRS, qui est un outil non invasif et facilement disponible permettant de mesurer l'oxygénation cérébrale au lit du patient (254), ou des biomarqueurs comme la S100B, la NSE, l'activine A, ou encore les interleukines 1B ou 6 qui ont montré un intérêt pronostique dans plusieurs études (140–142,144). Malheureusement nous ne disposons pas des données de ces différents marqueurs chez les nouveau-nés de nos cohortes.

II. EEG enregistrés après H6 sous HT en phase secondaire post-anoxique

Dans cette partie du travail, nous nous sommes intéressés aux tracés enregistrés entre H12 et H72, soit en phase secondaire post-anoxique, chez des enfants mis en hypothermie thérapeutique pour une encéphalopathie modérée ou sévère (critères cliniques et EEG).

Comme nous l'avons vu, la valeur prédictive des tracés anormaux sur l'évolution clinique à long terme augmente avec le temps et ces tracés sont donc particulièrement intéressants pour évaluer le pronostic à long terme des nouveau-nés.

II)1. Description visuelle des tracés EEG « HT » et valeur pronostique

Visuellement, ces tracés avaient tendance à s'améliorer au cours du temps avec un tracé de fond de plus en plus ample et continu, voire à se normaliser avec l'apparition de grapho-éléments physiologiques (encoches frontales, dysrythmie lente antérieure), d'une organisation temporo-spatiale, de cycles veille-sommeil et d'une bonne réactivité. La fréquence des tracés discontinus de type A (grade 2A) augmentait initialement puis restait stable au cours du temps. Néanmoins, une augmentation de la fréquence des grades 2A aux dépens des grades 1 est à noter entre H48 et H72, reflétant une légère dégradation des tracés avec un signal plus discontinu. Cette dégradation pourrait être due à l'hypothermie prolongée ou à l'accumulation des sédations reçues. Il y avait peu de crises (13% des tracés), en particulier après 48 heures de vie, probablement en lien avec le traitement par hypothermie (255).

Dès H12 et à tous les délais excepté H36, les tracés EEG du groupe 1 étaient prédictifs à 100% d'un devenir favorable à 1 an. A H36, un seul tracé du groupe 1 était associé à une évolution défavorable. Après relecture de ce tracé, le groupe 1 avait été attribué visuellement devant un tracé de fond quasiment continu présentant des grapho-éléments physiologiques sur les dérivations antérieures. Cependant, le tracé était beaucoup moins ample et monotone sur les dérivations postérieures et il s'agissait d'une amélioration transitoire car les tracés de H24 et H48 étaient gradés 2B. Ce tracé était donc probablement faussement rassurant et avait plutôt la valeur pronostique d'un grade 2. Ces résultats sont cohérents avec ceux de la littérature. Dans les études antérieures à l'utilisation de l'hypothermie thérapeutique (HT), les tracés EEG normaux ou subnormaux (grades 1) précoces sont fortement associés à une évolution favorable à long terme (VPP de 100% à H12 et H24 dans l'étude de Murray et al. 2009 (152)). Dans notre étude comme dans l'étude de Hamelin et al. 2011 (153), le traitement par HT semble améliorer la valeur prédictive des grades 1 plus tardifs puisqu'elle reste excellente jusque H72.

Comme attendu, la valeur prédictive des tracés sévères du groupe 3 sur l'évolution clinique défavorable augmentait avec le temps et la persistance d'un tracé sévère après H48 était toujours associée à une évolution défavorable. Des résultats comparables ont été retrouvés dans les études antérieures, surtout sous HT : VPP de 100% après H48 chez Hamelin et al. 2011

sous HT, contre 86% chez Murray et al. 2009 sans HT (152,153). Néanmoins, 80% (n=16) de nos tracés du groupe 3 à H12 étaient associés à une évolution clinique défavorable à long terme. Les 4 tracés EEG de grade 3 à H12 associés à une évolution clinique normale étaient tous des tracés paroxystiques (non inactifs) et s'amélioraient rapidement par la suite. La valeur pronostique de nos tracés du groupe 3 sous HT semblait donc péjorative dès H12.

Enfin, concernant le groupe 2, la valeur prédictive d'une évolution favorable était de 100% à H12 puis diminuait (surtout à partir de H36) pour atteindre 83% à H72. Ces tracés semblent beaucoup plus prédictifs d'une évolution favorable depuis le traitement par HT (VPP de 100% à H12 chez Hamelin et al. 2011 comme dans notre étude) mais la valeur pronostique d'un grade 2 persistant dans le temps reste plus incertaine. Cependant, ce groupe rassemblait plusieurs types de tracés dont les valeurs pronostiques semblent différentes. En effet, la majorité des grades 2A évoluaient favorablement alors que les grades 2B pouvaient être associés à une évolution défavorable, d'autant plus qu'ils persistaient dans le temps. En effet, les tracés discontinus de type A présentent par définition des grapho-éléments physiologiques, une labilité et une réactivité partiellement conservés, éléments connus comme étant des facteurs de bon pronostic (152,256), alors que ces éléments ne sont pas présents dans les tracés de grade 2B. La valeur pronostique des grades 2A, même persistant après H36, semble se rapprocher de celle des tracés subnormaux et la pertinence d'un regroupement avec les tracés discontinus de type B peut être critiquable.

Les anomalies EEG après H6 reflètent ainsi les mécanismes cérébraux de la phase secondaire post-anoxique, en lien avec la constitution des lésions.

Après une anoxie sévère, les études expérimentales chez les fœtus de brebis montrent que la suppression active de l'activité cérébrale à visée neuroprotectrice disparaît généralement H6-H8 avec la transition vers une hyperperfusion cérébrale, en l'absence d'un traitement par HT (52,57). On retrouve alors une réponse inflammatoire systémique et locale, l'apparition d'une activité épileptiforme et de crises, la constitution d'un œdème cytotoxique contribuant à la constitution de lésions anoxo-ischémiques (33,51,257). La persistance d'une activité EEG pathologique après la phase de latence est ainsi associée à la sévérité des lésions cérébrales chez le fœtus de brebis (31,122,149,150).

Chez les nouveau-nés, les tracés restant pathologiques après 24-48 heures sont également associés à un mauvais pronostic avec la présence de lésions cérébrales définitives à l'IRM cérébrale (109,120,157,258–261).

II)2. Classification automatique des groupes de sévérité EEG « HT »

Le modèle SVM qEEG1/global était moins efficace pour classer ces tracés plus tardifs extraits des monitorings EEG enregistrés sous HT, avec une performance de 67% de tracés bien classés par rapport aux groupes de sévérité EEG visuels. Ce résultat était attendu puisque le modèle était entraîné sur les données des EEG initiaux, enregistrés dans des conditions différentes. L'heure d'enregistrement du tracé ne semblait pas avoir d'impact significatif sur la performance du modèle alors que Raurale et al. montraient une diminution de la performance de leur modèle avec le temps (208). La performance de classification du groupe 3 était légèrement meilleure que celle des tracés initiaux et restait identique pour le groupe 2. Le groupe 1 par contre était moins bien classé avec beaucoup d'erreurs, notamment entre les groupes 1 et 2. En effet, les critères de classification visuelle de ces tracés enregistrés sous hypothermie pouvaient différer légèrement. L'hypothermie corporelle et la présence de sédations peuvent accentuer la dépression et la discontinuité du signal (134,137,262–264), ce qui est pris en compte lors de l'interprétation neurophysiologique. De plus, les tracés étaient extraits d'enregistrements plus tardifs (H12-72) et le neurophysiologiste portait probablement plus attention à certaines caractéristiques non mesurées quantitativement, comme la labilité du tracé de fond et l'identification de cycles veille-sommeil. Enfin, les tracés évoluant au cours du temps, les extraits pouvaient correspondre à un moment de transition entre 2 grades, ce qui pouvait également être source d'erreur (208). Lorsque la classification automatique était testée sur des groupes de grades différents, il était mis en évidence que la majorité des confusions avait lieu entre les grades 1 et 2A (résultats de ma thèse de médecine : « Etude d'un modèle de classification automatique des EEG pour grader la sévérité de l'atteinte cérébrale post-anoxie périnatale », soutenue le 9 mai 2019).

Ces résultats restent cependant acceptables et l'automatisation de l'analyse quantitative EEG au cours du temps pourrait être utilisée afin de mieux objectiver l'évolution des tracés.

II)3. Prédiction automatique du pronostic clinique

En fonction du délai post-natal, la performance de prédiction du pronostic clinique par le modèle SVM qEEG1/global variait entre 77% à H48 et 87,5% à H12. Cependant, la prédiction d'une évolution clinique défavorable à partir des tracés enregistrés après H24 était médiocre. En effet, l'application sur ces tracés tardifs d'un modèle entraîné à prédire automatiquement l'évolution clinique à partir de tracés précoces n'a pas beaucoup de sens car comme nous l'avons vu, la valeur pronostique des anomalies EEG évolue avec le temps. Il s'agit d'une première approche mais il faudrait développer un modèle de prédiction automatique spécifique pour chaque délai post-natal. Dans ma thèse de médecine, nous avons développé un modèle à partir de ces tracés issus des monitorings. En phase de développement, ce modèle basé sur un algorithme d'analyse factorielle discriminante avait une performance de prédiction de l'évolution clinique variant entre 88 et 100% selon le délai post-natal sur lequel il était entraîné. Dans le futur, cet algorithme pourra être validé sur une autre cohorte de tracés enregistrés à ces mêmes délais.

III. Comparaison avec la littérature

Plusieurs systèmes de classification automatique de l'EAI ont déjà été proposés à partir des EEG néonataux, ils sont résumés dans le [tableau A2](#) en annexe. Cependant, ces résultats sont difficilement comparables du fait de la diversité des méthodes employées.

Selon les études, différentes références sont utilisées pour évaluer la sévérité des EEG. Les équipes irlandaise et américaine se réfèrent à 3 ou 4 groupes de sévérité EEG (197,201–203,205,208,232) définis selon la classification EEG de Murray (265). L'étude de Moghadam et al. (2021) quant à elle se base sur la classification américaine de Tsuchida (266) selon 5 ou 7 groupes de sévérité (207). Cette différence dans les références utilisées souligne une fois de plus le problème de l'hétérogénéité de ces classifications qui rend difficile la généralisation des pratiques. La classification française sur laquelle nous avons basé nos 3 groupes de sévérité est particulièrement détaillée et prend en compte de nombreuses caractéristiques neurophysiologiques autres que l'amplitude ou la continuité (108). Elle permet une bonne cohérence inter-observateur et les grades de sévérité sont bien corrélés au pronostic à long

terme des enfants (212,267). Par ailleurs, l'équipe irlandaise a également développé des modèles multimodaux de prédiction automatique de l'évolution clinique à 2 ans (204,231).

Ces modèles semblent efficaces en phase de développement avec des performances de classification allant de 78% dans l'étude de Raurale et al. (2019) à 97% dans l'étude de Moghadam et al. (2021) pour prédire les groupes de sévérité EEG (197,207) et 84% au mieux pour prédire l'évolution clinique à 2 ans dans l'étude de Temko et al. en 2015 (204). Cependant, seuls les modèles de Ahmed (2016) et Raurale (2021) ont été testés sur une cohorte de validation indépendante (205,208). En validation, leurs résultats sont inférieurs aux nôtres avec des performances totales de 56.8% et 69.5% respectivement (Raurale et al. 2021). Les modèles proposés dans ces études sont très élaborés mais leur application à des données différentes semble ainsi limitée. Néanmoins, il faut souligner que leur cohorte de validation est plus importante que la nôtre (N=91) et multicentrique, ce qui rend l'extrapolation de leurs modèles plus compliquée. Les autres études utilisent quasiment toutes une méthode de validation croisée type LOSO (leave-one-subject-out) qui permet le développement des modèles sur l'ensemble de la cohorte hormis un sujet sur lequel est testé le modèle obtenu puis l'opération est répétée pour tous les sujets de la cohorte. Cette méthode est reconnue comme robuste sur les petites cohortes notamment mais elle ne permet pas de vérifier l'applicabilité du modèle à des données indépendantes.

De même, pour pallier les effectifs réduits de leurs cohortes, les équipes de Matic, Guo et Moghadam analysent plusieurs extraits EEG par nouveau-né (203,206,207). Les différents extraits d'un même patient ne sont pas indépendants et les données utilisées pour le développement des modèles peuvent être redondantes. De ce fait, ces modèles risquent également d'être moins extrapolables à des données différentes. De plus, les études de Guo et al. (2020) et Moghadam et al. (2021) utilisent des extraits EEG de 5 minutes, classés automatiquement par rapport au grade de sévérité attribué visuellement pour chaque extrait, ce qui paraît critiquable d'un point de vue neurophysiologique (206,207).

Contrairement à ce travail, les modèles proposés par ces études ne sont pas focalisés sur l'évaluation précoce de la sévérité de l'EAI. La plupart utilisent des cohortes non homogènes de tracés enregistrés dans les premiers jours de vie (jusque J5) chez des enfants traités ou non

par hypothermie. De même, aucune de ces études ne cherche à optimiser spécifiquement la classification des groupes intermédiaires de sévérité. De façon générale, les groupes de tracés normaux ou sévères sont très bien classés par ces modèles mais il s'agit également des groupes les plus faciles à discriminer cliniquement. Au contraire, les groupes de sévérité modérée sont moins bien classés. Dans l'étude de Raurale et al. (2021) par exemple, seulement 55.6% des tracés de sévérité modérée sont correctement classés en validation avec 10 tracés de grade 2, 1 tracés de grade 3 et 1 tracé de grade 4 sous-classés en grade 1 (selon la classification de Murray) (208).

Ces modèles semblent donc moins adaptés aux problématiques thérapeutiques des premières heures de vie et notamment à la décision de mise en HT qui est selon nous l'application la plus utile de ces outils d'aide automatisée.

De plus, certains de ces modèles sont très complexes et ne permettent pas une évaluation transparente des données, à la différence du modèle proposé dans ce travail. En effet, nous nous sommes basés sur l'utilisation de variables neurophysiologiques concrètes dont les valeurs peuvent être interprétées et utilisées comme aide à l'évaluation clinique. De plus, nous avons choisi de ne combiner que 7 variables au maximum afin d'éviter le surajustement des modèles et limiter la redondance des informations apportées, comme montré précédemment (204). Au contraire, certaines études utilisent de nombreuses variables complexes, abstraites et donc difficilement interprétables, comme par exemple l'opérateur d'énergie non linéaire (204,231) ou encore l'entropie de Shannon (205,206). En outre, la plupart de ces études utilisent des méthodes non supervisées pour sélectionner automatiquement les variables qEEG qui seront utilisées dans les modèles (203,205,206). Raurale et al. utilisent même une méthode d'apprentissage profond (« deep learning ») qui ne se base plus sur des variables données (208,268). Ils utilisent des réseaux de neurones convolutifs pour extraire automatiquement les données neurophysiologiques pertinentes à partir des tracés EEG bruts afin de les classer. Cette approche originale et prometteuse, se détache néanmoins définitivement de la clinique et le modèle obtenu peut être apparenté à une boîte noire.

Une des limites potentielles de notre modèle est qu'il se base sur seulement 6 variables qEEG résumant le tracé entier, à la différence de certains modèles qui déterminent

automatiquement un groupe de sévérité toutes les 1 à 5 minutes de tracé ou sur chaque dérivation puis attribuent un résultat final pour le tracé entier selon le groupe prédominant, ce qui leur permet de mieux prendre en compte la variabilité temporelle et spatiale (197,202,204,205,231). Cependant, nous avons testé une méthode similaire en appliquant notre modèle sur la totalité des données quantitatives EEG obtenues toutes les 20 secondes sur la cohorte de validation. Le groupe de sévérité de chaque tracé était ensuite déterminé selon le groupe prédominant statistiquement mais cette méthode ne permettait pas d'obtenir de meilleurs résultats que celle retenue (résultats non montrés).

Enfin, à notre connaissance, aucun de ces systèmes n'a encore été implémenté dans un outil disponible au lit du patient. Dans ce travail, nous avons donc cherché à optimiser les aspects pratiques de notre modèle afin qu'il soit plus facilement applicable à la pratique clinique. Ainsi, nous avons fait le choix d'utiliser les tracés EEG bruts sans traitement préalable du signal, au risque de diminuer la performance de l'analyse quantitative, alors que la plupart des études (sauf celle de Matic et al. en 2014) utilisent des tracés sans artefacts ni crises (203). De plus, nous n'utilisons qu'une étape de classification, ce qui permet d'obtenir une méthode de prédiction automatique rapide et de faciliter son implémentation dans un futur logiciel.

IV. Applications et perspectives

Nous avons donc obtenu deux modèles basés sur les données qEEG globales : un modèle de classification automatique des groupes de sévérité EEG et un modèle de prédiction automatique de l'évolution clinique.

Afin que ces modèles puissent être utilisés au lit du patient, il s'agit désormais de les implémenter dans un logiciel directement utilisable sur les machines d'enregistrement EEG. Ce projet est actuellement en cours, avec l'aide de MM Nacim Betrouni (INSERM U1172), Julien De Jonckheere (CIC-IT) et Cristiano Rizzo (Micromed), en lien avec le projet FHU « 1000 jours la santé ». Il s'agit d'un enjeu important, car il a été montré que malgré un investissement massif des hôpitaux dans des projets d'intelligence artificielle, très peu sont finalement implantés en milieu réel (269).

Concrètement, l'outil permettrait d'extraire automatiquement différentes informations à partir du tracé EEG brut enregistré après une anoxie périnatale et de les présenter aux

cliniciens par l'intermédiaire d'une interface ergonomique (exemple en [figure I.12](#)). A partir des données qEEG, un groupe de sévérité serait attribué automatiquement sous forme de probabilités. Pour la prédiction du pronostic clinique avant H6, le stade de Sarnat pourrait être rajouté dans le modèle. En cas de groupe 2 (en faveur d'une EAI précoce modérée) et surtout 3 (EAI sévère), la prédiction de l'évolution clinique à long terme serait particulièrement utile afin de prévoir l'efficacité du traitement par HT. De plus, les informations neurophysiologiques quantitatives reflétant les différentes caractéristiques du tracé de fond EEG (amplitude, continuité et contenu fréquentiel du signal) seraient représentées par rapport aux valeurs de référence et sous forme de courbes de tendance ([figure I.12A-B](#)). Enfin, l'algorithme peut être utilisé de façon dynamique tout le long du tracé afin d'avoir une évaluation automatique longitudinale de la sévérité de l'EEG et de sa variabilité ([figure I.12C](#)).

Cet outil permettrait ainsi de mécaniser dans une certaine mesure le processus cognitif d'interprétation du neurophysiologiste d'une part, mais surtout de l'étayer en apportant des informations complémentaires sur le fonctionnement cérébral du nouveau-né, dans une approche plus individuelle, continue et physiopathologique de la sévérité de l'atteinte cérébrale.

De plus, nous avons montré que notre modèle de classification des groupes de sévérité EEG était également applicable aux tracés plus tardifs. Cet outil pourrait donc être utilisé pour évaluer automatiquement l'évolution des tracés sous HT. La cinétique d'évolution des tracés sévères ayant un intérêt pronostique prouvé, un algorithme d'évaluation automatique de cette cinétique pourrait être développé dans le futur.

Pour développer ce logiciel d'aide au diagnostic de l'EAI néonatale, le projet est d'implémenter un logiciel exécutable dans un premier temps, dont le lien serait directement disponible dans le logiciel SystemPlus de Micromed©. Afin de pouvoir être utilisé en pratique clinique, ce logiciel doit être facilement disponible et utilisable, utile et ressenti comme tel (269). Une collaboration avec des ingénieurs qualifiés en programmation informatique (Nacim Betrouni et Julien De Jonckheere) sera nécessaire pour traiter le signal afin que le modèle soit utilisable à partir de n'importe quel format de tracé EEG, pour automatiser l'extraction des données, le

calcul des 6 variables qEEG, pour recoder l'algorithme utilisé en-dehors de Matlab et pour coder l'interface de l'exécutable.

Secondairement, ce logiciel pourra être validé sur une cohorte prospective et multicentrique de tracés EEG initiaux post-anoxiques. Nous pourrions tester l'impact de l'utilisation du logiciel en comparant la performance d'évaluation de la sévérité de l'EAI d'un groupe 1 de médecins plus ou moins expérimentés disposant des données habituelles (cliniques, biologiques, tracés EEG conventionnel et/ou d'amplitude) à la performance d'un groupe 2 de médecins disposant des données habituelles et de l'aide du logiciel. Cela permettra de vérifier que les objectifs ont été atteints en termes de facilité d'utilisation du logiciel et de performance pour classer la sévérité de l'encéphalopathie.

Si les résultats sont satisfaisants, une certification pourra être envisagée afin de pouvoir utiliser le logiciel directement dans une machine EEG commercialisée et de faciliter son accès.

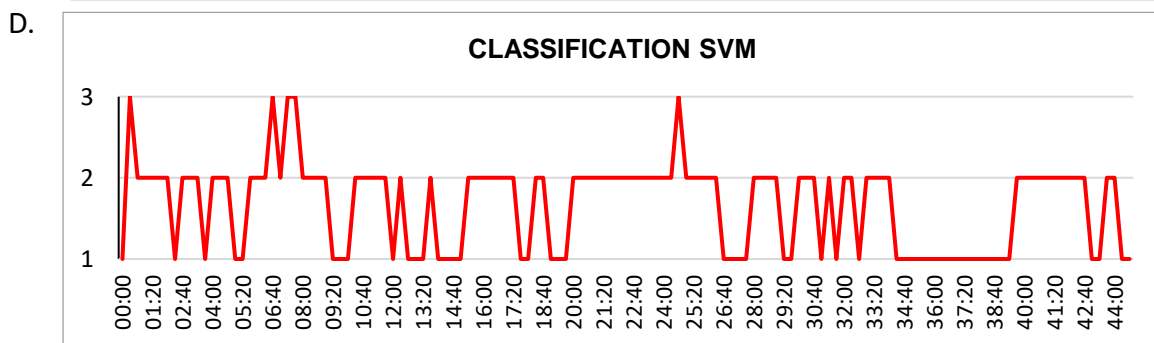
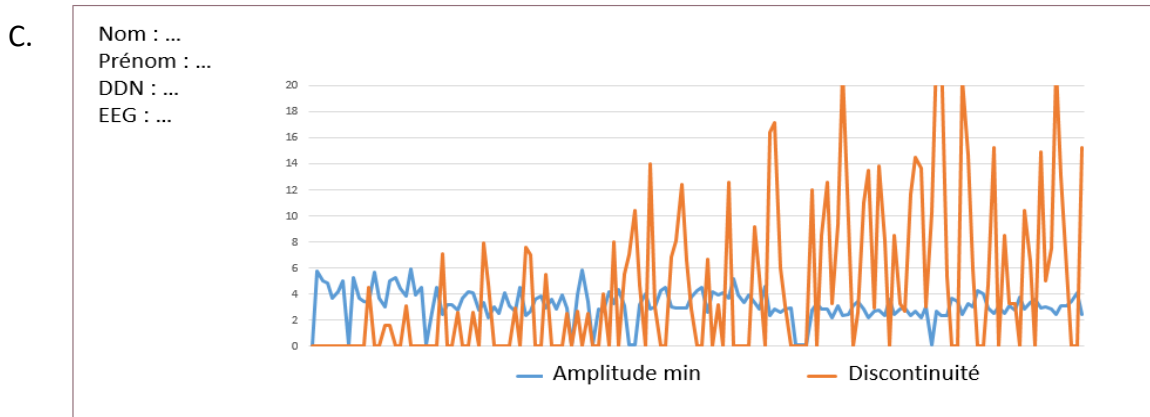
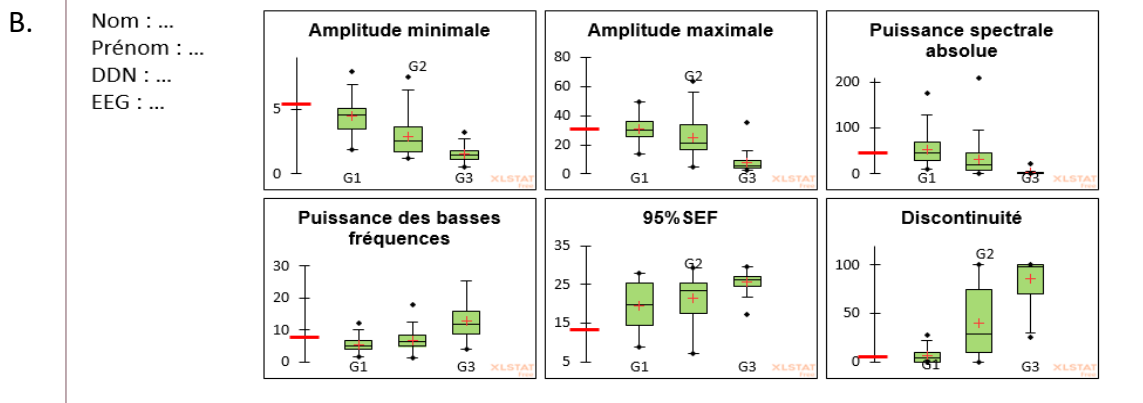
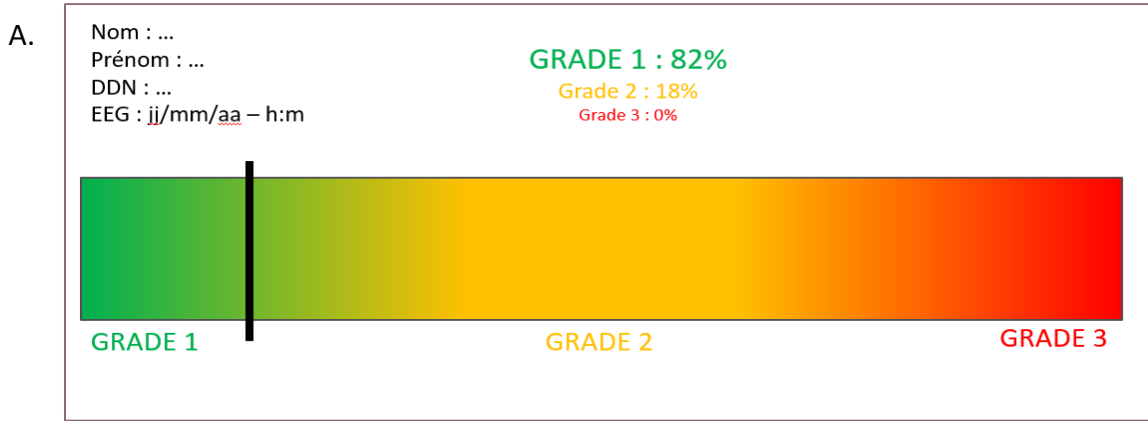
A terme, ce logiciel de diagnostic automatisé de l'EAI permettra d'améliorer la prise en charge des nouveau-nés après anoxie périnatale. Il peut être utilisé par les néonatalogues comme aide, en complément des données cliniques et biologiques, pour distinguer au mieux et le plus rapidement possible les nouveau-nés susceptibles de développer des lésions cérébrales anoxo-ischémiques, c'est à dire ceux nécessitant un traitement par hypothermie. Il sera particulièrement utile dans les nombreux centres où la mise en place et l'enregistrement d'un EEG est possible en urgence à toute heure (personnel formé) mais dont l'utilisation est limitée par l'absence d'un neurophysiologiste pour l'interpréter. L'EEG étant l'examen de référence pour l'évaluation précoce de l'encéphalopathie anoxo-ischémique du nouveau-né, cet outil pourrait donc permettre la généralisation de son utilisation dans les centres périphériques, sous réserve d'un accès possible au matériel nécessaire. Il pourrait également être utilisé par les neurophysiologistes, en complément de l'analyse visuelle EEG, pour évaluer certains tracés intermédiaires et pour mieux objectiver l'évolution des tracés dans le temps.

Enfin, cet outil pourra être testé et adapté à d'autres contextes, comme l'évaluation neurologique des enfants après chirurgie cardiaque ou après arrêt cardio-respiratoire en réanimation pédiatrique par exemple.

Figure I.12 - Informations fournies par le futur logiciel d'évaluation automatisée de l'EAI

- A. Exemple de résultat sous forme de probabilité pour chaque groupe de sévérité EEG.
- B. Données qEEG du tracé en fonction de la distribution habituelle des données selon les 3 groupes de sévérité.
- C. Courbes de tendance des marqueurs d'amplitude minimale et de discontinuité tout le long du tracé

D. Attribution du groupe de sévérité SVM tout le long du tracé (toutes les 20 secondes)



V. Réflexions éthiques

L'expression « intelligence artificielle » (IA), créée en 1956 lors d'une école d'été du Dartmouth College, désigne le domaine de recherche qui étudie et « mime » les mécanismes de l'intelligence en les modélisant avec des algorithmes et en les expérimentant avec des machines. Ce désir « d'externalisation cognitive » s'inscrit dans une révolution technologique et numérique en cours. L'utilisation de l'IA dans le domaine de la santé amène de nombreuses perspectives mais pose également des questions éthiques essentielles.

Intérêts de l'IA en santé

En théorie, le remplacement de certains raisonnements simples par des algorithmes d'IA pourrait libérer les soignants de ce qui peut être automatisé, afin que leur intelligence « humaine » puisse être consacrée à des objectifs dits de plus haut niveau (270). L'intérêt n'étant pas d'automatiser le travail du clinicien mais de faciliter certaines tâches afin d'apporter une augmentation professionnelle. Cela permettrait par exemple de libérer du temps pour les relations humaines avec les patients, pour « prendre soin ».

De plus, les algorithmes ont l'avantage d'être plus objectifs et reproductibles que le raisonnement humain, qui peut être influencé par le contexte, les préjugés, la fatigue ou encore les conséquences engendrées. Par exemple dans le contexte de l'anoxie périnatale, le médecin peut avoir tendance à surestimer la gravité de l'encéphalopathie néonatale par peur de ne pas traiter par hypothermie un nouveau-né qui en aurait profité.

Au-delà de la simple reproduction de processus cognitifs, la modélisation algorithmique permettrait dans certains cas de mieux comprendre l'intelligence humaine, voire de la compléter en prenant en compte certains éléments que le cerveau humain ne capterait pas. Par exemple, la fameuse victoire du robot Deep Blue d'IBM sur le champion d'échec Garry Kasparov en 1997 montre qu'une machine peut dépasser les capacités intellectuelles humaines dans certaines tâches. L'IA pourrait permettre de concevoir de nouvelles façons de traiter l'information, selon un système conceptuel différent et complémentaire du raisonnement clinique. Ainsi, dans l'exemple de ce travail, il pourrait être supposé que pour certains tracés EEG, le grade de sévérité attribué automatiquement serait plus fiable que l'interprétation visuelle.

Risques et conséquences de l'IA

L'application de l'IA dans le domaine de la santé entraîne des problématiques techniques, juridiques, éthiques, organisationnelles et individuelles car elle transforme les pratiques professionnelles (269).

Deshumanisation

Certains chercheurs craignent une deshumanisation des tâches, particulièrement problématique dans le cadre du soin. La machine ne laisse pas de place à l'empathie, à l'adaptabilité, à la créativité. De plus, les machines auraient leur rythme propre, entraînant une accélération du « temps humain ». Notre outil par exemple, permettrait d'obtenir directement une information sur le retentissement cérébral post-anoxique du nouveau-né, contrairement à l'interprétation visuelle de l'EEG qui peut prendre du temps. Or, ce temps peut être nécessaire, du moins profitable, au raisonnement clinique.

Ainsi, Stéphane Velut, neurochirurgien, craint que « le soin, activité humaine particulièrement chronophage, ne soit incompatible avec des modèles décisionnels standardisés. » (271). Par ailleurs, Olivier Rey, mathématicien et philosophe, s'interroge sur le seuil de contre-productivité du développement technologique, qui pourrait engendrer plus de problèmes qu'il n'en résout, dégrader l'humanité de l'homme au lieu de la servir. » (272).

Peur mythique du remplacement des humains par les machines

La définition initiale de l'IA du Dartmouth College repose sur la conjecture selon laquelle les caractéristiques de l'intelligence pourraient être décrites si précisément que l'on peut développer des algorithmes pour la modéliser. La possibilité d'une mécanisation des processus cognitifs renvoie aux approches philosophiques mécanistes et cognitivistes, selon lesquelles les êtres vivants pourraient être comparés à des machines évoluées (l'animal-machine de René Descartes) et la pensée assimilée à un processus de traitement de l'information. Ainsi, que reste-t-il de l'humanité si l'on démontre que tout peut être algorithmisé ? (273)

De plus, dans une lettre ouverte publiée en 2015, plusieurs scientifiques dont Stéphane Hawkins ou Eric Horvitz s'inquiètent des facultés d'apprentissage automatique des

machines, qui pourraient les rendre imprévisibles voire autonomes, selon le « mythe de la Singularité » (274).

Cependant, si tant est que cela soit possible, nous sommes encore loin de pouvoir reproduire mécaniquement l'intelligence humaine ou d'obtenir des machines autonomes, et le vrai problème éthique actuel des outils basés sur l'IA disponibles en pratique clinique se situerait davantage dans l'interface entre l'homme et la machine.

Biais

« All the models are wrong, some are useful » (George E. P. Box)

La limite technique et éthique principale dans l'utilisation d'algorithmes d'IA pour l'aide à la prise de décision médicale reste le risque de biais.

Il est nécessaire pour les soignants de comprendre comment l'algorithme fonctionne, sur quelles données se fonde son analyse et de garder un esprit critique. La machine n'a pas les capacités de tester la pertinence clinique des données et celles-ci doivent toujours être vérifiées par le médecin. Celui-ci doit rester au centre du processus, savoir exactement dans quelles indications s'applique l'algorithme et interpréter ses résultats selon le contexte et la clinique. Pour reprendre l'exemple de ce travail, la présence d'artefacts ou de crises peuvent impacter l'analyse quantitative des EEG et donc les résultats de classification de notre algorithme. Dans ce cas, le médecin devra donc considérer les résultats avec prudence voire décider de ne pas utiliser l'outil si le signal est très perturbé.

Il s'agit d'une obligation déontologique, le médecin doit être capable d'expliquer à son patient le raisonnement qui a conduit à poser tel diagnostic, la stratégie thérapeutique qu'il préconise. En France, l'article L. 4001-3 du projet de loi relative à la Bioéthique sur l'intervention humaine en cas d'utilisation d'IA et information du patient (2019), dispose que le professionnel de santé qui utilise le dispositif médical d'IA « s'assure que la personne concernée en a été informée et qu'elle est, le cas échéant, avertie de l'interprétation qui en résulte ».

Sur le plan juridique, se pose la question de la responsabilité lors de l'utilisation d'un outil d'IA pour la prise de décisions médicales. La responsabilité en cas d'erreur revient-elle au chercheur ayant conçu l'algorithme, à l'ingénieur l'ayant implémenté dans un logiciel, à

l'industriel l'ayant commercialisé, au professionnel de santé l'ayant utilisé, à celui qui applique la décision en clinique, ou se dilue-t-elle entre ces différents intervenants ?

Ainsi, la problématique cruciale semble être la jonction entre les humains et la machine. Le risque n'est pas lié à la machine en soi mais à l'usage que l'on en fait. L'algorithme représente une aide clinique mais la décision qui en découle doit être explicable. Selon Gerald Bronner, les machines ne doivent pas être anthropomorphisées mais considérées comme des « prothèses pour l'humanité » (273). C'est pourquoi, dans ce travail, nous proposons un outil qui loin d'être une boîte noire (décision inexplicable) permettrait d'automatiser un certain raisonnement clinique (évaluation de la sévérité du tracé) et d'apporter différentes informations afin d'étayer l'évaluation du clinicien en l'absence d'une expertise neurophysiologique, sans la remplacer.

CONCLUSION

Au final, ce travail confirme l'intérêt majeur de l'EEG comme outil diagnostique et pronostique précoce de l'EAI néonatale.

A partir de variables qEEG reproduisant quantitativement la classification EEG française de l'EAI néonatale, nous proposons une méthode simple, robuste, qui semble efficace et reproductible pour prédire automatiquement la sévérité des EEG dès la phase de latence. Notre modèle a été optimisé pour correspondre au mieux aux problématiques des premières heures de vie et notamment pour représenter une aide à la décision de mise en HT. Il a également été testé sur des tracés plus tardifs, enregistrés après H6 en phase secondaire post-anoxique, et peut potentiellement être utilisé pour classer automatiquement la sévérité des EEG dans les premiers jours de vie afin de prédire le pronostic à long terme. Ce modèle est basé sur des variables EEG correspondant à des caractéristiques neurophysiologiques concrètes dont les valeurs peuvent être rapportées aux normes proposées dans ce travail. De plus, le modèle a été développé sur les données des tracés EEG bruts, ce qui le rend plus facilement utilisable en pratique clinique.

Il s'agit désormais de l'implémenter dans un logiciel d'aide au diagnostic précoce de l'EAI, directement utilisable au lit du patient pour améliorer la prise en charge des nouveau-nés après anoxie périnatale.

Dans la deuxième partie de ce travail, nous nous sommes intéressés à la réponse cérébrale fœtale directe à l'anoxie aiguë dans un modèle expérimental d'anoxie intra-utérine intermittente chez le fœtus de brebis. L'objectif était d'étudier l'évolution de nos marqueurs qEEG en phase aiguë d'anoxie chez le fœtus *in utero* afin de mieux appréhender les mécanismes physiopathologiques en temps réel et pouvoir éventuellement identifier des marqueurs prénataux prédictifs des lésions anoxo-ischémiques cérébrales en per-anoxie. A terme, de tels marqueurs pourraient permettre de repérer en *per partum* les fœtus à risque d'anoxo-ischémie cérébrale afin de développer des stratégies de prévention de l'EAI plus efficaces.

ANNEXE I

A.1. Méthodes de classification automatique testées

L'apprentissage automatique (« machine learning ») est un sous-ensemble de l'intelligence artificielle consistant à automatiser la création de systèmes analytiques basés sur des méthodes statistiques afin de réaliser des classification ou prédictions.

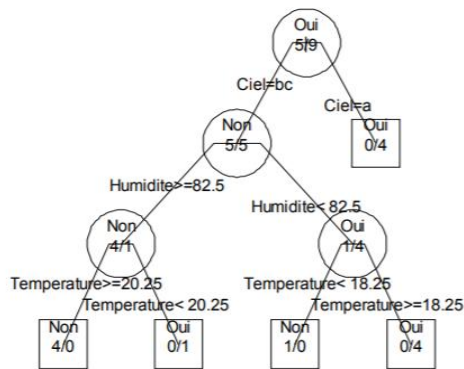
Les algorithmes testés dans ce travail sont des algorithmes d'apprentissage automatique supervisé, c'est-à-dire qu'ils apprennent automatiquement à classer au mieux des données selon des classes prédéfinies (ici les 3 groupes de sévérité de l'EAI ou l'évolution favorable ou défavorable des enfants à 1 an). Lors de la phase de développement, l'algorithme est entraîné sur une base de données d'apprentissage afin d'obtenir le modèle de classification le plus efficace pour classer les données selon les règles définies. Il est ensuite mis en production sur de nouvelles données indépendantes lors de la phase de test ou de validation. Les différents algorithmes testés sont présentés ci-dessous.

Arbres de classification (Classification Tree)

L'apprentissage des arbres de classification se fait par partitionnement récursif selon des règles sur les variables explicatives afin de prédire au mieux l'appartenance de ces variables à une des classes prédéfinies. Une suite de nœuds est définie, chaque nœud permettant de faire une partition des données en 2 groupes sur la base d'une des variables explicatives. L'algorithme va donc définir le critère permettant de sélectionner le meilleur nœud possible à une étape donnée, définir quand s'arrête le découpage en définissant un nœud terminal et attribuer au nœud terminal la classe la plus probable. Lorsque le nombre de nœuds devient trop important, l'arbre sera élagué en sélectionnant un sous arbre optimal à partir de l'arbre maximal.

Dans ce travail, les algorithmes Matlab que nous avons utilisés étaient basés sur des critères de Gini pour la construction des nœuds.

Référence : Classification supervisée – www.math.univ-angers.fr

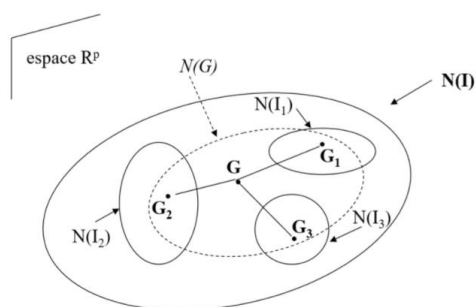


Exemple d'arbre de classification

Analyses factorielles discriminantes (Discriminant Analysis)

Les algorithmes d'analyse factorielle discriminante vont déterminer les différents axes de combinaisons de variables explicatives permettant d'obtenir la meilleure distinction entre les différentes classes prédéfinies. Les données sont réparties en nuages de points définis par des barycentres. Avec l'AFD linéaire, le premier axe est défini par la meilleure combinaison linéaire (droite) de variables explicatives (C) tel que la variance intra-groupe des points projetés sur C soit minimale (les points projetés sont les plus rapprochés entre eux s'ils appartiennent au même groupe) et la variance inter-groupe soit maximale (les points projetés sont les plus éloignés s'ils sont dans deux groupes différents). Les axes suivants sont les axes perpendiculaires qui maximisent aussi le ratio de la variance inter sur la variance intra.

Dans ce travail, nous avons également testé l'AFD quadratique (combinaison des variables selon une loi quadratique).



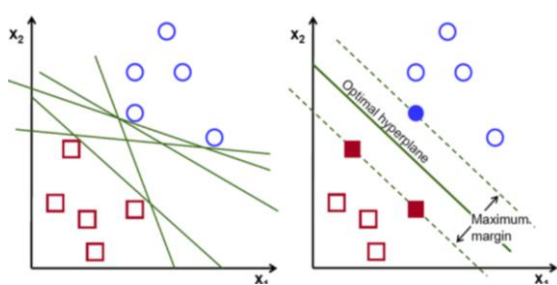
AFD : exemple de données divisées en 3 nuages de points avec chacun un barycentre G1, G2, G3.

Référence : <https://datamedium.wordpress.com/2020/07/25/>

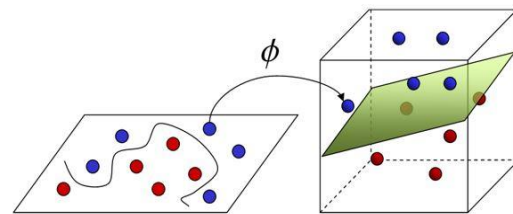
Machines à vecteur de support (Support Vector Machine)

Les machines à vecteur de support (SVM) permettent de classer les données en définissant des lignes (hyperplans) qui les divisent en plusieurs classes préalablement définies. Les points de données les plus proches de l'hyperplan sont appelés vecteurs de support et déterminent l'orientation et la position de l'hyperplan, afin de maximiser la marge du classificateur. Lorsque les données ne sont pas distribuées linéairement, des noyaux différents peuvent être utilisés pour séparer les données dans un espace de dimension supérieure.

Dans ce travail, nous avons ainsi testé des SVM basés sur des noyaux linéaire, quadratique, cubique et gaussien.



SVM : modèle linéaire

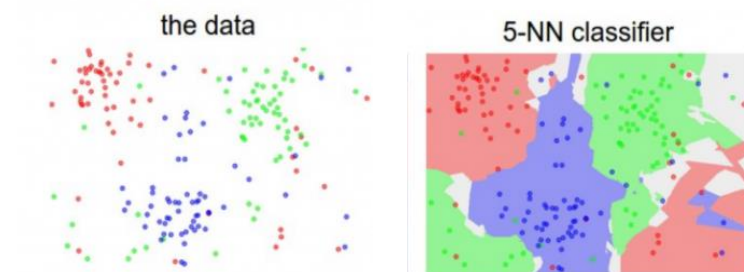


SVM : utilisation d'un noyau (méthode Kernel)

Référence : « Support Vector Machine — Introduction to Machine Learning Algorithms »,
Rohith Gandhi (275)

Méthode des k plus proches voisins (K-nearest neighbors)

Pour effectuer une prédiction, l'algorithme K-NN va chercher les K instances du jeu de données les plus proches de l'observation à prédire. Il va calculer toutes les distances de cette observation avec les autres observations du jeu de données et retenir les K observations du jeu de données les plus proches en utilisant une fonction de calcul de distance. Le mode des valeurs y (variables de sortie) de ces K observations est calculé pour prédire la valeur de la classe d'appartenance de cette observation. Différents calculs de distance peuvent être utilisés. Dans ce travail les distances euclidienne, cosinus et cubique étaient testées.



Référence : <https://mrmint.fr/introduction-k-nearest-neighbors>

A.2. Comparaison des différents systèmes de classification automatique de la sévérité de l'EAI proposés dans la littérature

Les résultats présentés sont ceux du meilleur modèle de chaque étude.

Prédiction de la sévérité de l'EAI à court terme selon les grades EEG			
Etude	Méthode	Phase de développement	Phase de validation
Korotchkova et al. (2011)	<u>Modèle</u> : régression linéaire multiple <u>Variables</u> : qEEG (discontinuité, amplitude, PR delta, skewness, kurtosis) <u>Référence</u> : 3 groupes (Murray) Pas de validation	N=48 tracés (54 NN) ¹ <u>Perf totale</u> : 89% G1: 100% / G2: 57% G3: 83%	/
Stevenson et al. (2013)	<u>Modèle</u> : analyse discriminante linéaire multi-classes <u>Variables</u> : qEEG (IF, AM, PR delta, skewness, kurtosis, IBI) <u>Référence</u> : 4 groupes (Murray) <u>Validation</u> croisée : LOSO	N=54 tracés (Korotchkova) ¹ <u>Perf totale</u> : 83% G1: 91% / G2: 71% G3: 75% / G4: 100%	/
Matic et al. (2014)	<u>Modèle</u> : LS-SVM (avec noyau gaussien) <u>Variables</u> : qEEG (amplitude pic à pic, globale et spatiale, durée intervalles même amplitude) <u>Référence</u> : 3 groupes (Murray)	N=272 tracés (34 NN) ² <u>Perf totale</u> : 89% G1: 91% / G2: 76% G3: 94%	/
Ahmed et al. (2014)	<u>Modèle</u> : SVM (linéaire avec noyau « super vector ») <u>Variables</u> : qEEG (55 variables : fréquence, temps, information théorique) <u>Référence</u> : 4 groupes (Murray) <u>Validation</u> croisée : LOSO	N=54 tracés (Korotchkova) ¹ <u>Perf totale</u> : 87% G1: 95% / G2: 71% G3: 83% / G4: 100%	/
Ahmed et al. (2016)	<u>Modèle</u> : SVM (linéaire) <u>Variables</u> : qEEG (55 variables : fréquence, temps, information théorique) <u>Référence</u> : 4 groupes (Murray) <u>Validation</u> croisée : LOSO	N=54 tracés (Korotchkova) ¹ <u>Perf totale</u> : 87% G1: 95% / G2: 71% G3: 83% / G4: 100%	N=338 tracés (Raurale2021) ³ <u>Perf totale</u> : 57% G1: 51% / G2: 75% G3: 59.5% / G4: 80%
Raurale et al. (2019)	<u>Modèle</u> : SVM (linéaire) <u>Variables</u> : qEEG (% et durée IBI) <u>Référence</u> : 4 groupes (Murray) <u>Validation</u> croisée : LOSO	N=54 tracés (Korotchkova) ¹ <u>Perf totale</u> : 78% G1: 91% / G2: 57% G3: 75% / G4: 83%	/
Guo et al. (2020)	<u>Modèle</u> : SVM <u>Variables</u> : qEEG (domaines fréquentiels et temporels) <u>Référence</u> : 3 groupes <u>Validation</u> croisée : 10 échantillons	N=420 tracés (64 NN) ⁴ <u>Perf totale</u> : 79,5% G1: 70% / G2: 85% G3: 81%	
Raurale et al. (2020)	<u>Modèle</u> : CNN (1 dimension)	N=54 tracés (Korotchkova) ¹ <u>Perf totale</u> : 81,5%	/

	<u>Variables</u> : qEEG (extraction et sélection automatique à partir du signal brut) <u>Référence</u> : 4 groupes (Murray) <u>Validation</u> croisée : LOSO	G1: 100% / G2: 50% G3: 75% / G4: 100%	
Raurale et al. (2021)	<u>Modèle</u> : CNN (2 dimensions) <u>Variables</u> : qEEG (extraction et sélection automatique à partir du signal brut) <u>Référence</u> : 4 groupes (Murray) <u>Validation</u> croisée : LOSO (développement) puis validation sur cohorte indépendante	N=54 tracés (Korotchikova) ¹ <u>Perf totale</u> : 88.9% G1: 100% / G2: 71% G3: 83% / G4: 100%	N=338 (91 NN) ³ Perf totale : 69.5% G1: 74% / G2: 56% G3: 66% / G4: 84%
Moghadam et al. (2021)	<u>Modèle</u> : SVM <u>Variables</u> : qEEG (AM, synchronie, entropie, puissance 9-11 Hz) <u>Référence</u> : 5-7 groupes (Tsuchida) <u>Validation</u> croisée : LOSO	13200 extraits (27 NN) ⁵ <u>Perf totale</u> : 97% G0,1,2 : 99% G3 : 73% / G4 : 20% G5 : 45% / G6 : 94%	/

Prédiction de la sévérité de l'EAI à long terme selon l'évolution clinique

Etude	Méthode	Phase de développement	Phase de validation
Doyle et al. (2010)	<u>Modèle</u> : SVM <u>Variables</u> : 4 qEEG (énergie, amplitude, puissance totale et relative delta) 8 VFC, 1 clinique (Apgar) <u>Référence</u> : devenir 2 ans <u>Validation</u> croisée : LOSO	38 tracés (38 NN) ⁶ <u>Perf totale</u> : 74% Favorable : 86% Défavorable : 59%	/
Temko et al. (2015)	<u>Modèle</u> : SVM (noyau gaussien) <u>Variables</u> : 57 qEEG (fréquence, énergie, structurelles), 60 VFC, 3 cliniques/bio (Apgar, pH, BE) <u>Référence</u> : devenir 2 ans <u>Validation</u> croisée : LOSO	38 tracés (38 NN - Doyle 2010) ⁶ <u>Perf totale</u> : 84%	/

NN : nouveau-nés ; PR : puissance relative ; IF : fréquence instantanée ; AM : modulation d'amplitude ; IBI : intervalles inter-bouffées ; LOSO : leave-one-subject-out (type de validation croisée) ; CNN : convolutional neuronal network (méthode de deep learning) ; TFD : quadratic time-frequency distribution.

¹ Cohorte de Korotchikova et al. 2011 : 54 extraits EEG de 1h sélectionnés sans crises/artefacts avec grade constant, enregistrés entre H6 et H72 chez 54 nouveau-nés à terme avec EAI non traités par HT (NicoletOne™, 9 électrodes, échantillonnage 256 Hz) – NB : 48 extraits classés car retrait des 6 tracés inactifs dans l'étude de Korotchikova ; 54 extraits analysés dans les autres.

² Cohorte de Matic et al. 2014 : 272 extraits de 1h avec crises/artefacts enregistrés à partir de H2-H48 chez 34 nouveau-nés à terme avec EAI (12 électrodes, filtre 0.7-20 Hz, échantillonnage. 256 Hz)

³ Cohorte de validation de Raurale 2021 : 338 extraits de 1h avec crises et artefacts enregistrés à H6, H24, H36, H38 chez 91 nouveau-nés à terme avec EAI traités ou non par HT, multicentrique : 6 services, 4 pays (NicoletOne, Xltek EEG system ou Neurofax EEG-1200 ; 9 électrodes)

⁴ Cohorte de Guo et al. 2020 : 420 extraits de 5 minutes enregistrés avant H24 chez 64 nouveau-nés à terme avec EAI (filtre 0.1-12 Hz, éch. 128 Hz).

⁵ Cohorte de Moghadam et al. 2021 : 13200 extraits de 5 minutes à partir de tracés de 1h enregistrés entre J0 et J5 chez 27 nouveau-nés avec EAI (11 ou 20 électrodes, Stellate Harmonie ou Xltek Brain Monitor ; éch. 200, 250, ou 256 Hz)

⁶ Cohorte de Doyle et al. 2010 : 38 tracés de 1h à H24 chez 38 nouveau-nés avec EAI non traités par HT (Viasys NicOne EEG system, 9 électrodes, éch. 256 Hz)

PARTIE II - Etude de la réponse fœtale à l'anoxie aiguë : partie expérimentale

INTRODUCTION

Les modèles animaux sont indispensables pour approcher la réponse cérébrale immédiate à l'anoxie aiguë et les mécanismes physiopathologiques sous-jacents ainsi que pour développer de nouveaux moyens de détection précoce et de prévention de l'EAI néonatale.

La brebis est un modèle particulièrement pertinent en raison d'une physiologie fœtale très proche de l'humain, notamment au niveau hémodynamique et cérébral (276). La maturation cérébrale du fœtus de brebis est plus rapide que chez l'humain mais suit le même modèle ontogénique d'évolution avec l'âge gestationnel (276–279). Les fœtus de brebis naissent à un terme de 140 à 150 jours de gestation selon les races. Vers 100 jours de gestation (soit 0.7 du terme), le cerveau du fœtus de brebis serait comparable à celui d'un fœtus humain à un terme de 28-32 SA et vers 125 jours (0.9 du terme), il serait comparable à un terme de 36-37 SA (280,281).

De nombreux modèles expérimentaux d'anoxie périnatale chez le fœtus de brebis sont proposés dans la littérature avec des protocoles différents. L'anoxie peut être provoquée par une réduction de l'apport en oxygène chez la brebis, par des occlusions carotidiennes bilatérales chez le fœtus ou encore par des occlusions du cordon ombilical.

Les occlusions cordoniales ont l'intérêt de mimer les compressions de cordon ombilical, une des causes les plus fréquentes d'anoxie périnatale chez l'humain (282). La majorité des études antérieures ont analysé les effets d'une occlusion cordonale totale et prolongée chez le fœtus. En pratique clinique, cette situation correspond à une procidence sévère du cordon, elle peut être facilement détectée et représente rarement un dilemme thérapeutique.

Notre laboratoire utilise depuis plusieurs années un modèle d'anoxo-ischémie intermittente chez le fœtus de brebis proche du terme (0.9), provoquée par des occlusions cordoniales courtes et répétées, de sévérité croissante sur plusieurs heures, selon la méthode décrite par l'équipe de Frasch et al. (282). Ce protocole permet de reproduire l'anoxie intermittente pouvant survenir lors des compressions de cordon provoquées par les contractions utérines

maternelles de plus en plus rapprochées, selon les différentes phases du travail chez l'humain. Ce modèle a permis à notre équipe d'étudier l'évolution de différents marqueurs hémodynamiques, biologiques et de variabilité de la fréquence cardiaque lors de l'anoxie aiguë (21,283–286). Ces paramètres reflètent la sévérité de l'anoxie fœtale et les mécanismes de réponse adaptative cardio-vasculaire. Cependant, comme nous l'avons évoqué, les techniques utilisées en *per partum* pour détecter l'anoxie fœtale (cardiotocogramme, gazométrie au scalp) sont peu prédictives de la survenue d'une encéphalopathie anoxo-ischémique à « long terme » (87,89,287).

Des études antérieures ont utilisé l'EEG anténatal chez le fœtus de brebis afin d'étudier la réponse cérébrale à l'anoxie aiguë. Ces études enregistrent l'activité cérébrale fœtale sous la forme d'électro-corticographie (pose directe des électrodes sur la dure-mère) et utilisent également des marqueurs quantitatifs comme l'amplitude et la SEF. Cependant, les protocoles expérimentaux de ces études sont très variés et la réponse cérébrale fœtale à une anoxie intermittente a été peu et partiellement étudiée.

Nous avons donc entrepris, dans le cadre de ma thèse, d'ajouter l'enregistrement de l'EEG fœtal à notre modèle d'anoxie du fœtus de brebis.

L'objectif principal de cette partie est d'étudier les mécanismes physiopathologiques impliqués dans la réponse cérébrale fœtale directe à l'anoxie périnatale intermittente à l'aide notamment des marqueurs qEEG identifiés dans la première partie clinique.

L'objectif secondaire est d'analyser la corrélation entre ces marqueurs qEEG et la survenue de lésions anoxo-ischémiques cérébrales post-anoxiques, afin d'étudier leur capacité à détecter les fœtus à risque d'EAI néonatale, dès la phase aiguë de l'anoxie périnatale.

MATERIEL ET METHODES

Design global de l'étude

Nous avons suivi plusieurs étapes :

- 1 – Mise en place de la technique d'acquisition de l'EEG fœtal en intra-utérin
- 2 – Recueil de l'activité EEG « normale » du fœtus de brebis, en analyse visuelle et quantifiée
- 3 – Recueil de l'activité EEG en situation d'anoxie aiguë intermittente, en analyse visuelle et quantifiée, comparaison avec les biomarqueurs gazométriques et hémodynamiques
- 4 – Analyse anatomo-pathologique des cerveaux pour quantification tissulaire de l'anoxie et comparaison avec les marqueurs qEEG.

Pour des raisons d'organisation des expérimentations, le recueil en situation d'anoxie a chronologiquement précédé le recueil chez les fœtus témoins.

I. Modèle expérimental et recueil des données

Les expérimentations étaient effectuées au Département Hospitalier et Universitaire de Recherche Expérimentale (DHURE) de la Faculté de Médecine de Lille, entre janvier 2019 et mai 2021, sur des brebis gestantes (race Ile de France) provenant de l'Institut Régional de la Recherche Agronomique (domaine de Tours, Val de Loire, France). Les brebis de l'année 2019 étaient utilisées pour la *cohorte anoxie* et les brebis de l'année 2021 pour la *cohorte témoin*.

I)1. Ethique et démarches légales

Le protocole anesthésique, chirurgical et expérimental était conforme aux recommandations du ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation. L'étude était approuvée par le Comité d'Ethique d'Expérimentation Animale du Nord-Pas-de-Calais (référence n°2016121312148878).

I)2. Protocole chirurgical

Les brebis gestantes des deux cohortes étaient accueillies au moins 7 jours avant l'intervention, logées dans des box individuels et nourries par 400 g de granulés 2 fois par jour

avec un accès illimité à l'eau et au foin puis elles étaient mises à jeun 24 heures avant la chirurgie. Elles étaient opérées à proximité du terme (vers 125 jours de gestation pour un terme de 145 jours soit à 0.9 du terme environ) par des gynécologues et chirurgiens pédiatriques selon le protocole suivi habituellement dans notre laboratoire (283–286). En cas de grossesse multiple, seul un fœtus était instrumenté et inclus dans le protocole expérimental.

La chirurgie était réalisée sous anesthésie générale. Un cathéter maternel était posé au niveau de la veine jugulaire avant l'induction afin d'assurer un remplissage maternel pré-anesthésique par 500 ml de Ringer Lactate®. Les brebis étaient intubées (sonde intubation endo-trachéale n°9) en decubitus dorsal après prémédication par Xylazine 0,3 ml/kg (Sedaxylan® 20mg/ml, Dechra, Pays-Bas) et induction par Isoflurane 5% inhalé (Isoflurane, Aerrane®, Baxter, Maurepas, France). La sédation était entretenue par Isoflurane 2% inhalé durant l'opération sous ventilation mécanique et l'analgésie maternelle per-opératoire était assurée par une injection intra-musculaire de Buprénorphine 0,6ml/10kg (Bupaq®, Virbac, France) en début d'intervention. Une sonde naso-gastrique était mise en place pour diminuer le risque d'inhalation. Une antibioprophylaxie intramusculaire de 1mL/10kg d'Amoxicilline (Clamoxyl LA® 150mg/ml, Zoetis, France) était administrée à la mère en per-opératoire.

Après laparotomie médiane maternelle et hystérotomie dans des conditions d'asepsie chirurgicale, le membre antérieur droit du fœtus était extrait. Une incision cutanée axillaire était réalisée après anesthésie locale par injection sous-cutanée de 1mL de chlorhydrate de lidocaïne 10mg/mL (Xylocaïne® Astrazeneca, Reuil-malmaison, France) et analgésie fœtale par injection intramusculaire de 0,3 mL de Buprénorphine (Bupaq®, Virbac, France). Après dissection des vaisseaux axillaires, deux cathéters de diamètre 4Fr (Arrow, USA) étaient insérés dans l'artère et la veine axillaires droites du fœtus jusque l'aorte et la veine cave supérieure respectivement, pour l'enregistrement des paramètres hémodynamiques, le prélèvement de sang fœtal et les injections intra-veineuses. La même procédure était reproduite à gauche. Quatre électrodes précordiales (MYWIRE 10, MAQUET, Allemagne) étaient placées dans les muscles intercostaux axillaires pour l'enregistrement du signal ECG. Un occluseur (OC VO-16HD - DOCXS Biomedical Products - Ukiah, Californie) était placé autour

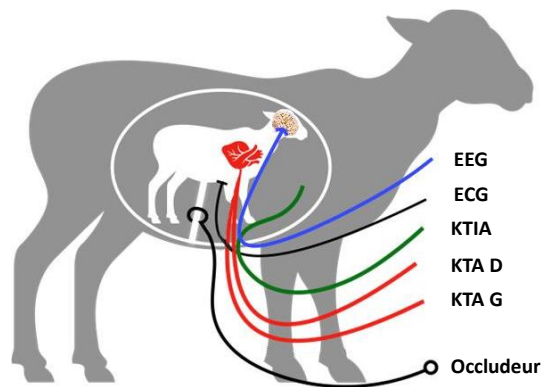
du cordon ombilical du fœtus afin de pouvoir comprimer le cordon par injection de sérum physiologique. L'étanchéité et le volume maximal injectable pour une occlusion totale étaient testés en préopératoire.

La mise en place de l'EEG intra-utérin est détaillée dans la partie résultats.

La circulation placentaire était gardée intacte tout au long de l'intervention. Le fœtus était ensuite replacé dans l'utérus et un cathéter supplémentaire de diamètre 5Fr (Arrow, USA) était placé dans la cavité amniotique pour mesurer la pression de référence. L'utérus ainsi que la paroi abdominale étaient refermés après instillation de 500 mg d'acide amoxicilline-clavulanique (Amoxicillin-clavulanic acid SANDOZ[®], Sandoz, Levallois-Perret, France) dans le liquide amniotique. L'occludeur, les fils des électrodes EEG et ECG ainsi que les cathéters fœtaux et intra-amniotiques reliés à des prolongateurs étaient extériorisés au niveau du flanc latéral droit de la brebis à travers une tunnellisation sous-cutanée (figure II.1).

Après l'opération, les brebis pouvaient boire, manger et se levaient généralement dans les 2 heures. La perméabilité des cathéters fœtaux était maintenue par une injection quotidienne de sérum salé isotonique hépariné 10UI/mL (Héparine CHOAY[®]5000UI, Sanofi-aventis France, Paris). Une injection intramusculaire maternelle de 0,3mL/10kg de Buprénorphine (Bupaq[®], Virbac, France) était réalisée 24 et 48 heures après l'opération afin d'assurer l'analgésie post-opératoire. Une antibioprophylaxie était réalisée par une injection quotidienne de 1mL/kg d'Amoxicilline en intramusculaire (Clamoxyl LA[®] 150mg/ml, Zoetis, France) durant les trois jours de repos post-opératoire.

Figure II.1 – Schéma de l'instrumentalisation du fœtus de brebis



Électrodes de l'électroencéphalogramme (EEG) ; de l'électrocardiogramme (ECG), cathéter artériel axillaire droit (KTA D) et gauche (KTA G), cathéter intra-amniotique (KTIA) et occluseur de cordon.

1)3. Protocole expérimental

Le protocole expérimental d'anoxie aiguë intermittente débutait à J4 après la chirurgie.

Après une période de stabilité d'une heure, les fœtus de la cohorte anoxie étaient soumis à un protocole d'anoxo-ischémie provoquée par des occlusions du cordon ombilical répétées et de sévérité croissante, tel que décrit par Frasch et al. (282). Les occlusions cordoniales totales étaient réalisées par l'injection d'une solution de sérum salé isotonique dans l'occluseur. Trois phases d'occlusions répétées d'une heure chacune étaient réalisées successivement avec des occlusions de plus en plus rapprochées (figure II.2) : les occlusions d'une durée de 1 minute étaient répétées toutes les 5 minutes durant la phase A (occlusions légères), toutes les 3 minutes durant la phase B (occlusions modérées) et toutes les 2 minutes durant la phase C (occlusions sévères). Toutes les 20 minutes, une pause (appelée *plateau*) de 5 minutes sans occlusion était respectée. Le protocole était interrompu si le pH artériel diminuait en-dessous de 6,90. Ainsi le protocole mimait un épisode d'anoxo-ischémie intermittente provoquée par des compressions de cordon lors des contractions utérines au cours de l'accouchement chez l'humain : les occlusions légères mimaient la phase de latence au début du travail, les occlusions modérées la phase active et les occlusions sévères la période des efforts expulsifs. Après les phases d'occlusions, les fœtus étaient surveillés en continu durant une phase de récupération de 6 heures puis durant 1 heure à H24 et H48 (J5 et J6).

Les foetus témoins étaient étudiés à des périodes équivalentes mais n'étaient pas soumis au protocole d'anoxie.

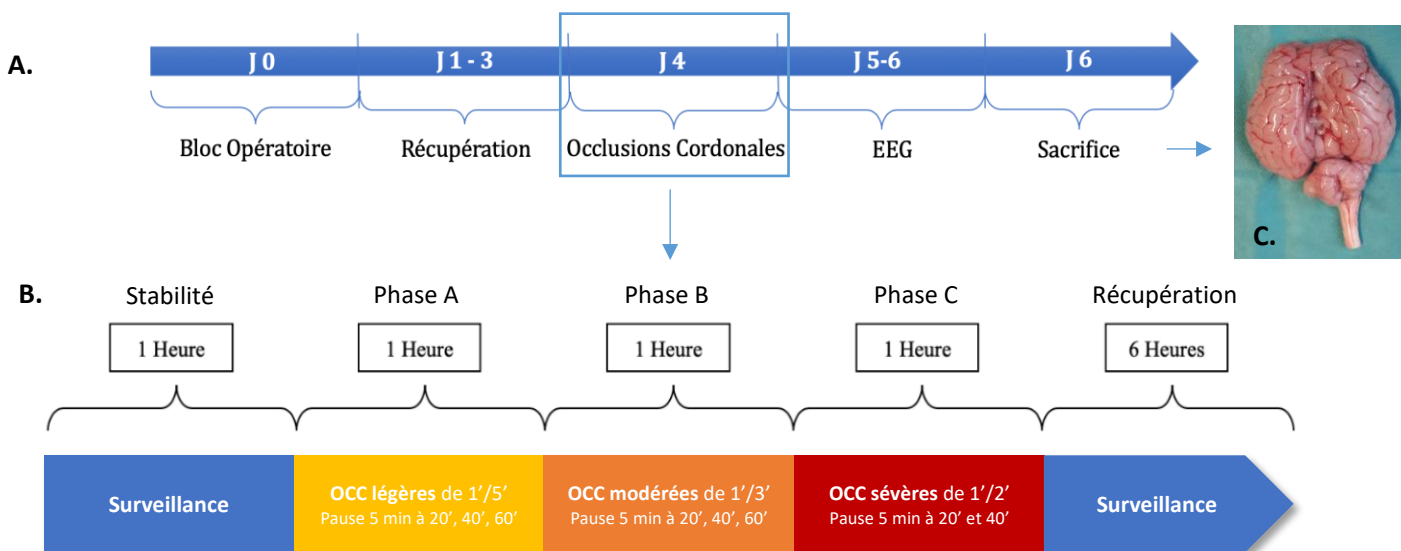
A J6, tous les animaux étaient sacrifiés par une injection intraveineuse maternelle de 6ml/50kg de T61® (Embutramide 20g, Mebezonium iodide 5g, Tetracaine hydrochloride 0.5g, Diméthylformamide 60ml). Le cerveau fœtal avec le tronc cérébral et la moelle épinière étaient prélevés et placés dans une solution de formol à 4% tamponné pour les analyses anatomopathologiques (figure II.2C).

Figure II.2 - Protocole expérimental d'anoxie aigue intermittente.

A - Déroulement du protocole expérimental de J0 à J6 pour la cohorte anoxie.

B - Protocole d'anoxie à J4 avec les différentes phases de stabilité, d'occlusions et de récupération.

C - Photo du prélèvement cérébral post-mortem d'un foetus de brebis de la cohorte anoxie.



OCC : occlusions du cordon ombilical ; 1'/5' : 1 minute toutes les 5 minutes ; 1'/3' : 1 minute toutes les 3 minutes ; 1'/2' : 1 minute toutes les 2 minutes.

1)4. Recueil des données

Les données EEG et hémodynamiques étaient enregistrées en continu durant la phase de stabilité, les phases d'occlusions, la phase de récupération (J4) et pendant une heure à J5 et J6.

Le signal EEG fœtal était enregistré par le logiciel EEG System plus Evolution de Micromed® (Micromed SAS, Macon, France). Les 6 électrodes étaient reliées à une boîte têtère et le signal des 4 dérivations (BRE1, BRE2, BRE3, BRE4) était enregistré en monopolaire par rapport à l'électrode de référence. Le signal était filtré entre 0,5 et 70 Hz et numérisé à une fréquence d'échantillonnage de 256 Hz.

Le signal ECG était recueilli par l'intermédiaire des 4 électrodes précordiales et la pression artérielle fœtale était enregistrée par les cathéters artériels fœtaux connectés à des capteurs de pression (Pressure Monitoring Kit, Baxter, France). Ces données hémodynamiques étaient visualisées sur un moniteur multiparamétrique d'anesthésie-réanimation (Merlin monitor, Helwett Packard, Palo Alto, CA, USA) et enregistrées sur support informatique grâce au logiciel Physiotrace®.

Les données gazométriques étaient mesurées à partir des échantillons de sang artériel prélevés sur un des cathéters artériels, par micro-méthode sur appareil I-STAT® (Abbott Laboratoires, Abbott Park, IL USA). Les mesures étaient réalisées en phase de stabilité, toutes les heures lors du dernier plateau de chaque phase d'occlusion, toutes les heures en phase de récupération, à J5 et à J6.

Chez les témoins, les données étaient relevées au même moment : à J4 lors d'une phase de stabilité S' de 1 heure puis toutes les heures durant les 3 heures équivalent à la phase d'occlusions (phases A', B', C') et les 6 heures équivalent à la phase de récupération ainsi qu'à J5 et J6 (1 heure).

Ces données étaient relevées par les étudiantes de Master 2 du laboratoire (Yasmine Hamoud en 2019, Delphine Le Hesran en 2021).

II. Analyses EEG

II)1. Analyse visuelle

Les enregistrements EEG entiers des deux cohortes étaient analysés visuellement à l'aide du logiciel System Plus Evolution (Micromed SAS, Macon, France). Les analyses étaient réalisées en montage bipolaire sur des pages de 30 secondes (filtre 0,5-70 Hz, gain 70 μ V), avec l'aide du Pr S. Nguyen.

II)2. Analyse quantitative

Les tracés EEG bruts entiers étaient analysés quantitativement à l'aide du programme "EEG Analyser" (Micromed®), selon le même protocole que celui de la première partie.

Les six marqueurs quantitatifs EEG (IA min, IA max, BSR, PT, PR, SEF) étaient calculés toutes les 2 secondes (fenêtre de glissement de 50 %) avec une moyenne toutes les 20 secondes sur les dérivations bipolaires BRE1-BRE2 et BRE3-BRE4 puis la moyenne des deux dérivations était calculée. Seul les paramètres du BSR étaient modifiés avec un seuil de 10 μ V (contre 5 μ V dans la partie clinique).

Nos résultats préliminaires ont montré que les marqueurs de puissance spectrale (PT et PR) et la valeur maximale de l'index d'amplitude (IA max) étaient particulièrement sensibles aux artefacts de mouvement des brebis. Nous avons testé plusieurs filtrages afin de retirer les données aberrantes mais sans succès. Les résultats obtenus ne permettant pas de meilleurs résultats, ces 3 marqueurs n'étaient pas pris en compte dans les analyses finales.

Les paramètres quantifiés étudiés étaient donc le BSR, l'IA min et la SEF (cf partie I, figure I.3).

La médiane de ces marqueurs était calculée :

(1) pour la cohorte témoins

- sur 30 minutes de stabilité S'
- sur 30 minutes toutes les heures lors des phases A', B', C'
- sur 30 minutes à H2, H6 et H24 de la fin de la phase C'

(2) pour la cohorte anoxie

- en phase de stabilité S (sur 30 minutes)
- en phase d'anoxie : en per-occlusion (1 minute) lors de la dernière occlusion (occ) de chaque phase A, B et C ainsi que lors des phases d'occlusion A, B et C entières (1 heure)
- en phase de récupération : à H2, H6 et H24 (sur 30 minutes)

Lors du sacrifice, la durée d'obtention d'un BSR > 95% était calculée sur chaque tracé.

Ces analyses étaient réalisées avec le logiciel XlStat pour Microsoft Excel (AddInSoft, Paris, France).

III. Analyse de la réponse foetale à l'anoxo-ischémie

Afin d'étudier la réponse cérébrale des fœtus à l'anoxo-ischémie, nous avons comparé les données qEEG de la cohorte anoxie avec celles de la cohorte témoins, analysé l'évolution des données avec la sévérité de l'anoxie et vérifié leur corrélation avec les données gazométriques/ hémodynamiques.

III)1. Description des données expérimentales

Comme pour les marqueurs qEEG, la médiane des marqueurs hémodynamiques était calculée sur 30 minutes en phase de stabilité, en per-occlusion lors de la dernière occlusion (1 minute) de chaque phase A, B, C et entre les occlusions lors du dernier plateau (5 minutes) de chaque phase.

Les données gazométriques, hémodynamiques et qEEG de chaque cohorte étaient décrites par la médiane (1^{er}-3^{ème} quartile) lors de chaque phase étudiée.

III)2. Comparaison des cohortes anoxie et témoins

Les données de la cohorte anoxie étaient directement comparées aux données des témoins par un test de Mann-Whitney (seuil de significativité $p \leq 0,05$) pour chaque phase étudiée (stabilité ; phases d'occlusions A, B et C ; récupération H2, H6 et H24).

III)3. Analyse de l'évolution des données avec l'anoxie

Pour chaque cohorte, la différence des données entre les différentes phases étudiées était analysée par un test de Friedman pour les mesures répétées (seuil de significativité $p \leq 0,05$) : entre la phase de stabilité et les 3 phases d'occlusions A, B et C ainsi qu'entre la phase C d'occlusions sévères et la récupération à H2, H6 et H24.

Lorsque la différence était significative, une analyse post-hoc comparant les différentes phases 2 à 2 était réalisée par un test de Wilcoxon (seuil de significativité $p \leq 0,05$).

III)4. Rapport entre les données qEEG et les données gazométriques/hémodynamiques

Le rapport entre les marqueurs qEEG et les différents marqueurs gazométriques et hémodynamiques était analysé par un test de corrélation de Spearman (seuil de significativité $p \leq 0,05$).

Ces analyses statistiques étaient réalisées avec le logiciel XIStat pour Microsoft Excel (AddInSoft, Paris, France) et avec l'aide de Julien De Jonckheere (CIC-IT) avec le logiciel SPSS version 20.0 (SPSS, IBM).

IV. Analyse du rapport entre données qEEG et lésions anoxo-ischémiques

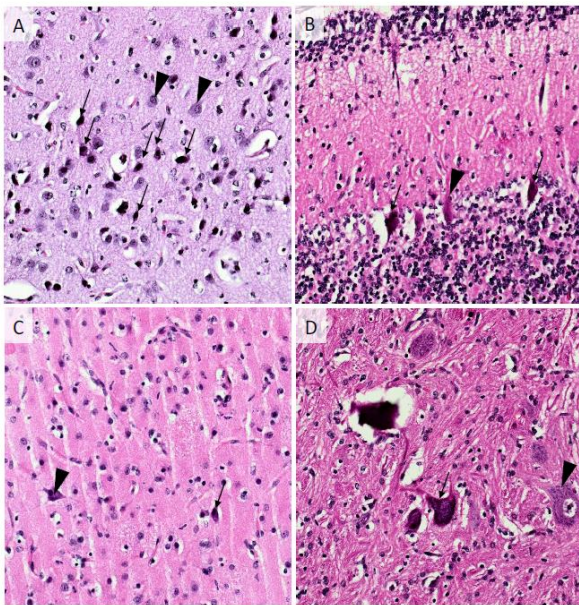
IV)1. Analyse anatomopathologique

Après 1 mois de fixation dans le formol, les cerveaux étaient coupés en sections coronales de 3-4 mm d'épaisseur. Après un examen macroscopique, les prélèvements étaient enrobés dans la paraffine pour la réalisation de blocs coupés à 5 microns. Les lames obtenues étaient colorées à l'Hématoxyline-Eosine-Safran (Automate tissu tek Prisma Sakura) et examinées par deux anatomopathologistes (Dr Morgane Stichelbout et Dr Romain Perbet, Centre de Biologie et Pathologie, CHRU Lille). Le nombre maximum de neurones ischémiques sur un champ (0,30 mm²) était dénombré pour chaque zone d'intérêt : cortex frontal, pariétal, temporal, occipital, entorhinal, noyaux gris centraux, hippocampe, cortex cérébelleux, noyau dentelé et tronc cérébral. Les neurones ischémiques étaient définis par une rétraction cellulaire, un cytoplasme éosinophile ou vacuolé et des noyaux hyperchromatiques localisés en périphérie (figure II.3). En cas de non concordance, les lames étaient ré-examinées par les deux

anatomopathologistes afin de trouver un accord. Les nombres de neurones ischémiques dans chaque région étaient additionnés pour obtenir un score total de lésions anoxo-ischémiques aiguës.

Figure II.3 – Analyse anatomopathologique des coupes cérébrales

Coloration hématoxyline éosine safran au niveau de l'hippocampe (A), du cortex cérébelleux (B), du cortex frontal (C) et du tronc cérébral (D) montrant des neurones ischémisés rétrécis, avec un cytoplasme éosinophile et des noyaux hyperchromatiques situés en périphérie (flèche). Les pointes de flèche montrent des neurones normaux.



IV)2. Analyses statistiques

Le poids des cerveaux et le nombre total de neurones ischémisés étaient décrits par la moyenne \pm écart-type (min-max).

Le rapport entre les marqueurs qEEG et la présence de lésions cérébrales (nombre de neurones ischémisés total et dans les noyaux gris centraux) était analysé par un test de corrélation de Spearman ($p \leq 0,05$).

RESULTATS

I. Mise en place de la technique d'acquisition de l'EEG fœtal

Afin de pouvoir enregistrer l'activité électrique cérébrale de nos fœtus de brebis en intra-utérin, nous avons d'abord suivi la méthode princeps décrite dans la littérature.

Les premiers enregistrements de l'activité électrique cérébrale du fœtus de brebis *in utero* ont été réalisés dans les années 1970 (288–291). Il s'agit d'électrocorticogrammes (ECOG) enregistrés à l'aide d'électrodes supra-durales. La méthode de mise en place des électrodes est restée globalement identique depuis : après une laparotomie avec exposition de la tête du fœtus, une incision médiane du cuir chevelu est pratiquée, le périoste est retiré du calvarium et des trous de trépan sont réalisés afin d'insérer les électrodes, leurs extrémités reposant sur la dure-mère. Les électrodes sont ensuite sécurisées à l'aide d'un ciment dentaire et le cuir chevelu est suturé par-dessus, assurant à la fois une stabilité mécanique et l'isolation du liquide amniotique.

Avec cette technique, nous avons réussi à enregistrer un signal d'activité cérébrale fœtale. Malheureusement, parmi les 4 brebis opérées, deux décès intra-utérins étaient survenus de façon précoce, ainsi qu'une mise en travail spontanée. Les autopsies mettaient en évidence des hématomes au niveau de la dure-mère en regard des zones de trépanation.

Nous avons donc voulu élaborer une technique d'acquisition moins invasive et moins longue, ne nécessitant pas la réalisation de trous de trépan.

Mise en place de l'EEG fœtal intra-utérin :

Lors de la chirurgie (J0), la tête du fœtus était exposée à travers l'hystérotomie. Six électrodes aiguilles (MYWIRE 10, MAQUET, Allemagne) étaient fixées sur le crâne fœtal :

- quatre électrodes étaient placées de part et d'autre du cortex frontal et pariétal : 10 mm en latéral de la suture sagittale et 5 mm en antérieur - 10 mm en postérieur de la suture fronto-pariétale
 - une électrode de référence et une électrode terre étaient placées en regard de l'os occipital.
- Une incision cutanée de 5 mm était réalisée pour chaque électrode au niveau du cuir chevelu. La partie dénudée de l'électrode était placée sous le périoste en contact avec l'os afin de

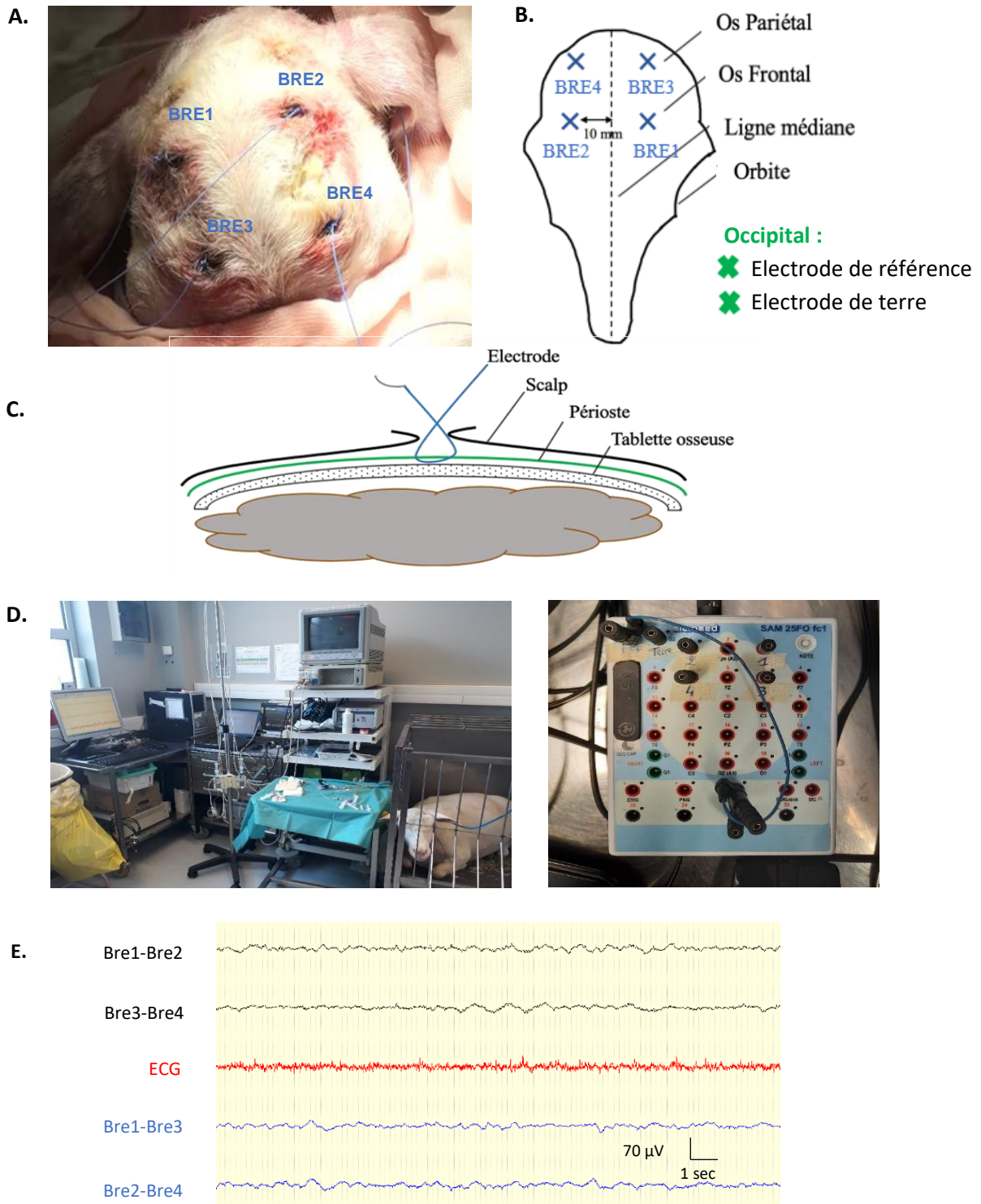
l'isoler complètement du liquide amniotique, et l'électrode était attachée à la suture du cuir chevelu (fil Vicryl 2/0 Rapide) (figure II.4).

La durée de mise en place des électrodes EEG était en moyenne de $15 \pm 2,5$ minutes au total, lorsque l'intervention était réalisée par deux opérateurs. A la vérification lors de l'autopsie, les électrodes restaient bien fixées au périoste.

Cette nouvelle méthode a fait l'objet d'une publication et est détaillée dans l'article « Fetal sheep cerebral electrical activity: A new technique to record EEG » Journal of Neuroscience Methods (292).

Figure II.4 – Nouvelle technique de mise en place des électrodes EEG sur la tête du fœtus de brebis et enregistrement de l’EEG fœtal *in utero*.

- A - Photo du scalp du fœtus (vue supérieure) avec les 4 électrodes EEG.
- B - Schéma du crâne fœtal (vue frontale) avec la position des électrodes EEG.
- C – Schéma de la fixation d’une électrode EEG en-dessous du périoste.
- D - Photos du matériel d’enregistrement EEG
- E - Exemple de tracé EEG enregistré avec les 4 électrodes BRE1-4, analysé en montage bipolaire transverse (noir) et longitudinal (bleu). Tracé ECG en rouge.



II. Brebis analysées

Cohorte témoins (2021) : 11 brebis gestantes étaient opérées à un terme de 125 ± 3 jours de gestation. Deux décès fœtaux survenaient en peropératoire, un fœtus décédait à J4 et un fœtus était exclu en raison d'un défaut d'enregistrement EEG (dysfonctionnement de l'ordinateur). Au total, **7 fœtus** étaient analysés.

Cohorte anoxie (2019) : 14 brebis gestantes étaient opérées à un terme de 124 ± 3 jours de gestation en moyenne. Deux décès fœtaux survenaient dans les 2 jours suivant la chirurgie et 3 fœtus étaient exclus : une manipulation était arrêtée précocement en raison de la rupture d'un occluteur, un fœtus décédait au début du protocole d'anoxie (cause cardiaque avec fibrillation ventriculaire puis asystolie) et un fœtus était exclu car il présentait des lésions cérébrales très sévères dont l'origine paraissait antérieure au protocole (petit poids cérébral, nécrose laminaire, cavitations corticales profondes, gliose et infiltration de macrophages). Au total, **9 fœtus** étaient inclus pour les analyses statistiques. Chez un fœtus, le protocole d'occlusions se terminait avant la phase C car le pH baissait en-dessous de 6.90, comme prévu dans le protocole. Un autre fœtus n'avait pas de tracé EEG à J5 et J6 en raison d'un défaut d'enregistrement (dysfonctionnement de la boîte tête).

III. EEG « témoins »

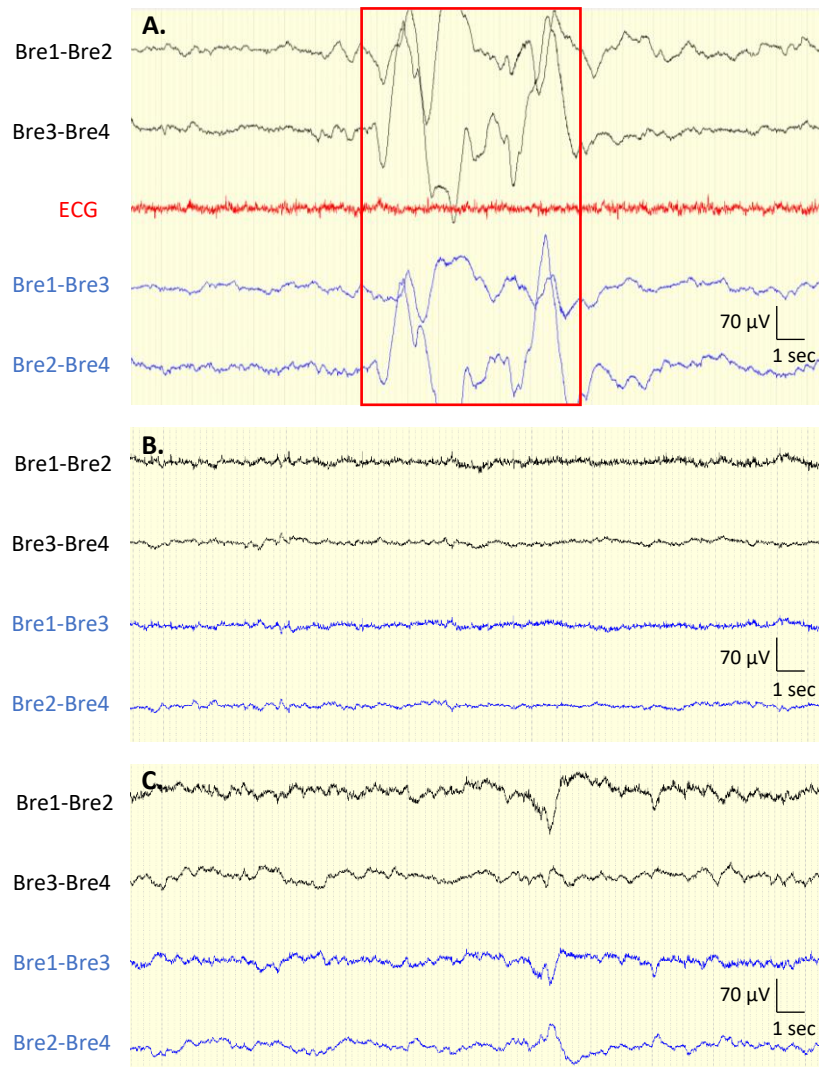
III)1. Description visuelle

Nous avons eu des artefacts abondants sur certains tracés « témoins » en raison d'un dysfonctionnement initial de la boîte tête mais ces tracés restaient analysables.

Les artefacts liés aux mouvements de la brebis ou du fœtus étaient intermittents et bien reconnaissables, il s'agissait principalement d'ondes lentes de grande amplitude ([figure II.5A](#)). Les tracés EEG étaient continus et labiles. Deux types d'activité EEG pouvaient être distinguées visuellement : une activité rapide (alpha - bêta) et de basse amplitude ([figure II.5B](#)) et une activité plus lente (thêta – delta) de plus grande amplitude ([figure II.5C](#)).

Figure II.5 – Exemple de tracés EEG « témoins »

Extraits de 25 secondes.

A – Exemple d'artefact lié à un mouvement de la brebis**B** - Activité rapide de basse amplitude avec fréquence 10-13 Hz et amplitude maximale autour de 60-80 μV .**C** - Activité lente de plus grande amplitude avec fréquence 2-5 Hz et amplitude autour de 80-120 μV .

III)2. Données quantitatives

Chez les témoins, toutes phases confondues, les médianes du BSR, de la SEF et de l'IA min variaient entre 0 et 10% (médiane 0% [0 ;1.4]), 4.0 et 16.4 Hz (6.3 Hz [6.0 ;7.8]) et 0.1 et 6.3 μV (2.4 μV [0.1 ;3.8]), respectivement (figure II.6). Lors de la présence d'artefacts importants, le logiciel ne parvenait pas à calculer l'IA min et donnait une valeur de 0.1 μV par défaut. La courbe des valeurs de SEF calculées à J4 chez un des fœtus témoins (brebis d de la figure II.6), montre que ce marqueur est particulièrement fluctuant avec le temps (figure II.7).

Les médianes des marqueurs sur l'ensemble de la cohorte sont présentées dans le [tableau II.1](#) pour les phases S', A', B' et C', puis dans le [tableau II.2](#) pour H2, H6 et H24.

Les données qEEG des témoins restaient stables entre toutes les différentes phases avec des valeurs p non significatives entre les phases lors du test de Friedman ([tableaux II.1 et II.2](#)).

Figure II.6 – Evolution des marqueurs qEEG des fœtus témoins

Médiane des marqueurs qEEG des fœtus témoins (N=7) pour chaque phase de 30 minutes. BSR (Burst Suppression Ratio) en %, SEF (95% Spectral Edge Frequency) en Hz et IA min (Index d'Amplitude minimal) en μV . Périodes S', A', B', C': équivalent dans le temps aux périodes de stabilité (S), d'occlusions légères (phase A), d'occlusions modérées (phase B) et d'occlusions sévères (phase C) respectivement dans le cohorte anoxie puis aux périodes de récupération à H2, H6 et H24.

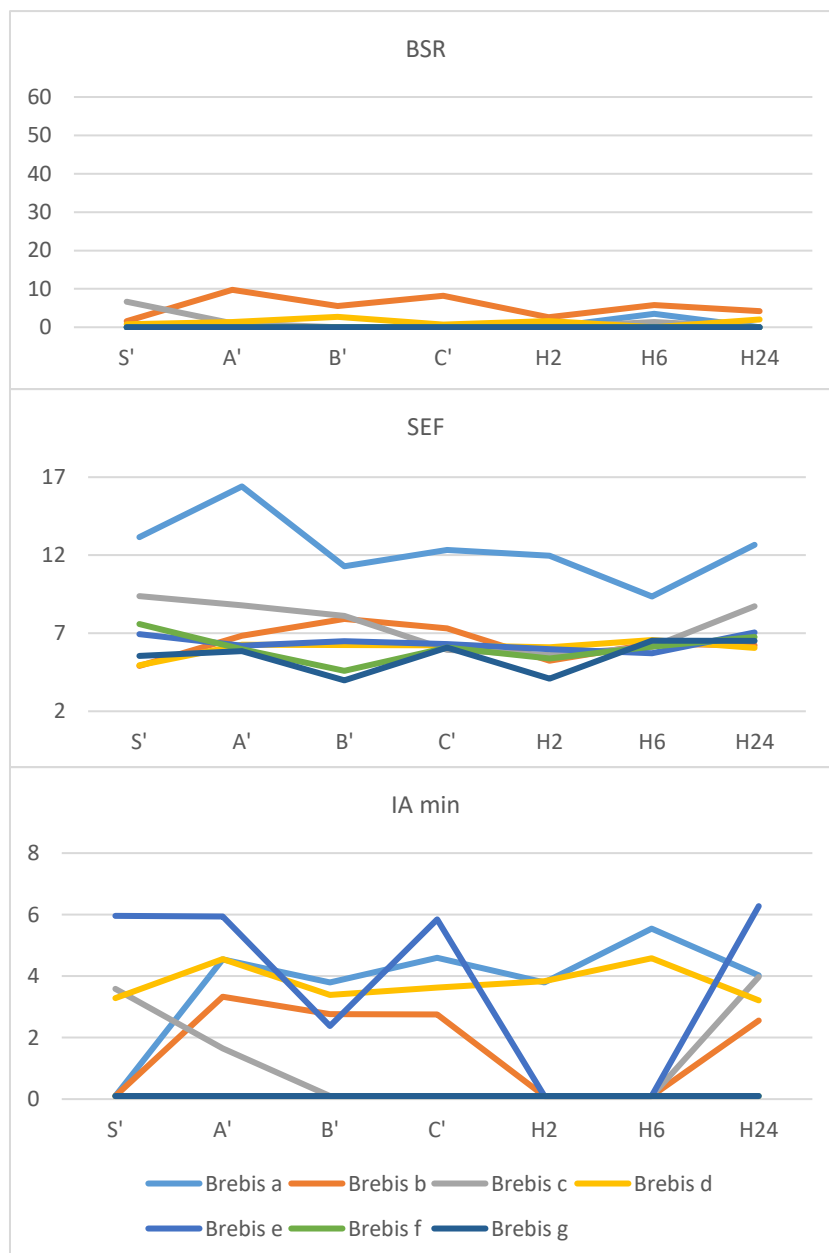


Figure II.7 – Exemple de courbe des marqueurs qEEG chez un fœtus témoin
BSR (Burst Suppression Ratio), SEF (Spectral Edge Frequency) et IA min (Index d'Amplitude minimal) calculés toutes les 20 secondes sur les différentes périodes d'intérêt : phase S', A', B', C', H2 et H6 chez le fœtus de brebis (d)

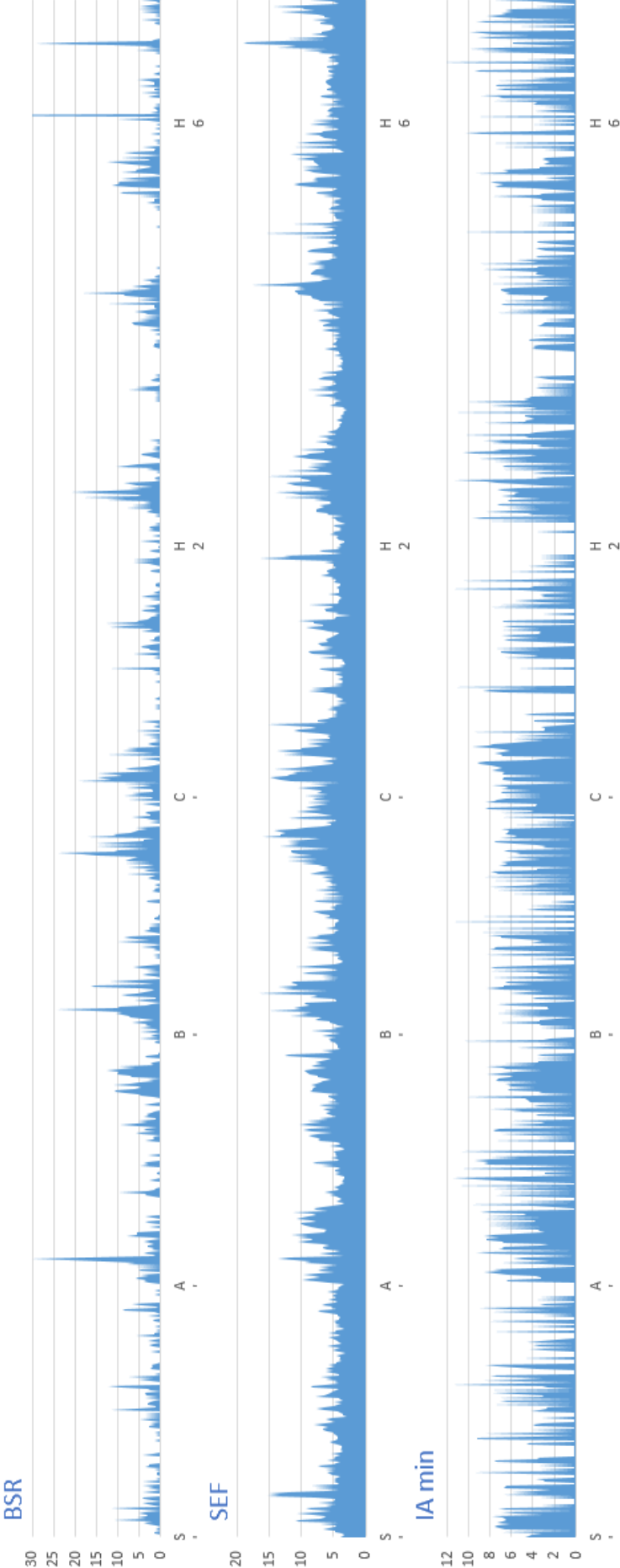


Tableau II.1 - Données quantitatives EEG des fœtus témoins en phases S', A', B' et C' et comparaison avec la cohorte anoxie.

Valeurs médianes (1^{er}-3^{ème} quartile).

Les valeurs p sont calculées chez les fœtus témoins par un test de Friedman entre la phase S' (équivalent à la phase de stabilité) et les phases A', B' et C' (équivalent aux phases d'occlusions).

Test de Mann-Whitney : comparaison avec les données de la cohorte anoxie ; + valeurs significatives par rapport aux données per-occlusions ; * valeurs significatives par rapport aux données des phases entières (p<0,05).

Equivalent de la stabilité		Equivalent des phases d'occlusions			
S' (n=7)		A' (n=7)	B' (n=7)	C' (n=7)	P
BSR (%)	0.00 (0.00 ; 1.58)	0.00 (0.00;1.37)+	0.00 (0.00;2.71)+*	0.00 (0.00;0.67)+*	0.537
SEF (Hz)	6,93 (4,94 ; 9,38)	6.27 (5.97;8.78)	6.50 (4.59;9.38)	6.23 (6.07;7.30)+	0.815
IA min (μ V)	0.10 (0.10 ; 3.44)	3.32 (0.1;4.54)	2.38 (0.10;3.39)	2.76 (0.10;4.59)	0.277

BSR : Burst Suppression Ratio (%) ; SEF : Spectral Edge Frequency (Hz) ; IA min : Index d'Amplitude minimal (μ V)

Tableau II.2 - Données quantitatives EEG des fœtus témoins en phase de récupération et comparaison avec la cohorte anoxie.

Valeurs médianes (1^{er}-3^{ème} quartile) ;

Les valeurs p sont calculées chez les fœtus témoins par un test de Friedman entre la phase C' (équivalent à la phase d'occlusions sévères) et les périodes H2, H6 et H24 (équivalents aux périodes de récupération).

Test de Mann-Whitney : * valeurs significatives par rapport aux données de la cohorte anoxie (p<0,05).

Equivalent de la phase de récupération				
	H2 (n=7)	H6 (n=7)	H24 (n=7)	p
BSR (%)	0.00 (0.00;1.59)	0.00 (0.00;3.51)	0.00 (0.00;2.00)	0.682
SEF (Hz)	5.60 (5.23;6.09)	6.32 (6.11;6.56)	6.74 (6.22;8.73)	0.074
IA min (μ V)	0.10 (0.10;3.80)	0.10 (0.10;4.58)	3.21 (0.1;4.03)	0.509

BSR : Burst Suppression Ratio (%) ; SEF : Spectral Edge Frequency (Hz) ; IA min : Index d'Amplitude minimal (μ V)

IV. Réponse foetale à l'anoxo-ischémie

IV)1. Données gazométriques et hémodynamiques

Le pH diminuait progressivement entre la phase de stabilité et entre chaque phase d'occlusions, jusqu'à une acidose sévère (pH 6,98) en phase C ($p < 0.001$). La PCO₂ et le lactate augmentaient également entre chaque phase ($p < 0.001$), contrairement à la PO₂ qui restait stable ($p = 0.430$) (tableau II.3).

La fréquence cardiaque plateau, mesurée entre les occlusions, restait stable lors des différentes phases ($p = 0.736$). Il y avait une bradycardie per-occlusion dès la phase légère (90 bpm contre 178 bpm entre les occlusions) et celle-ci avait tendance à se majorer légèrement avec les phases de sévérité mais la différence n'était pas significative ($p = 0.368$)

La pression artérielle plateau augmentait entre la phase de stabilité et les phases d'occlusions modérées et sévères ($p = 0.037$). Au contraire, la pression artérielle per-occlusion diminuait significativement en phase d'occlusion sévère par rapport aux phases légères et modérées ($p = 0.004$).

Tableau II.3 - Données gazométriques et hémodynamiques selon les phases de stabilité et d'occlusions chez les fœtus de la cohorte anoxie (N=9).

Valeurs médianes (1^{er}-3^{ème} quartile) calculées en stabilité et sur le dernier plateau de chaque phase d'occlusion pour les marqueurs gazométriques, FC plat et PAM plat ; calculées en per-occlusion pour FC occ et PAM occ. Les valeurs p sont calculées par un test de Friedman entre la phase de stabilité S et les 3 phases d'occlusion A, B et C pour les marqueurs calculés sur les plateaux (gazométrie, FC plat et PAM plat) ; entre les 3 phases d'occlusions pour les marqueurs per-occlusions (FC occ et PAM occ).

Test de Wilcoxon : X valeurs significatives versus S ; * valeurs significatives versus A ; + valeurs significatives versus B ($p < 0.05$).

	Stabilité	Phases d'occlusions			p
	S (n=9)	A (n=9)	B (n=9)	C (n=8)	
pH	7.39 (7.37;7.41)	7.28 (7.23;7.35)x	7.10 (7.07;7.27) x*	6.98 (6.84;7.08) x*+	<0.001
PO ₂ (mmHg)	12 (9.5;19)	16.0 (11.5;17.0)	15.0 (13.0;17.5)	16.5 (13.5;18.8)	0.430
PCO ₂ (mmHg)	45.3 (43;49.5)	50.6 (48.5;56.2)x	54.0 (52.5;63.1)x*	64.9 (55.1;87.0) x*+	<0.001
Lactate (mmol/l)	2.27 (1.69;3.16)	6.0 (3.4;8.3)x	12.8 (7.3;15.3) x*	15.9 (13.6;16.3) x*+	<0.001
FC plat (bpm)	186 (175;193)	178 (151;187)	189 (158;202)	175 (150;192)	0.736
PAM plat (mmHg)	48 (42;51)	58 (47;65)	62 (51;66)x	64 (54;68)x	0.037

FC occ (bpm)	90 (91;96)	82 (68;96)	79 (54;92)	0.368
PAM occ (mmHg)	56 (51;62)	54 (43;62)	37 (20;50)*+	0.004

FC plat : fréquence cardiaque mesurée sur le dernier plateau de chaque phase (entre les occlusions) ; PAM plat : pression artérielle moyenne mesurée sur le dernier plateau de chaque phase ; FC occ : fréquence cardiaque per-occlusion ; PAM occ : pression artérielle moyenne per-occlusion.

IV)2. Données EEG en situation d'anoxie

4.2.1. Description visuelle

Le signal EEG enregistré semblait de bonne qualité. On notait également des artefacts intermittents liés aux mouvements du fœtus ou de la brebis.

○ Phase de stabilité

En phase de stabilité, les tracés EEG des fœtus de la cohorte anoxie semblaient comparables à ceux des témoins : le signal était continu, labile et on distinguait également les deux types d'activité EEG (activité rapide de basse amplitude et activité lente de grande amplitude) décrites chez les témoins ([figures II.8A et B](#)).

○ Phases d'occlusions

Les occlusions de cordon entraînaient le plus souvent une modification rapide du signal EEG des fœtus : des ondes lentes et amples pouvaient être observées très transitoirement, suivies d'une diminution rapide de l'amplitude voire d'une suppression de l'activité ([figure II.8C](#)). La levée de l'occlusion était généralement suivie d'ondes amples transitoires puis d'une récupération rapide de l'activité. Ces modifications per-occlusions étaient observées chez certains fœtus dès la phase légère et chez quasiment tous les fœtus en phase sévère.

De plus, chez certains fœtus une altération globale du tracé pouvait être observée lors du rapprochement des occlusions (phase sévère généralement) avec une diminution de l'amplitude et un ralentissement du signal, l'activité ne se normalisant plus entre les occlusions.

Figure II.8 – Exemples de tracés EEG aux différentes phases du protocole anoxie.

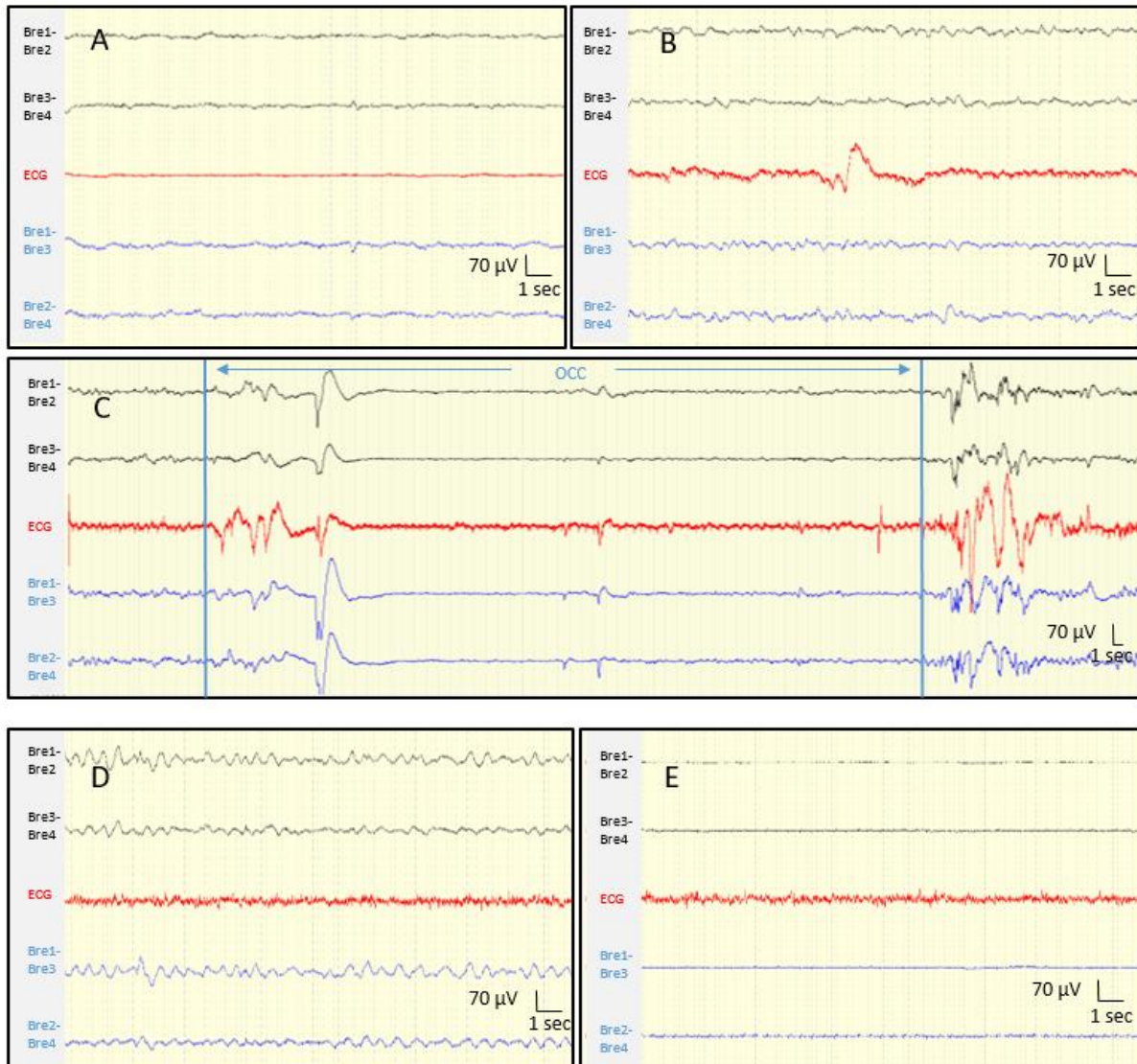
A - Phase de stabilité : activité rapide de basse amplitude (extrait de 20 sec).

B - Phase de stabilité : activité lente de plus grande amplitude (extrait de 20 sec).

C - Occlusion de cordon en phase B (occlusion de 1 minute toutes les 3 minutes, marquée par les barres bleues sur la figure) : ondes lentes et amples transitoires puis suppression de l'activité EEG (extrait de 90 sec).

D - Phase de récupération à H2 : activité rythmique enregistrée sur toutes les dérivation (extrait de 20 sec).

E – Tracé inactif enregistré 7 minutes après le sacrifice maternel (extrait de 20 sec).



- Phase de récupération

Au début de la phase de récupération, le signal était généralement moins ample et plus lent qu'en phase de stabilité puis s'enrichissait rapidement avec une réapparition de la labilité du signal. Visuellement, la durée de normalisation du signal semblait varier entre tracés. De plus, des pointes et des périodes d'activité rythmique pouvant correspondre à des crises étaient observées dans certains tracés lors de cette phase (figure II.8D).

Après le sacrifice maternel, on observait une suppression progressive et rapide du signal jusqu'à un tracé inactif (figure II.8E).

Les tracés EEG des foetus exclus étaient également analysés visuellement. Le tracé du foetus décédé au début du protocole expérimental, était caractérisé par un ralentissement du signal durant l'épisode de fibrillation ventriculaire puis une diminution d'amplitude jusqu'à un tracé quasiment inactif lors de l'asystolie (figure A1.A en annexe). Cela nous a permis de vérifier qu'il n'y avait pas ou très peu d'artefacts d'origine maternelle sur le tracé inactif du foetus.

Le tracé EEG du foetus présentant des lésions cérébrales sévères antérieures au protocole montrait des ondes lentes très amples et rythmiques quasiment permanentes dès la phase de stabilité, ce qui correspondait probablement à un état de mal épileptique (figure A1.B).

4.2.2. Données quantitatives

Les valeurs des marqueurs qEEG sont présentées en fonction des phases de stabilité et d'occlusions dans la figure II.9 et le tableau II.4. Un exemple de tracé avec l'évolution des courbes qEEG en fonction des différentes phases est présenté en figure II.10.

- Phase de stabilité

En phase de stabilité (S), la médiane du BSR des foetus de la cohorte anoxie était comprise entre 0 et 7% sauf pour un tracé où la médiane était de 26% dès la phase de stabilité. La SEF était comprise entre 5,3 et 16,3 Hz et l'amplitude minimale entre 0,1 et 7,0 μ V et la (figure II.9). Les valeurs de SEF étaient fluctuantes au cours de la phase de stabilité (figure II.10).

Statistiquement, les valeurs des marqueurs étaient similaires entre les cohortes anoxie et témoins en phase de stabilité (tableau II.1 1 ci-dessus).

- Phases d'occlusions

Le BSR per-occlusion était significativement plus élevé que celui des témoins dès les occlusions légères ([tableau II.1](#)). La SEF per-occlusion était plus basse que celle des témoins lors des occlusions sévères. L'amplitude minimale ne différait pas significativement.

Le BSR per-occlusion avait tendance à augmenter avec la sévérité des phases ($p=0.156$) alors l'amplitude minimale avait tendance à diminuer (0.495) et la SEF diminuait significativement en phase C ($p=0.030$) ([tableau II.4-A](#)). Dans certains tracés on pouvait néanmoins observer une majoration des pics de BSR avec la sévérité des occlusions ([figure II.11](#)).

Lorsque les marqueurs étaient calculés sur les phases entières, le BSR global des fœtus de la cohorte anoxie était plus élevé que celui des témoins en phase B et C ([tableau II.1](#)). La SEF et l'amplitude minimale globales avaient tendance à être plus basses que celles des témoins en phase C mais la différence n'était pas significative.

Le BSR des fœtus de la cohorte anoxie augmentait ($p=0.029$) surtout entre les phases A et B (différences significatives entre les phases B et C par rapport à la stabilité et la phase A) ([tableau II.4-B](#)). La SEF diminuait ($p=0.003$) (différences significatives entre la phase C par rapport à la stabilité et la phase A ; phase B par rapport à la phase A). L'amplitude avait tendance à diminuer avec les phases de sévérité mais la différence n'était pas significative ($p=0.066$).

Il y avait néanmoins beaucoup de variations entre les différents tracés comme le montrent les interquartiles importants et la [figure II.9](#).

Figure II.9 – Evolution des marqueurs qEEG des fœtus de la cohorte anoxie lors des phases de stabilité puis d’occlusions.

Médiane des marqueurs qEEG des fœtus anoxie (N=9) sur la phase de stabilité S et les phases d’occlusions A (légère), B (modérée), C (sévère). BSR (Burst Suppression Ratio) en %, SEF (95% Spectral Edge Frequency) en Hz et IA min (Index d’Amplitude minimal) en μV .

A – Marqueurs sur les phases entières

B – Marqueurs per-occlusion

C – Nombre de neurones ischémiés lors des analyses anatomo-pathologiques.

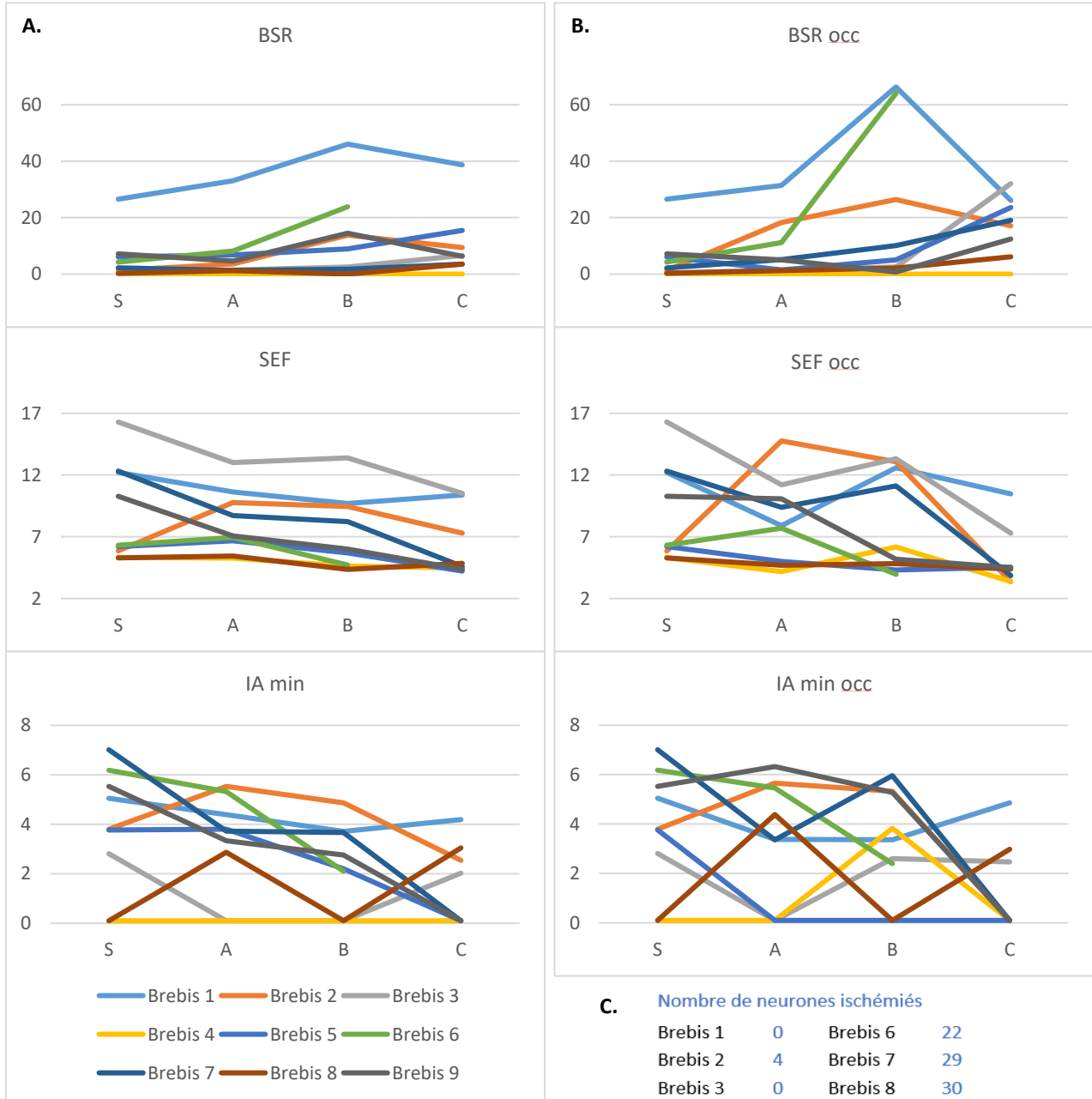


Figure II.10 – Exemple de courbe de marqueurs qEEG chez un fœtus de la cohorte anoxie

1) Evolution des valeurs des marqueurs BSR (%), SEF (Hz) et IA min (μV) au cours des différentes phases à partir du tracé EEG d'un fœtus présentant 29 neurones ischémisés sur les analyses anatomopathologiques (brebis 7 de la figure II.9).

S=phase de stabilité (1h) ; A = phase d'occlusions légères (1h) ; B = phase d'occlusions modérées (1h) ; C = phase d'occlusions sévères (1h) ; O = occlusion cordonale totale (1 min)

2) Extraits de 30 secondes des tracés EEG bruts en phase de stabilité et à la fin d'une occlusion légère et sévère.

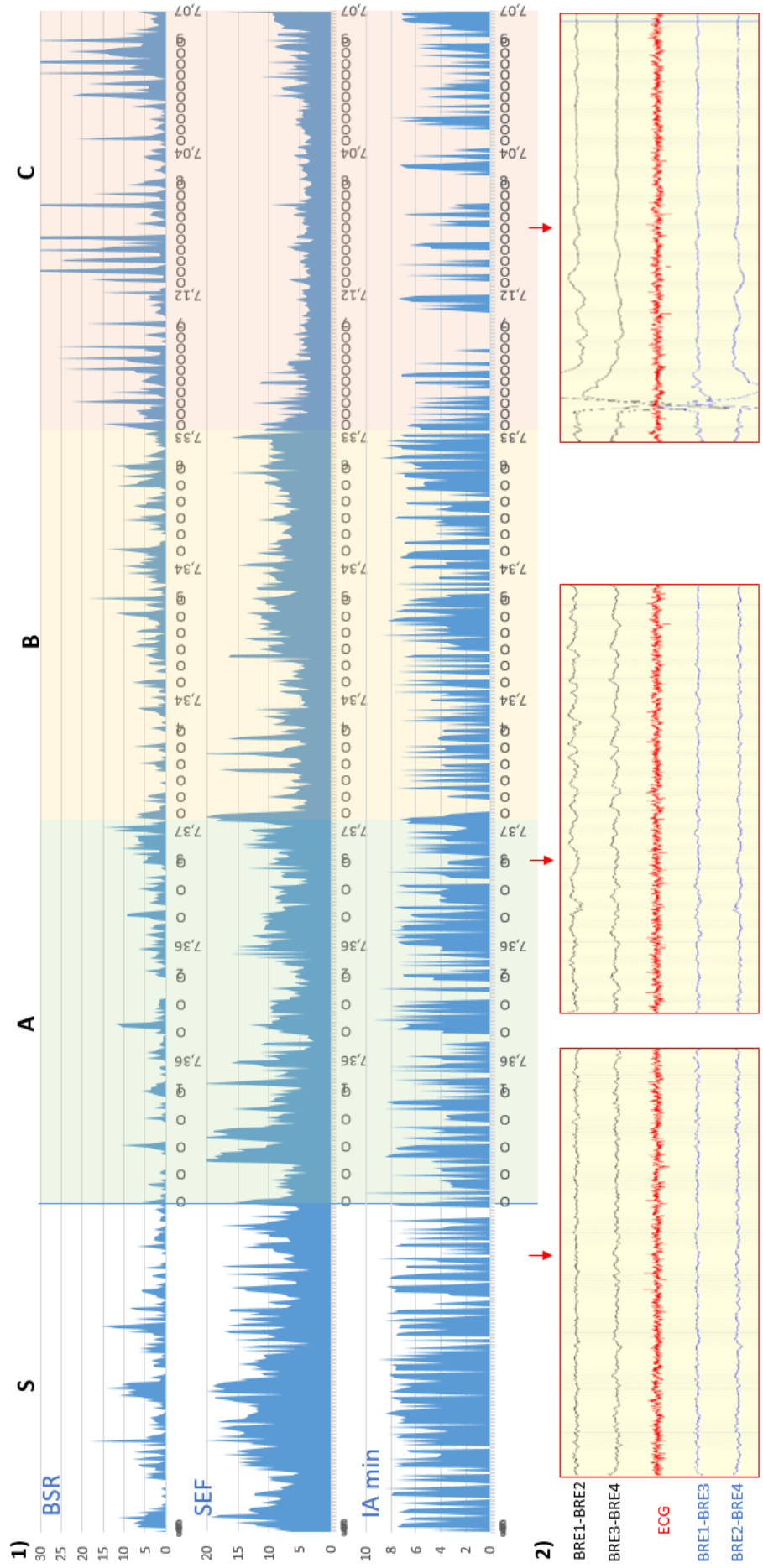


Tableau II.4 - Données quantitatives EEG selon les phases de stabilité et d'occlusions chez les fœtus de la cohorte anoxie (N=9)Valeurs médianes (1^{er}-3^{ème} quartile)

Les valeurs p sont calculées par un test de Friedman entre les 3 phases d'occlusions pour les marqueurs per-occlusions (BSR occ, SEF occ et IA min occ) ; entre la phase de stabilité S et les 3 phases d'occlusion A, B et C pour les marqueurs globaux, calculés sur les phases entières (BSR, SEF et IA min) ;

Test de Wilcoxon : x valeurs significatives versus S ; * valeurs significatives versus A ; + valeurs significatives versus B (p<0.05).

Stabilité		Phases d'occlusions			p
S (n=9)		A (n=9)	B (n=9)	C (n=8)	
A - Per-occlusion					
BSR occ (%)	-	5.03 (1.34;14.74)	5.07 (1.47;45.27)	18.11 (7.72;25.5)	0.156
SEF occ (Hz)	-	7.90 (4.84;10.63)	6.17 (4.56;12.83)	4.44 (3.50;6.60)+	0.030
IA min occ (μ V)	-	3.38 (0.10;5.56)	3.37 (1.25;5.3)	0.10 (0.10;2.86)	0.495
B - Phases entières					
BSR (%)	2,19 (0,34 ; 6,66)	3.58 (1.29;7.50)	8.93 (0.87;19.19)x*	6.46 (3.55;13.96)x*	0.029
SEF (Hz)	6,32 (5,59 ; 12,26)	7.08 (6.05;10.19)	6.00 (4.67;9.57)*	4.72 (4.39;9.61)x*	0.003
IA min (μ V)	3,79 (1.45 ; 5.86)	3.73 (1.48;4.85)	2.20 (0.10;3.69)	1.01 (0.10;2.92)	0.066

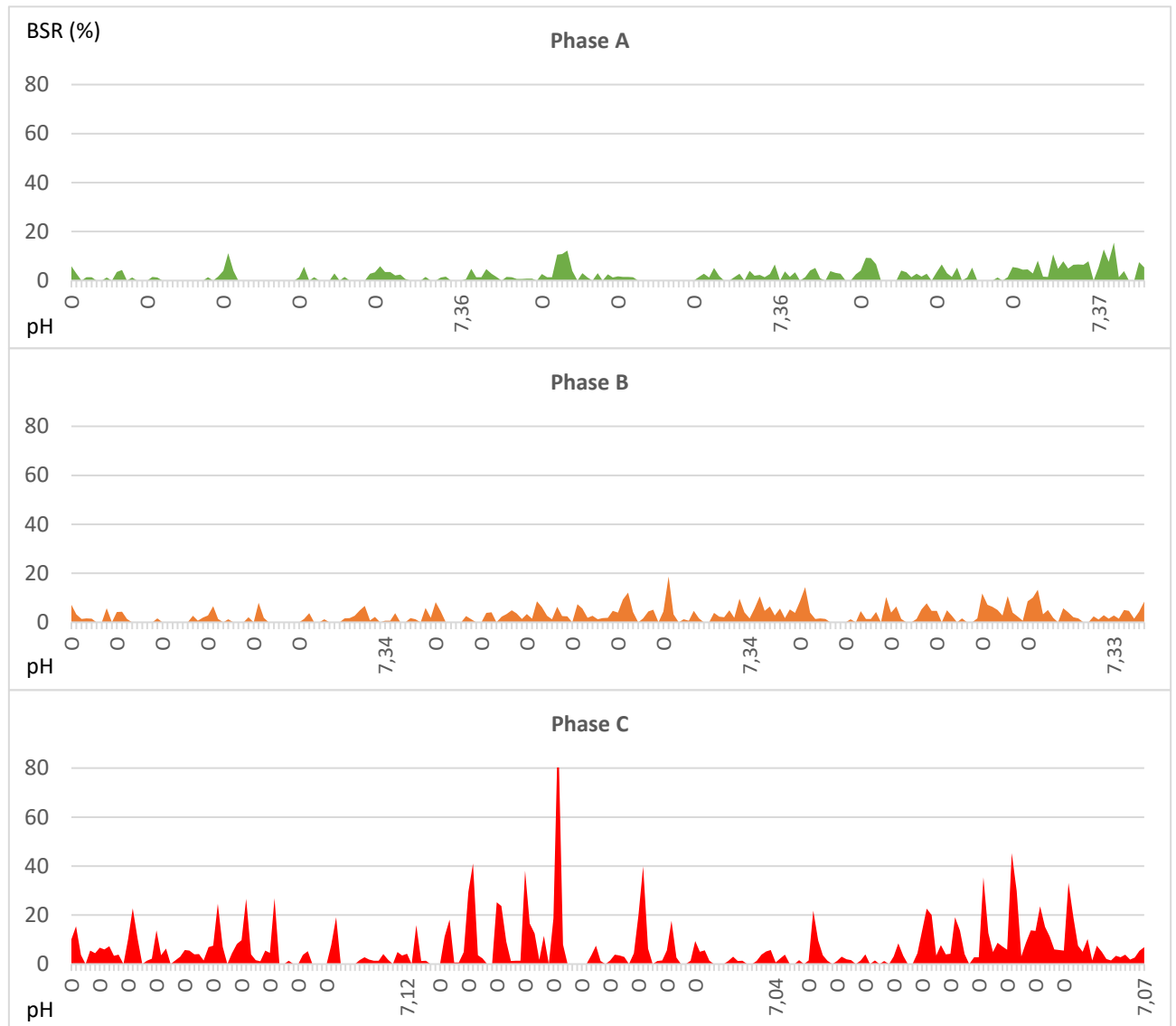
IA min : Index d'Amplitude minimal (μ V) ; BSR : Burst Suppression Ratio (%) ; SEF : Spectral Edge Frequency (Hz) : calculés sur les phases entières ou per-occlusion (occ)

Figure II.11 – Exemple de courbe de BSR en fonction des phases d’occlusion.

Fœtus de brebis 7 de la figure II.9.

Phase A : occlusions légères (1’/5’). Phase B : occlusions modérées (1’/3’). Phase C : occlusions sévères (1’/2’).

O = occlusion de cordon (durée 1 minute).



○ Phase de récupération

Les données qEEG des fœtus anoxiques avaient tendance à se normaliser dès H2 après les occlusions mais avec des variations importantes selon les tracés ([tableau II.5](#)). Lors des analyses statistiques, seul le BSR diminuait significativement à H2, H6 et H24 par rapport à la phase C d’occlusions sévères ($p=0.006$). Il n’y avait pas de différence significative par rapport aux données des témoins ([tableau II.2](#) ci-dessus). La SEF était à nouveau fluctuante dans certains tracés (exemple de courbe en [figure II.12](#)).

Après le *sacrifice* maternel, le BSR augmentait rapidement et l'amplitude diminuait progressivement jusqu'à un tracé inactif (figure A.2 en annexe). La SEF évoluait en 2 temps avec une diminution initiale puis une augmentation jusque quasiment 30 Hz. La durée moyenne d'obtention d'un BSR > 95% était de $7,2 \pm 5,24$ [1,2-19,0] minutes.

Tableau II.5 - Données quantitatives EEG en phase de récupération chez les fœtus de la cohorte anoxie.

Valeurs médianes (1^{er}-3^{ème} quartile)

Les valeurs p sont calculées par un test de Friedman entre la phase C d'occlusions sévères et la récupération à H2, H6 et H24.

Test de Wilcoxon : * valeurs significatives par rapport à la phase C d'occlusions sévères (p<0.05).

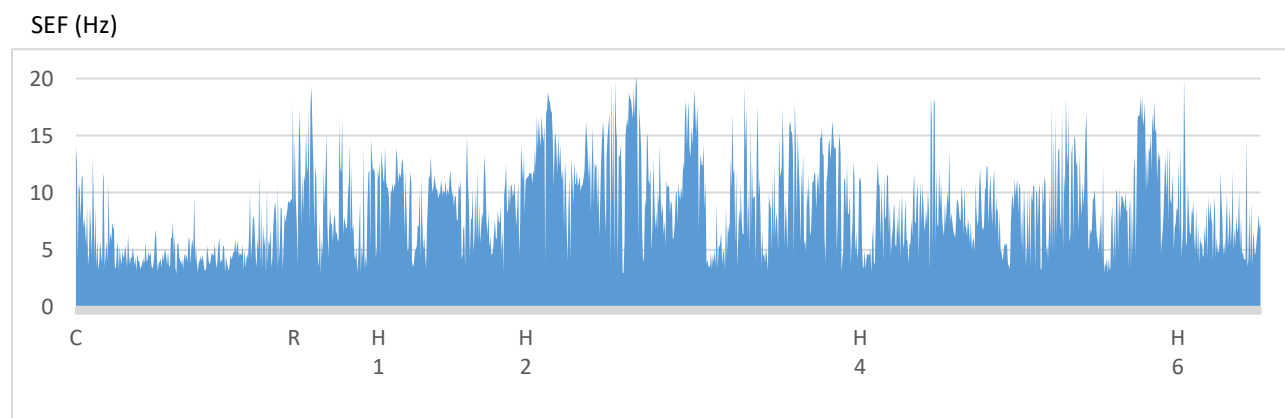
Récupération				
	H2 (n=9)	H6 (n=9)	H24 (n=8)	p
BSR (%)	2.08 (0 ; 7.83)*	1.44 (0 ; 9.59)*	1.74 (0 ; 5.07)*	0.006
IA min (μV)	2.98 (0.1 ; 6.01)	2.60 (0.1 ; 4.88)	3.24 (0.1 ; 4.50)	0.207
SEF (Hz)	8.08 (4.44 ; 10.34)	6.51 (5.37 ; 9.75)	5.95 (5.08 ; 9.37)	0.815

IA min : Index d'Amplitude minimal (μV) ; BSR : Burst Suppression Ratio (%) ; SEF : Spectral Edge Frequency (Hz)

Figure II.12 – Exemple de courbe de SEF en phase d'occlusions sévères puis de récupération

Fœtus de brebis 7 de la figure II.9.

C = début de la phase d'occlusions sévères. R = début de la phase de récupération (jusque H6).



IV)3. Rapport entre les données qEEG et les données hémodynamiques/biologiques

L'augmentation du BSR per-occlusion était corrélée à la diminution de la fréquence cardiaque durant les occlusions et les plateaux ainsi qu'à l'augmentation de la pression artérielle moyenne lors des plateaux (tableau II.6). La diminution d'amplitude et de SEF per-occlusion et globale sur les phases entières était corrélée à la diminution de la pression artérielle per-occlusion. Ces corrélations étaient modérées ($r < 0.7$).

La diminution de l'amplitude et de la SEF per-occlusion et globale était corrélée à l'acidose et à l'augmentation de la PCO₂. Seule la diminution de l'amplitude était corrélée à la majoration du lactate. Le BSR n'était pas corrélé aux marqueurs biologiques et aucun marqueur qEEG était corrélé à la PO₂ (tableau II.6).

Tableau II.6 – Corrélation entre les marqueurs qEEG et les marqueurs hémodynamiques et biologiques.

Les résultats présentés : coefficient de corrélation de Spearman (r) puis la valeur p. En gras : valeurs significatives ($p < 0,05$).

Marqueurs	Hémodynamiques				Biologiques			
	FC (bpm)	PAM (mmHg)	FC occ (bpm)	PAM occ (mmHg)	pH	PCO ₂ (mmHg)	PO ₂ (mmHg)	Lactate (mmol/l)
qEEG								
BSR occ (%)	-0.400; 0.043	0.411; 0.037	-0.515; 0.007	0.151; 0.493	-0.202; 0.323	0.013; 0.948	0.231; 0.256	0.253; 0.213
IA min occ (μV)	-0.167; 0.414	0.034; 0.870	0.104; 0.613	0.428; 0.041	0.480; 0.013	-0.434; 0.027	0.079; 0.700	-0.416; 0.034
SEF occ (Hz)	-0.067; 0.746	-0.042; 0.838	-0.169; 0.408	0.572; 0.003	0.461; 0.018	-0.670; <0.0001	-0.015; 0.943	-0.316; 0.116
BSR (%)	-0.202 ; 0.322	0.557; 0.003	-0.114; 0.578	0.130; 0.555	-0.258; 0.203	0.220; 0.280	-0.008; 0.970	0.284; 0.159
IA min (μV)	-0.460; 0.018	0.199; 0.329	0.087; 0.673	0.579; 0.004	0.604; 0.001	-0.398; 0.044	0.159; 0.438	-0.532; 0.005
SEF (Hz)	-0.163; 0.428	0.058; 0.780	-0.078; 0.706	0.637; 0.001	0.351; 0.078	-0.629; 0.001	-0.135; 0.511	-0.231; 0.256

FC : fréquence cardiaque ; PAM : pression artérielle moyenne (médiane sur le dernier plateau de chaque phase d'occlusion).
Occ : médiane per-occlusion. BSR : Burst Suppression Ratio (%) ; IA min : Index d'Amplitude minimal (μV) ; SEF : Spectral Edge Frequency (Hz) : médiane sur la phase entière ou per-occlusion (occ)

V. Données qEEG et lésions anoxo-ischémiques

V)1. Description des lésions anoxo-ischémiques

Seuls les cerveaux des fœtus de la cohorte anoxie ont pu être analysés pour le moment. Les cerveaux pesaient en moyenne $56,9 \pm 2,6$ [54-62] grammes.

Lors de l'analyse histologique, 7 fœtus/9 avaient des lésions neuronales ischémiques. Le nombre moyen de neurones ischémisés était de $25,1 \pm 27,2$ [0-83] par fœtus. Les lésions sont présentées par région cérébrale dans le [tableau II.7](#). Six fœtus/9 avaient des lésions dans les noyaux gris centraux. Dans l'hippocampe, toutes les lésions étaient observées dans la corne d'Amon.

Tableau II.7 – Nombre de neurones ischémisés par région cérébrale chez les fœtus de la cohorte anoxie (N=9)

Régions cérébrales	Fœtus analysés									Lésions totales par région
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Cortex										
frontal	12	0	0	0	2	0	0	5	2	21
pariétal	11	0	0	0	4	0	0	0	1	16
temporal	10	0	0	0	8	0	0	7	8	33
occipital	5	0	1	0	4	0	0	2	1	13
entorhinal	15	1	0	0	15	0	0	1	0	32
total cortex	53	1	1	0	33	0	0	15	12	115
Noyaux gris centraux	15	7	1	0	2	0	0	2	12	39
Hippocampe	5	2	0	0	6	0	0	5	2	20
Cervelet										
noyau dentelé	3	4	2	0	2	0	0	0	0	11
cortex	3	5	5	0	2	4	0	0	4	23
total cervelet	6	9	7	0	4	4	0	0	4	34
Tronc cérébral	4	10	0	0	4	0	0	0	0	18
Lésions totales par fœtus	83	29	9	0	49	4	0	22	30	

V)2. Rapport entre les données qEEG et les lésions anoxo-ischémiques

Les deux fœtus ne présentant aucune lésion cérébrale (brebis 1 et 3 dans la [figure II.9](#)) avaient les valeurs de BSR per-occlusion les plus élevées en phase C. Leurs valeurs de SEF et d'amplitude per-occlusion et phases entières étaient également plus élevées en phase C.

En phase de stabilité, aucun marqueur qEEG n'était corrélé au nombre de neurones ischémiés total ou dans les noyaux gris centraux.

Lors des phases d'occlusions, les 3 marqueurs avaient tendance à être corrélés négativement au nombre de neurones ischémiés. Seule la SEF per-occlusion en phase B et globale en phase C étaient corrélées significativement au nombre total de neurones ischémiés, avec une corrélation forte ($r=-0.720$; $p=0.029$ et $r=-0.874$; $p=0.005$, respectivement) ([tableau II.8](#) et [figure II.13](#)).

Tableau II.8 – Corrélation entre les marqueurs qEEG et le nombre de neurones ischémiés total et dans les noyaux gris centraux lors des différentes phases : stabilité et phases A, B, C d'occlusions.

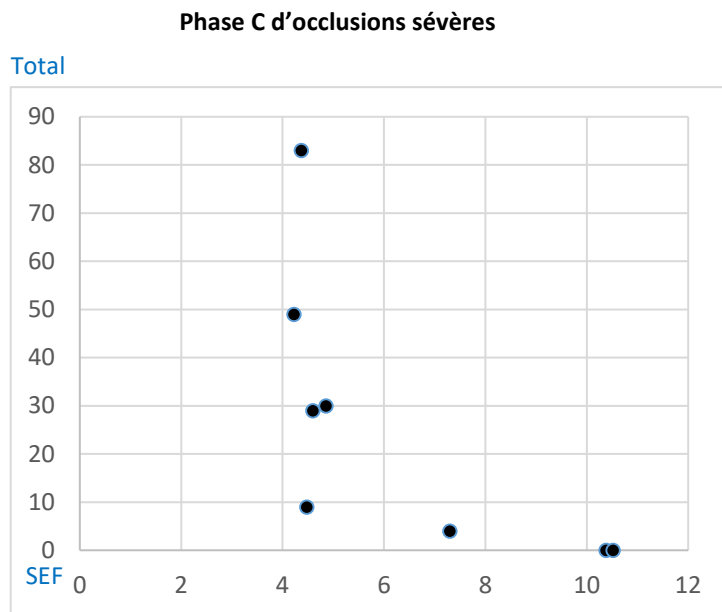
Les résultats présentés sont le coefficient de corrélation de Spearman (r) puis la valeur p (significatif si $< 0,05$).

Marqueurs qEEG	Phases	Nombre de neurones ischémiés	
		Total	NGC
BSR occ (%)	A	-0.285;0.458	-0.298;0.436
	B	-0.427;0.252	-0.434;0.243
	C	-0.491;0.217	-0.537;0.170
IA min occ (μV)	A	0.264;0.493	0.338;0.374
	B	-0.151;0.698	-0.073;0.853
	C	-0.494;0.213	-0.280;503
SEF occ (Hz)	A	-0.293;0.444	-0.298;0.436
	B	-0.720;0.029	-0.655;0.055
	C	-0.180;0.670	-0.146;0.729
BSR (%)	S	0.184;0.635	0.094;0.811
	A	-0.075;0.847	0.196;0.614
	B	-0.168;0.666	-0.231;0.550
	C	-0.275;0.509	-0.488;0.220
IA min (μV)	S	0.151;0.698	0.222;0.565
	A	-0.071;0.855	-0.205;0.596
	B	-0.085;0.828	-0.182;0.640
	C	-0.574;0.137	-0.455;0.257
SEF (Hz)	S	-0.301;0.431	-0.196;0.614
	A	-0.594;0.092	-0.536;0.137
	B	-0.594;0.092	-0.604;0.085
	C	-0.874;0.005	-0.683;0.062

BSR : Burst Suppression Ratio (%) ; IA min : Index d'Amplitude minimal (μV) ; SEF : Spectral Edge Frequency (Hz) sur la phase entière ; occ : per-occlusion

Figure II.13 – Valeurs de la SEF en fonction du nombre total de lésions.

Médiane de la SEF globale sur la phase C entière en fonction du nombre total de lésions cérébrales de chaque fœtus (corrélation significative $p=0.005$).



DISCUSSION

A partir du modèle expérimental d'anoxie périnatale chez le fœtus de brebis proche terme mis en place par le laboratoire, nous avons étudié la réponse cérébrale fœtale immédiate à une anoxo-ischémie intermittente, provoquée par des occlusions de cordon répétées de sévérité croissante, telle que pouvant survenir lors du travail humain.

Après avoir élaboré une nouvelle méthode d'acquisition EEG fœtale *in utero*, l'analyse visuelle et quantitative des tracés a pu mettre en évidence une suppression du signal EEG lors des occlusions (pic de BSR) et un ralentissement progressif du signal avec la sévérité des phases d'occlusions (diminution de la SEF), bien que les réponses soient variables entre les fœtus. La discontinuité du signal per-occlusion (augmentation du BSR) était corrélée à la bradycardie per-occlusion et la majoration de la pression artérielle alors que le ralentissement (diminution de la SEF) et la diminution de l'amplitude minimale (IA min) étaient corrélées à l'hypotension artérielle et à l'acidose respiratoire. Seule la SEF mesurée sur la phase d'occlusions sévères était corrélée à la survenue de lésions cérébrales.

I. Modèle expérimental

La mise en place d'une méthode d'acquisition EEG *in utero* chez les fœtus de brebis nous a permis d'améliorer le modèle expérimental du laboratoire en permettant un accès direct à l'activité cérébrale fœtale durant l'anoxie aiguë.

La nouvelle technique d'enregistrement que nous avons élaborée (292) semble être une bonne alternative à la méthode princeps décrite dans la littérature. Au lieu de placer les électrodes sur la dure-mère, celles-ci sont fixées au périoste donc au-dessus de l'os crânien, mais en-dessous du scalp afin de les isoler du liquide amniotique. Le scalp étant très vascularisé, nous avons fait particulièrement attention à maintenir une bonne hémostasie, ce qui a permis d'éviter la survenue d'hématomes sous-cutanés qui auraient pu atténuer le signal. Cette technique est moins invasive et moins longue car elle ne nécessite pas la réalisation de trous de trépan. Dans notre expérience, elle entraîne moins de complications post-opératoires (hématomes extraduraux, pertes fœtales) ce qui permet d'optimiser le modèle et de limiter au maximum le nombre d'animaux utilisés. Elle a également l'avantage

d'être plus facile, d'apprentissage rapide et nécessite moins de matériel spécifique. Enfin, elle permet l'obtention d'un signal EEG plus proche de celui enregistré habituellement chez l'humain, en comparaison à l'électro-corticogramme (ECOG) supra-dural.

Les électrodes risquaient néanmoins d'être moins bien sécurisées qu'à travers les trous de trépan et le signal pouvait être davantage perturbé par les artefacts de l'environnement. Cependant, la fixation au périoste s'est avérée efficace, nous n'avons retrouvé aucune électrode détachée lors des autopsies. De même, le signal obtenu semblait de bonne qualité et interprétable. Le tracé d'un fœtus décédé nous a permis de vérifier l'absence d'artefacts d'origine maternelle (notamment cardiaque) sur les tracés fœtaux. Les artefacts étaient intermittents et facilement repérables, avec des ondes lentes et amples principalement liés aux mouvements du fœtus ou de la brebis. Cependant, les artefacts n'étaient pas retirés avant l'analyse quantitative et ils pouvaient parfois interférer avec cette dernière.

A notre connaissance, seule l'équipe de Frasch a également mis au point une méthode d'enregistrement EEG supra-osseux chez le fœtus de brebis *in utero*, à l'aide d'une électrode à double spirale modifiée, placée directement sur le scalp du fœtus lors de la chirurgie (224). Le signal obtenu était plus atténué et contenait davantage d'artefacts que le signal électro-cortical supra-dural mais les données quantitatives (amplitude, SEF) obtenues semblaient comparables à celles des études antérieures. Notre technique paraît être un bon compromis entre la méthode princeps plus invasive et cette méthode davantage pourvoyeuse d'artefacts.

II. Tracés EEG normaux

Les premiers enregistrements électro-corticaux (ECOG) chez le fœtus de brebis *in utero* ont été réalisés dans les années 1970 (288–291). Ils ont permis d'étudier la maturation cérébrale fœtale normale durant la gestation de la brebis.

Avant 60-65 jours de gestation, le cerveau du fœtus de brebis ne présente pas d'activité électrique décelable (293). Les structures corticales sont alors immatures et lisses (294). A partir de 60-65 jours, le cortex devient excitable électriquement et des signes d'activation post-synaptiques peuvent être décelés lors des stimulations (277,291). Après 65-78 jours, l'activité est discontinue avec des bouffées de signal alternant avec des périodes inactives (277,291) et les structures corticales prennent en quelques jours un aspect beaucoup plus

mature (294). La transition vers une activité continue est ensuite rapportée entre 78 et 110 jours de gestation (291,293). A partir de 110-120 jours, cette activité corticale s'organise en une activité cyclique. Des patterns d'activité cérébrale peuvent alors être différenciés, alternant entre une activité rapide de basse amplitude et une activité lente de plus grande amplitude, correspondant à l'apparition des cycles veille-sommeil du fœtus (279,290,291,295). L'activité rapide de basse amplitude est ainsi retrouvée lors de la veille et du sommeil agité, alors associée à des mouvements oculaires rapides, une diminution de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle, des mouvements respiratoires irréguliers et une abolition du tonus musculaire. L'activité lente de grande amplitude est retrouvée dans le sommeil calme, associée à une légère augmentation de la fréquence cardiaque et des mouvements oculaires lents (290,291,296–299). Avec la maturation gestationnelle, l'amplitude globale des tracés augmente progressivement et la différence de fréquence des patterns d'activité cérébrale s'accroît avec l'acquisition progressive des fréquences rapides dans le sommeil agité (majoration de la SEF) et l'augmentation des fréquences lentes dans le sommeil calme (279,288,291,295). Vers 130 jours de gestation, le cycle veille-sommeil total du fœtus dure entre 20 et 40 minutes selon les études (295,300). Initialement, la proportion de sommeil agité est la plus importante (>50% vers 120 jours) puis elle diminue progressivement jusqu'à environ 38% dans les derniers jours de gestation avec une légère augmentation du sommeil calme (295). Les épisodes de veille sont courts mais de plus en plus fréquents (tableau A.3 en annexe).

Visuellement, le signal EEG obtenu chez les fœtus témoins et en phase de stabilité chez les fœtus de la cohorte anoxie était continu et labile, comme décrit à cet âge gestationnel dans les études antérieures (277,279,291,297). A noter que seules ces études anciennes présentent des extraits de signal brut, les études récentes ne présentant que les résultats des analyses quantitatives. Sur la plupart de nos tracés, il était possible de distinguer les deux types d'activité de fond rapportées dans ces études comme les patterns EEG des cycles veille-sommeil, visibles à partir de 120 semaines de gestation (279,290,291,296–298,301). L'activité rapide de basse amplitude (ARBA) correspondrait ainsi au sommeil agité ou à l'état d'éveil et l'activité lente de plus grande amplitude (ALHA) au sommeil calme. Pour en être certains

néanmoins, il aurait fallu enregistrer en parallèle le tonus musculaire, l'activité respiratoire et les mouvements oculaires fœtaux.

Quantitativement, les données qEEG obtenues en phase de stabilité étaient similaires entre les cohortes anoxie et témoin. Ces valeurs étaient également comparables aux données retrouvées dans la littérature au même âge gestationnel (42,223,224,302). Comme attendu, les valeurs d'amplitude et de SEF étaient légèrement plus basses que les valeurs issues des ECOG dans les études antérieures car le signal était atténué par l'os, mais plus hautes que les valeurs issues des EEG de Frasch, enregistrés au-dessus du scalp.

La SEF médiane était de 6.3 Hz chez les témoins et en phase de stabilité alors que la SEF calculée à partir des ECOG en phase de stabilité était en moyenne de 6.7 Hz \pm 0.6 chez Frasch (2015), 10-11 Hz chez Bennet (2006), 14 Hz [12-15] chez Pulgar (2007) et 14.4 Hz \pm 0.4 chez Frasch (2011) (42,52,222,224). Par contre, la SEF calculée à partir des EEG intra-utérins de Frasch (2015) était de 4.4 Hz \pm 0.3 en stabilité (224). Cependant, les valeurs de ces études sont très variables, probablement en raison des petits effectifs étudiés et de la fluctuation des valeurs de SEF avec les cycles veille sommeil, la SEF étant haute lors du sommeil agité (ARBA) et basse lors du sommeil lent (ALHA). Ces fluctuations de SEF pouvaient également être observées dans nos tracés (figure II.14).

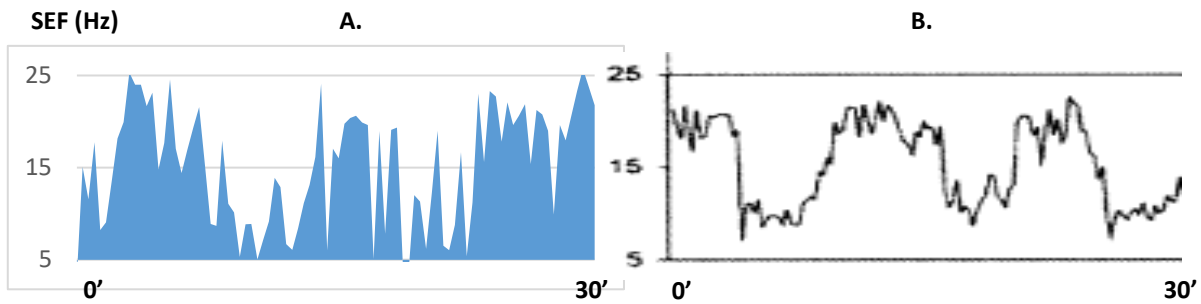
Figure II.14 – SEF en phase de stabilité : comparaison avec la littérature.

A – Exemple de courbe de SEF d'un fœtus témoin à 129 jours de gestation (*brebis a* de la figure II.6).

B – Exemple de courbe de SEF d'un fœtus témoin de 130 jours de gestation dans l'étude de Pulgar et al. (303).

Concernant l'amplitude, les études antérieures utilisent plutôt des mesures de l'amplitude moyenne que de l'amplitude minimale alors que cette dernière est moins sensible aux artefacts en théorie. De même, nous avons dû éliminer notre marqueur d'amplitude maximale de l'analyse car il était trop sensible aux artefacts. Néanmoins, lors de la présence d'artefacts importants, le logiciel ne parvenait pas à calculer l'Index d'Amplitude minimal et rendait une valeur de 0.1 μ V.

Dans l'étude de Frasch (2015), les valeurs moyennes d'amplitude en stabilité étaient de 127 \pm 14 μ V à partir des ECOG et 37 \pm 4 μ V à partir des EEG.



Enfin, les études antérieures n'utilisent pas de marqueur mesurant la discontinuité du signal mais nos valeurs de BSR étaient quasiment nulles chez les témoins et en stabilité, correspondant au signal continu décrit visuellement. Un seul tracé de la cohorte anoxie avait un BSR médian haut (26%) dès la phase de stabilité mais les valeurs de BSR étaient très variables sur les 30 minutes analysées (entre 7 et 88%) et les valeurs d'amplitude étaient normales. Visuellement, ce tracé était effectivement un peu discontinu dès la phase de stabilité alors que le fœtus ne présentait aucune lésion à l'analyse anatomopathologique.

III. Réponse fœtale à l'anoxo-ischémie

III)1. Données hémodynamiques et biologiques

Comme attendu dans ce modèle (42,121,257), les occlusions de cordon entraînaient l'apparition d'une acidose progressive, à la fois respiratoire et métabolique, se majorant avec la sévérité des phases jusqu'à une acidose sévère (pH 6.98) avec une hypercapnie (64.9 mmHg) et une hyperlactatémie (15.9 mmol/l). La PaO₂ ne différait pas entre les 3 phases, ce qui indique que l'oxygénation fœtale revenait à la norme à la levée de l'occlusion.

L'évolution des marqueurs hémodynamiques reflétait les mécanismes cardio-vasculaires d'adaptation à l'hypoxie aiguë précédemment décrits chez le fœtus de brebis. Dès la phase légère, les occlusions étaient toutes associées à une bradycardie concomitante et la pression artérielle moyenne entre les occlusions (plateaux) augmentait en phase B et C par rapport à la phase de stabilité. En effet, l'hypoxie stimule les chémorécepteurs carotidiens et aortiques entraînant une vasoconstriction périphérique, médiée notamment par la libération de catécholamines, et une majoration de la pression artérielle, qui va stimuler le baroréflexe induisant un ralentissement de la fréquence cardiaque via la réponse parasympathique

(18,42,304,305). Ceci va permettre la redistribution du flux sanguin aux organes centraux et le maintien de la perfusion cérébrale.

Secondairement, une hypotension artérielle survenait durant les occlusions sévères, indiquant alors la défaillance des mécanismes adaptatifs cardio-vasculaires avec une altération de la fonction cardiaque secondaire à l'hypoxie tissulaire, à l'acidose, à l'épuisement du glycogène myocardique et aux lésions des cardiomyocytes ainsi qu'à la perte de la vasoconstriction périphérique initiale (36,37,39–42). Yumoto et al. montrent ainsi une diminution de la contractilité myocardique dès que le pH diminue en-dessous de 7.20 (40). L'analyse de ces données hémodynamiques a été approfondie dans le travail de thèse du Dr Louise Ghesquière.

III)2. Données EEG

Phases d'occlusions

De façon générale, les occlusions de cordon entraînaient une diminution voire une suppression rapide du signal EEG de façon concomitante, identifiable visuellement et quantitativement sur la plupart des tracés. Par rapport aux témoins, le BSR per-occlusion était significativement plus haut dès la phase A, reflétant la suppression de l'activité cérébrale durant l'occlusion. Les valeurs de BSR n'étaient pas très élevées mais elles étaient probablement diminuées par les artefacts intermittents pouvant survenir durant les occlusions. De plus, nous avons paramétré le seuil de discontinuité du BSR à 10 μ V mais un seuil supérieur aurait peut-être été plus discriminant. La SEF ne différait des témoins qu'en phase sévère (diminution). La différence d'amplitude n'était pas significative mais des ondes de grande amplitude survenaient généralement en début d'occlusion suivies rapidement d'une baisse d'amplitude. La médiane de l'amplitude minimale durant l'occlusion n'était donc pas un bon marqueur de réponse immédiate à l'anoxie. De plus, seule la dernière occlusion de chaque phase était analysée quantitativement et il n'y avait que 3 mesures de chaque marqueur par occlusion de 1 minute, ce qui pouvait entraîner un manque de précision.

Concernant l'évolution selon la sévérité des occlusions : plus les occlusions étaient rapprochées (sévéres), plus elles avaient tendance à modifier le signal EEG. Ainsi, lors des

occlusions sévères, on retrouvait un pic de BSR, une diminution de la SEF et un effondrement de l'index d'amplitude (sauf 3 tracés). Il n'y avait généralement pas d'artefacts ou très peu en phase sévère, la médiane de l'IA min à 0.1 μV en phase C n'était donc pas due à la présence d'artefacts mais bien à la diminution de l'amplitude. Seule la diminution de la SEF en phase C était significative mais les analyses étaient réalisées sur un petit effectif de fœtus ($n=9$) et l'évolution des données qEEG était variable selon les fœtus. En effet, certains fœtus présentaient des modifications EEG dès les occlusions légères alors que d'autres ne répondaient qu'à partir des occlusions sévères.

Par ailleurs, une altération globale des tracés EEG pouvait être observée visuellement suivant la sévérité des phases d'occlusion, avec une diminution d'amplitude et un ralentissement progressifs du signal, qui ne se normalisait plus entre les occlusions sévères dans certains tracés.

L'analyse de la SEF globale sur les phases entières montrait ainsi une diminution significative et donc un ralentissement du signal dès la phase B et surtout en phase C par rapport la phase de stabilité et la phase A alors qu'il n'y avait pas de différence de SEF entre les différentes phases chez les témoins. L'amplitude globale avait également tendance à diminuer, surtout en phase C, mais la différence n'était pas significative du fait d'une variabilité importante entre les tracés et probablement de la survenue intermittente d'artefacts. Enfin, l'augmentation globale du BSR dès la phase B était probablement liée à la suppression du signal per-occlusion, celles-ci étant plus rapprochées, car visuellement le signal ne paraissait pas discontinu entre les occlusions.

Au total, on retrouvait donc principalement :

- une **suppression du signal EEG per-occlusion** reflétant une diminution rapide de l'activité cérébrale lors de l'anoxo-ischémie aiguë, avec des pics de BSR dès les occlusions légères pour certains fœtus, se majorant nettement lors des occlusions sévères.
- une **diminution d'amplitude et un ralentissement global progressifs du signal**, surtout en phase d'occlusions sévères.

Ainsi, le BSR semblait être un bon marqueur de la réponse cérébrale directe à l'occlusion de cordon, alors que l'index d'amplitude minimal et surtout la SEF reflétaient mieux l'altération globale du signal survenant lors de la répétition de ces occlusions de plus en plus rapprochées.

Dans la littérature, des résultats comparables ont été retrouvés à partir des ECOG enregistrés lors de protocoles expérimentaux d'anoxo-ischémie chez des fœtus de brebis. Cependant, ces études antérieures utilisent des protocoles différents et des fœtus d'âge gestationnels variables.

Lors des protocoles d'anoxo-ischémie prolongée (occlusion carotidienne bilatérale ou occlusion cordonale complète de plus de 5 minutes), une suppression du signal est retrouvée immédiatement ou à partir d'un délai de 30 à 90 secondes selon les études (26,306,307), avec une diminution de l'amplitude moyenne, de la SEF et de la puissance totale des tracés (58,122,307–311). Par exemple dans l'étude de Pulgar (2007) chez des fœtus de 120 jours de gestation, la SEF diminuait de 13.6 ± 1.6 Hz en moyenne à 10.6 ± 0.8 Hz lors d'occlusions cordonales totales de 5 minutes (222).

Les études utilisant des protocoles d'occlusions cordonales courtes et répétées comparables au notre montrent également un aplatissement du signal et une diminution de la SEF de façon concomitante aux occlusions et dépendant de leur sévérité (42,224,226,227). La discontinuité du signal n'avait par contre pas encore été étudiée. Dans l'étude de Frasch (2011), avec le même protocole que le nôtre chez des fœtus de terme identique, l'amplitude moyenne des ECOG passait de 88 ± 13 μ V en stabilité à 90 ± 27 μ V per-occlusions légères, 81 ± 21 μ V per-occlusions modérées et 60 ± 12 μ V per-occlusions sévères. De même, la SEF diminuait de $14,4 \pm 0,4$ Hz en stabilité à $14,1 \pm 2,1$ Hz per-occlusions légères, $11,2 \pm 0,9$ Hz per-occlusions modérées et $9,9 \pm 1,1$ per-occlusions sévères. Seules les valeurs per-occlusions sévères étaient significativement plus basses que les valeurs de stabilité. La récupération était rapide entre les occlusions (42).

A la fin des occlusions sévères, l'équipe de Frasch rapporte un pattern de synchronisation EEG-ECG avec une diminution d'amplitude et un pic de SEF concomitant à la bradycardie et corrélé à la survenue d'une hypotension artérielle, environ 1 heure avant l'apparition d'une acidose sévère (42,224,227). Les auteurs suggèrent que ce pattern pourrait être lié à une augmentation relative des fréquences rapides par la prédominance de l'activité des

interneurones inhibiteurs GABA capables d'oscillations haute fréquence, mais ne présentent pas de tracé brut pour vérifier leur hypothèse (42). A notre avis, le pic de SEF autour de 25 Hz pourrait être directement lié à la suppression du signal, en raison du mode de calcul de la SEF lorsque le tracé est inactif, tel que décrit dans la première partie clinique de ce travail. Néanmoins, nous n'avons pas retrouvé de pic de SEF concomitant aux occlusions sévères lors de l'analyse quantitative de nos tracés.

Une diminution progressive de la SEF est également retrouvée entre les occlusions de sévérité croissante dans des études utilisant des protocoles d'occlusions répétées (42,121,224).

Concernant l'amplitude, les résultats sont controversés : l'étude de De Haan et al. montre une diminution progressive de l'amplitude du tracé lors des occlusions (1'/2.5' chez des fœtus de 126 jours de gestation) alors que l'équipe de Frasch ne retrouve pas de modification voire une augmentation de l'amplitude globale avec la sévérité des phases d'occlusions. Ce dernier résultat pourrait être lié à une perturbation des cycles veille-sommeil du fœtus. En effet, certaines études suggèrent que les occlusions répétées pourraient entraîner une augmentation de l'activité lente de grande amplitude (42,223,306).

Récupération

Seul le BSR diminuait à nouveau de façon significative en phase de récupération car la discontinuité du signal détectée en phase C était probablement liée aux discontinuités per-occlusions. L'amplitude et la SEF avaient tendance à ré-augmenter mais la différence n'était pas significative et il n'y avait pas non plus de différence avec les témoins. En effet, l'évolution des tracés en phase de récupération variait : certains tracés semblaient se normaliser rapidement après la fin des occlusions avec un enrichissement du signal et la reprise d'une labilité alors que d'autres restaient anormaux plus longtemps. De plus, des épisodes d'ondes lentes rythmiques survenaient dans certains tracés, pouvant correspondre à des crises, ce qui était susceptible de modifier les valeurs quantitatives des marqueurs étudiés (notamment la SEF).

Les études antérieures montrent généralement une normalisation rapide de l'amplitude et de la SEF après les phases d'occlusions courtes répétées (42,121,224). Dans l'étude de Kaneko et al. qui réalisent 4 occlusions de 4'/90' chez des fœtus proches du terme, le premier stade cycle

veille-sommeil est identifiable environ 37 minutes après la fin de la dernière occlusion (26). De Haan et al. montrent néanmoins que la durée de normalisation de l'EEG en phase de récupération est associée à la sévérité des lésions cérébrales : les fœtus présentant peu de neurones ischémiés récupéraient des cycles veille-sommeil en 225 ± 102 min alors que ceux présentant des infarctes sévères récupéraient en 738 ± 625 min après des occlusions courtes répétées (121).

Après une hypoxie prolongée (occlusions longues), la durée avant la normalisation des marqueurs qEEG dépend de la longueur de l'occlusion. Dans l'étude de Keogh et al., la puissance totale se normalise à H5, la SEF à H26 et la continuité du signal à H13 après une occlusion cordonale de 15 minutes alors qu'une activité lente anormale persiste après une occlusion de 25 minutes avec l'apparition de crises à partir de H6 (57). La persistance d'une activité anormale prolongée (>H6) en phase de récupération semble associée aux lésions cérébrales (57,69,122,149).

Certaines études rapportent également des crises en phase de récupération mais seulement en cas d'occlusions prolongées ou chez des fœtus préalablement exposés à une hypoxie chronique (46,57,58,226,311). Ces crises sont décrites généralement à partir de H6-8 (46,57,58). Cependant, De Haan et al. décrivent des éléments paroxystiques dès la phase d'occlusions et au début de la phase de récupération, associées à la sévérité des lésions (121). De même, Abbasi et al. décrivent des éléments paroxystiques (pointes, ondes aigues) pendant la phase initiale de récupération (H0-H6) après une occlusion de 25 minutes, prédictifs de la survie neuronale (312).

Nb : Sacrifice

Nous avons rapporté une modification rapide des tracés après l'injection intraveineuse maternelle de T61® avec une diminution progressive du signal et obtention d'un tracé inactif (BSR > 95%) au bout de 7 minutes en moyenne mais avec des variations interindividuelles importantes (1 à 20 minutes). A noter que la SEF évoluait en deux temps avec une diminution initiale correspondant au ralentissement du tracé puis une augmentation jusque quasiment 30 Hz correspondant à la suppression du signal comme décrit dans la première partie clinique de ce travail. A notre connaissance, il n'existe pas d'analyses similaires dans la littérature.

IV. Lésions anoxo-ischémiques cérébrales

La plupart des fœtus de la cohorte anoxie avaient des lésions cérébrales mais il y avait une grande variabilité dans le nombre de neurones ischémiés et leur localisation anatomopathologique. Les lésions corticales étaient prédominantes. Deux fœtus n'avaient aucune lésion, un fœtus n'avait que des lésions cérébelleuses et un autre uniquement des lésions sus-tentorielles. Les cinq autres avaient tous des lésions dans le cortex, les noyaux gris centraux et le cervelet.

Le rapport des lésions avec les paramètres biologiques et hémodynamiques a été analysé dans le travail de thèse du Dr Louise Ghesquière. Le nombre total de lésions était corrélé significativement à la fréquence cardiaque per-occlusion en phase B ($p=0.008$), à l'hypotension artérielle per-occlusion en phase C ($p=0.007$) mais n'était pas corrélé aux modifications gazométriques.

Les fœtus avec le moins de lésions cérébrales semblaient avoir une plus grande suppression du signal EEG per-occlusion. En effet, le nombre de neurones ischémiés avait tendance à être inversement corrélé à l'augmentation du BSR, bien que cette corrélation soit non significative et les deux fœtus ne présentant aucune lésion avaient un BSR per-occlusion sévère un peu plus élevé que les autres (26% et 32%).

Au contraire, l'altération globale du signal (ralentissement et diminution d'amplitude) semblait plus importante chez les fœtus plus sévèrement atteints : le nombre de neurones ischémiés avait tendance à être corrélé à une diminution de la SEF et de l'amplitude, significative pour la SEF en phase sévère. Les fœtus ayant plus de 20 neurones ischémiés avaient tous une SEF très basse (< 5 Hz) en phase C, alors que les deux fœtus sans lésion avaient des valeurs de SEF plus élevées (> 10 Hz).

Malheureusement ces analyses n'ont pas pu être confirmées par une comparaison avec les cerveaux témoins, leur analyse anatomopathologique sera prévue cette année.

Les études antérieures chez le fœtus de brebis proche terme rapportent des lésions prédominant dans le cortex parasagittal et le cervelet suite à des occlusions de cordon prolongées comme suite à des occlusions courtes répétées, alors que les noyaux gris centraux

et l'hippocampe semblent mieux préservés (46,58,121,310,313). De plus, ces études montrent que la présence de lésions est associée à la survenue d'une hypotension artérielle durant l'anoxie, davantage qu'à la sévérité de l'hypoxie (121,313).

En effet, ces régions cérébrales sont situées dans des zones jonctionnelles entre les principales artères cérébrales, où la pression de perfusion est plus faible, et sont donc particulièrement sensibles à l'hypoperfusion cérébrale.

Ces études ont montré que la perte neuronale était associée à la diminution de l'amplitude et de la SEF en phase aiguë d'anoxie, lors d'une occlusion prolongée (122,149,150,313) comme lors d'occlusions intermittentes répétées (121). Le rapport entre les modifications du signal per-occlusion courte (1 minute) et la présence de lésions cérébrales n'avaient par contre pas encore été étudié à notre connaissance.

V. Hypothèses physiopathologiques

L'augmentation du BSR per-occlusion, survenant dès les occlusions légères, était corrélée à la bradycardie per-occlusion et à la majoration de la tension artérielle globale chez les fœtus de la cohorte anoxie. De plus, comme nous l'avons vu, cette discontinuité per-occlusion semblait plus marquée et plus précoce chez les fœtus avec le moins de lésions. La suppression du signal EEG per-occlusion semble ainsi refléter un mécanisme adaptatif actif rapide de neuroprotection, en parallèle de l'adaptation cardio-vasculaire, et participant au maintien des besoins énergétiques cérébraux. En effet, les études expérimentales animales ont pu montrer que lors de l'anoxie aiguë, la transmission synaptique était rapidement inhibée par l'intermédiaire de neuromodulateurs inhibiteurs (28–31,33). Comme nous l'avons vu, cette « extinction » de l'activité cérébrale permet de diminuer l'énergie consommée par le transport ionique potassium-sodium qui accompagne la génération des potentiels synaptiques, et donc le métabolisme cérébral (28–31,33), bien que les mécanismes précis de ces phénomènes restent à élucider. En parallèle, la réponse d'autorégulation cérébrale à l'hypoxie aiguë dépend des mécanismes d'adaptation cardio-vasculaires, qui permettent une redistribution centrale du flux sanguin grâce à la vasoconstriction périphérique et l'hypertension artérielle, et donc le maintien de la perfusion cérébrale dans un premier temps. Par contre, lorsque l'occlusion se prolonge (> 5 minutes), la suppression du signal EEG semble

être associée à la perte neuronale dans les études précédentes et serait alors un marqueur de sévérité. En effet, l'inhibition de l'activité cérébrale lors de l'occlusion permet de protéger le cerveau de l'ischémie mais lorsque la perfusion cérébrale diminue en-dessous d'un seuil critique, ce mécanisme neuroprotecteur ne suffit plus et des lésions anoxo-ischémiques aiguës se constituent.

Par ailleurs, l'altération globale du signal (diminution d'amplitude et ralentissement) en phase d'occlusions sévères était corrélée à l'acidose, à l'hypotension artérielle et semblait plus marquée chez les fœtus avec un nombre élevé de neurones ischémiés. Cette altération du signal semble donc associée à la défaillance des mécanismes d'adaptation cardio-vasculaire. Comme nous l'avons vu, cette défaillance survient lors de l'acidose sévère, entraînant une hypoperfusion cérébrale. Lors d'occlusions de 4 minutes répétées toutes les 90 minutes chez des fœtus de brebis, Kaneko et al. montrent ainsi une majoration du flux sanguin cérébral et de la pression de perfusion durant les premières occlusions, plus importante en sous-cortical et dans le tronc cérébral que dans le cortex, alors que la pression augmente plus faiblement voire diminue en fin d'occlusion lorsque les occlusions sont répétées (26).

L'altération globale du signal pourrait être ainsi le reflet d'une réponse adaptative cérébrale plus marquée du fait de l'hypoperfusion cérébrale et persistant entre les occlusions, voire le reflet de la dépolarisation cérébrale anoxique. Il s'agirait alors de l'apparition d'une souffrance cérébrale suite à l'atteinte du seuil ischémique en-dessous duquel les mécanismes d'auto-régulation cérébrale ne suffisent plus, l'hypoperfusion cérébrale étant alors responsable de la constitution de lésions. Lotgering et al. montrent ainsi une perte de l'auto-régulation cérébrale à partir de 4 minutes d'occlusion cordonale totale chez des fœtus proches du terme, en rapport avec l'hypotension artérielle (45) et nous pouvons supposer que le même phénomène se produit lorsque des occlusions courtes sont très rapprochées, comme dans la phase sévère de notre protocole. Ainsi, De Haan et al. rapportent en parallèle de la diminution d'amplitude du signal, une augmentation de l'impédance corticale traduisant l'apparition d'un œdème cytotoxique dès le début de leur protocole d'occlusions courtes répétées et persistant au début de la phase de récupération (121).

Par ailleurs, la diminution globale de l'amplitude et de la SEF étaient également corrélées à l'acidose, principalement respiratoire. L'association directe entre la suppression du signal EEG

foetal et l'acidose sévère avait déjà été rapportée précédemment chez le fœtus (314) et l'altération du signal EEG décrite pourrait être directement liée à un effet délétère de l'acidose sur le cerveau. Au contraire, des études récentes ont montré que l'hypercapnie diminuait l'excitabilité neuronale avec un effet neuroprotecteur (315–317).

Au-delà de la sévérité du mécanisme d'anoxo-ischémie, la constitution de lésions cérébrales anoxo-ischémiques semble donc dépendre de la réponse adaptative du fœtus et de ses capacités à maintenir les besoins énergétiques cérébraux en phase aiguë. En effet, nous avons pu relever une certaine variabilité de réponse cérébrale aux occlusions selon les fœtus, également rapportées dans des études précédentes (42,121,318).

Ainsi, lors d'occlusions carotidiennes prolongées (30 minutes) dans l'étude de Fraser et al., certains fœtus ne présentaient qu'une diminution légère de l'amplitude et de la SEF sur les ECOG alors que d'autres présentaient une suppression profonde du signal durant l'occlusion (122).

Cette variabilité de réponse selon les fœtus semble surtout liée à une variabilité dans les capacités foetales d'adaptation cardio-vasculaire, avec des phénotypes individuels de réponse cardio-vasculaire aux occlusions intermittentes répétées (42,121,318).

Par exemple, l'hypoxémie chronique préalable semble particulièrement délétère sur l'adaptation à l'anoxo-ischémie aiguë lors d'une occlusion prolongée, celle-ci entraînant alors une acidose plus rapide et profonde, une chute de la tension artérielle plus précoce, une suppression plus importante de l'activité EEG, une baisse du flux carotidien et de la délivrance cérébrale en oxygène, une majoration plus importante de l'impédance corticale et une plus grande perte neuronale chez le fœtus de brebis (222,303). Lors d'occlusions intermittentes répétées, Frasch et al. rapportent également une suppression du signal EEG per-occlusion plus précoce chez des fœtus de brebis sains que chez des fœtus préalablement exposés à une hypoxémie légère chronique mais le rapport avec les lésions cérébrales n'y est pas étudié (42). De même, dans l'étude de Wassink et al., le signal EEG ne se normalise pas entre des occlusions de cordon de 1 minute répétées toutes les 6 minutes chez des fœtus de 125 jours de gestation exposés à une hypoxémie préalable, contrairement aux fœtus sains (226).

Bien que les opérations des fœtus de la cohorte anoxie se soient toutes bien passées, il faudra vérifier par l'analyse anatomopathologique des fœtus témoins que la chirurgie n'est pas à l'origine d'une hypoxémie préalable chez certains fœtus, ce qui pourrait expliquer en partie la variabilité des réponses cérébrales.

Le « réservoir » des capacités d'adaptation de chaque fœtus ne dépend donc pas seulement de la cause et du mécanisme de l'anoxie aiguë mais également de nombreux facteurs comme la maturation fœtale, le poids du fœtus, la présence d'une grossesse multiple, l'exposition à une hypoxémie chronique préalable, la réserve aérobie ou encore la température maternelle (figure II.15) (2).

Figure II.15 – Adaptation fœtale à l'hypoxie périnatale

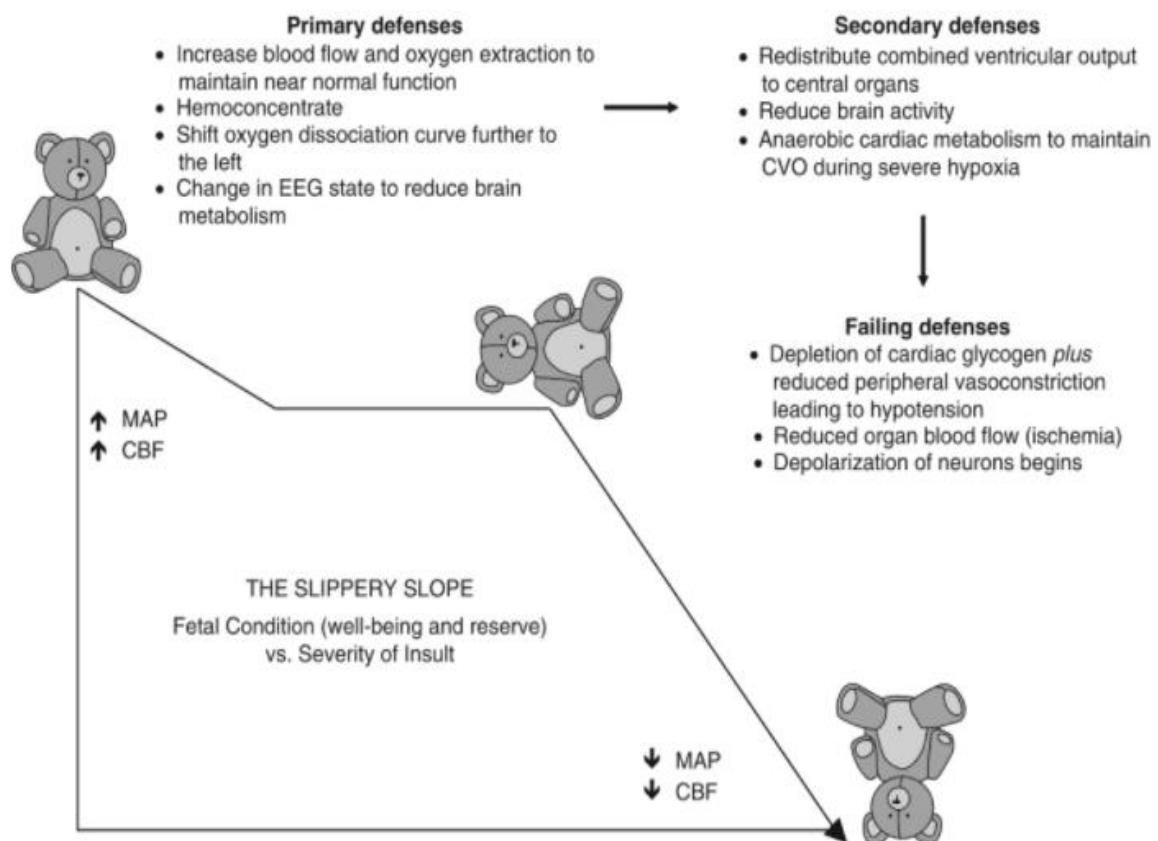


Figure 13.10 The slippery slope. A conceptual outline of fetal adaptations to episodes of asphyxia. The impact of asphyxia on the fetus depends greatly on the quality of fetal adaptation, which certainly depends partly on the severity of the insult and how long it has continued, but also where the fetus starts on the slope, that is, its preexisting reserves. With a sufficiently severe insult, for example, very frequent, more prolonged contractions, even a very healthy fetus will ultimately become profoundly acidotic and develop intermittent hypotension, but only after a prolonged period where cerebral and cardiac perfusions are maintained. In contrast, a chronically hypoxic fetus or one that has had recent exposure to hypoxia and so has depleted its cardiac glycogen may develop hypotension from very shortly after the start of the insult.

Figure extraite du livre *Stevenson et al. « Fetal and Neonatal Brain Injury. » Cambridge University Press 2017* (2)

Au final, le challenge n'est pas seulement de reconnaître les fœtus exposés à une hypoxie aiguë lors de l'accouchement mais surtout de détecter ceux dont les capacités d'adaptation deviennent insuffisantes et dans cet objectif, l'EEG fœtal semble donc particulièrement informatif, permettant un monitoring continu de l'activité cérébrale fœtale.

Nos marqueurs qEEG, en particulier la SEF, pourraient ainsi être utilisés comme des marqueurs prédictifs d'ischémie cérébrale lors de la défaillance des mécanismes adaptatifs, et donc du risque de développement d'une encéphalopathie anoxo-ischémique.

Cependant, ces premiers résultats devront être confirmés par d'autres études. En effet, du fait de l'utilisation de modèles animaux et pour des raisons éthiques, les analyses statistiques n'ont pu être réalisées que sur des effectifs limités, bien que comparables aux effectifs retrouvés dans la littérature. En outre, les données qEEG per-anoxiques ont pu être comparées avec celles d'une cohorte de témoins mais l'analyse anatomopathologique cérébrale de ces derniers reste à réaliser afin d'étayer nos hypothèses.

Si la valeur prédictive de nos marqueurs qEEG se confirme, ils pourront servir dans le futur à l'élaboration d'un outil permettant de monitorer directement la fonction cérébrale durant l'accouchement humain, afin de détecter en temps réel le risque d'EAI. Ceci permettrait de prévenir au plus tôt la constitution des lésions anoxo-ischémiques selon un seuil interventionnel à définir. Pour cela, des techniques d'enregistrement EEG fœtal utilisables chez l'humain devront être développées.

VI. Perspectives

Actuellement, il n'existe pas encore de système d'enregistrement EEG fœtal utilisable en routine lors de l'accouchement chez l'humain. Cependant, des tentatives prometteuses ont été réalisées depuis de nombreuses années, récemment résumées dans la revue de Castel et al (319). Ainsi, en 1955, Bernstine et al. parviennent en premier à enregistrer du signal EEG chez le fœtus humain, à l'aide d'électrodes mises en place sur l'abdomen de la maman et le scalp du fœtus (320). En 1969, Rosen et Scibetta utilisent des électrodes ventouses placées sur le cuir chevelu du fœtus par voie transvaginales après rupture de la poche des eaux (321). Depuis, d'autres équipes ont réussi à enregistrer l'activité cérébrale fœtale grâce à des électrodes posées sur le scalp et à analyser quantitativement le signal lors de contractions

utérines, de l'anesthésie péridurale ou de l'administration de médicaments (225,314,322–328). Rosen et al. retrouvent ainsi une diminution du signal EEG fœtal lors de bradycardies fœtales causées par les contractions utérines tardives (rapprochées) avec un ralentissement de l'activité jusqu'à un signal inactif puis une récupération rapide (329). De même, Djelmis et al. retrouvent une diminution d'amplitude et un ralentissement du tracé lors d'une hypoxie fœtale avec acidose, plus précoce chez les nouveau-nés ayant un examen neurologique pathologique à la naissance (330). Bien que ces études montrent que l'enregistrement d'un tracé EEG est possible chez le fœtus en *per-partum*, elles n'ont été réalisées que sur des petits effectifs de patients et les techniques d'enregistrement proposées ne fournissent pas un signal de qualité en raison du petit nombre d'électrodes utilisable, de l'atténuation du signal par le scalp mouillé du fœtus et de la présence de nombreux artefacts. De plus, celles-ci utilisent des techniques anciennes d'enregistrement et d'analyse quantitative EEG, leurs résultats seraient à confirmer avec nos techniques récentes.

D'autres équipes se sont davantage concentrées sur des techniques d'enregistrement de magnétoencéphalographie *in utero*. Cette technique, décrite pour la première fois par Blum et al. (331), a été ensuite perfectionnée par l'équipe d'Eswaran et al. (332). Elle a également permis à ces équipes d'étudier la maturation cérébrale fœtale humaine (333,334).

Enfin, comme pour la partie clinique, nos marqueurs qEEG pourront être associés à des marqueurs de variabilité de la fréquence cardiaque afin d'améliorer la détection prénatale des fœtus à risque d'EAI. En particulier, le Fetal Stress Index (FSI), un algorithme d'analyse de la variabilité de la fréquence cardiaque développé au CHRU de Lille, est associé à l'acidose fœtale dans des modèles expérimentaux d'anoxie provoquée chez le fœtus de brebis (286) ainsi qu'aux lésions du tronc cérébral (thèse du Dr Louise Ghesquière, en cours de publication). Des variations plus importantes du FSI chez les fœtus humains présentant une acidose ont également été montrées à partir de 552 enregistrements cardiotocographiques dans une étude préliminaire rétrospective réalisée récemment par notre équipe (335,336).

CONCLUSION

Cette partie expérimentale nous a donc permis à la fois de valider une nouvelle technique d'acquisition EEG en intra-utérin chez le fœtus de brebis et d'apporter des informations visuelles et quantifiées sur la réponse cérébrale immédiate du fœtus à l'anoxo-ischémie intermittente.

Cette nouvelle technique d'enregistrement EEG à l'aide d'électrodes supra-osseuses semble être une bonne alternative à la technique princeps décrite dans la littérature : plus simple, moins invasive, elle permet d'obtenir des résultats a priori comparables.

La suppression du signal per-occlusion correspondrait à un mécanisme rapide d'adaptation cérébrale à visée neuroprotectrice et l'altération progressive du signal (diminution d'amplitude et ralentissement) lors des occlusions rapprochées refléterait plutôt le retentissement neurologique de l'hypoperfusion cérébrale liée à la défaillance des mécanismes d'adaptation cardio-vasculaires avec la survenue d'une hypotension artérielle.

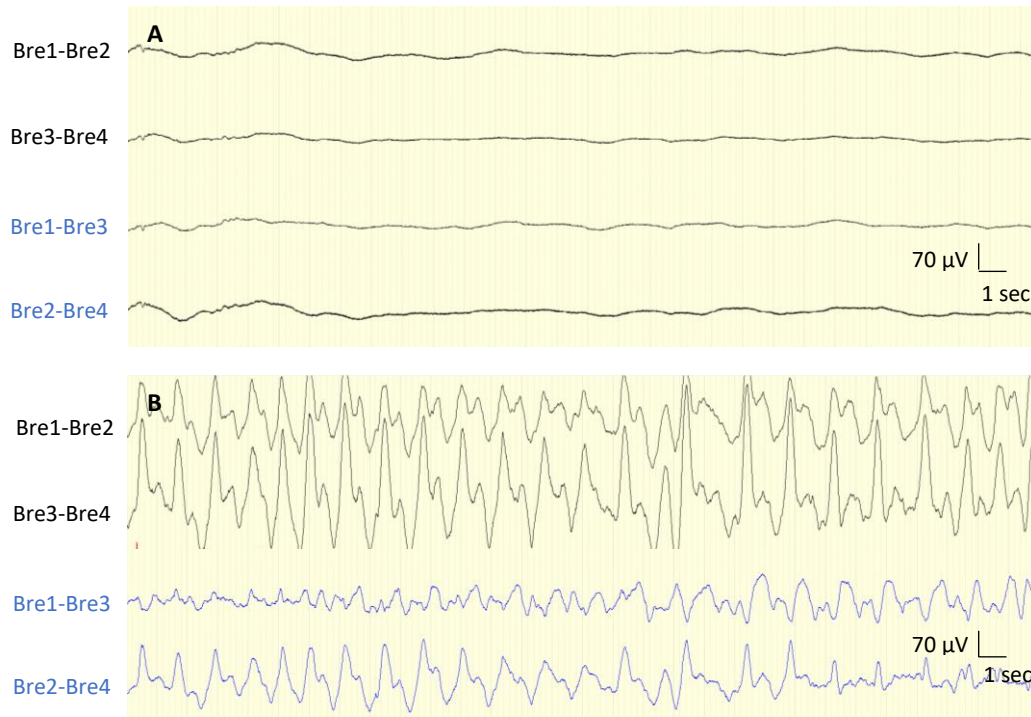
Nos marqueurs qEEG, en particulier la SEF, pourraient être utilisés pour prédire en temps réel la défaillance des mécanismes adaptatifs du fœtus à l'anoxo-ischémie et donc le risque d'EAI. Cependant, ces résultats préliminaires doivent être confirmés par d'autres études et une technique d'enregistrement EEG en *per-partum* chez le fœtus humain reste à développer avant de pouvoir imaginer un outil de monitoring de la fonction cérébrale fœtale utilisable en pratique.

ANNEXE II

A.1 - Tracés EEG des fœtus de brebis exclus.

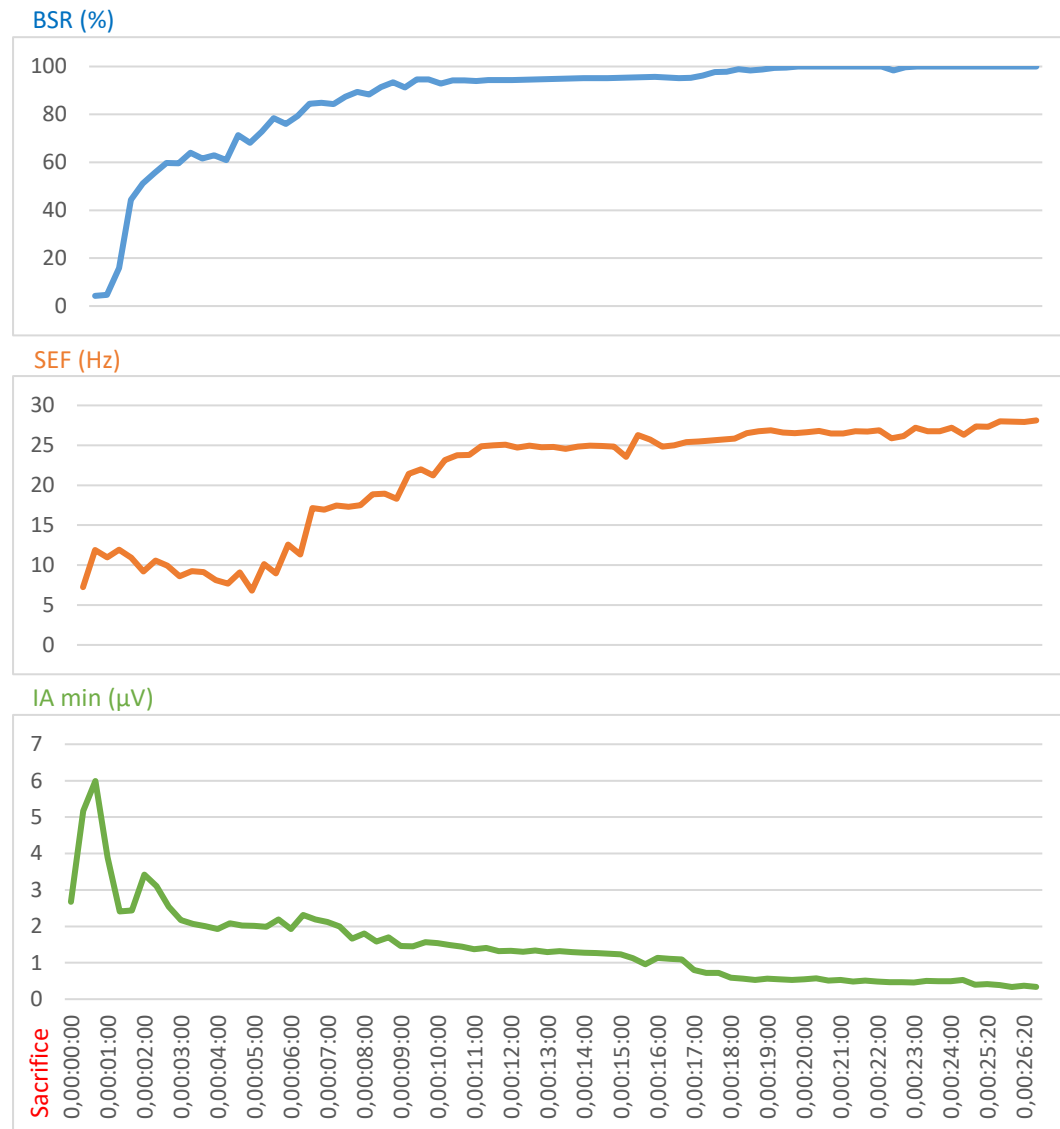
A - Fœtus décédé en début de protocole expérimental : extrait du tracé enregistré lors de l'asystolie du fœtus. A noter l'absence d'artefact d'origine maternelle sur ce tracé.

B - Fœtus présentant des lésions cérébrales sévères antérieures au protocole : tracé d'état de mal permanent.



A.2 - Evolution des marqueurs après le sacrifice.

Courbe de la moyenne de chaque marqueur chez les fœtus sacrifiés de la cohorte anoxie (n=8) à partir du sacrifice maternel (à t0).



IA min : Index d'Amplitude minimal (μV) ; BSR : Burst Suppression Ratio (%) ; SEF : Spectral Edge Frequency (Hz)

A.3 - Fréquence, SEF, amplitude et durée/distribution des patterns EEG décrits dans les cycles veille-sommeil chez le fœtus de brebis proche terme dans 10 études.

Les marqueurs sont décrits par les valeurs minimales-maximales ou la moyenne.

ARBA : activité rapide de basse amplitude ; ALHA : activité lente de haute amplitude ; SA : sommeil agité ; EV : état de veille ; SC : sommeil calme

Etude	Age gestationnel	Pattern EEG	Fréquence (F) ou SEF (Hz)	Amplitude (μV)	Durée (min) / distribution (%)
Dawes 1972 (290)	128-150 jours	ARBA	F : 10-20 Hz	<25 μV	54-69%
		ALHA	F : 3-12 Hz	40-100 μV	31-46%
Jost 1972 (296)	135-148 jours	ARBA	F max : 20-25 Hz		Périodes de 4-20min - 30%
		ALHA	F : 3-5 Hz		
Ruckebusch 1972 (291)	120-150 jours	ARBA (SA)	F : 17-20 Hz	-	Périodes de 15.9 min 39.7% (38-40%)
		ARBA (EV)	F : 12-17 Hz	-	6.4%
		ALHA (SC)	F : 8-10 Hz	-	Périodes de 21.5 min 53.9% (51-54%)
Mann 1974 (297)	135-150 jours	ARBA	F : 15-23 Hz	15-40 μV	Périodes de 10-20 min - 50%
		ALHA	F : 1-3 Hz	200 μV	Périodes de 10-20 min - 50%
Ruckebusch 1977 (300)	130-150 jours	ARBA (SA)	F : 17-25 Hz	20-50 μV (parfois 50-100 μV)	1.01 à 1.17 x ALHA
		ARBA (EV)	F : 17-25 Hz	> SA	5-20 périodes de 2-15 min / 24h 5-12%
		ALHA (SC)	F : 3-5 Hz	100-200 μV	Périodes de 15-20 min/ cycles de 30 – 40 min 40%
Ioffe 1980 (298)	125-148 jours	ARBA (SA)	-	-	41.4%
		ARBA (EV)	-	-	Périodes < 2 min 5.6%
		ALHA (SC)	-	-	53%
Clewlow 1983 (279)	120-150 jours	ARBA	F : 17-35 Hz	-	-
		ALHA	F : 3-10 Hz	-	-
Szeto et Hinman 1985 (299)	130-145 jours	ARBA (SA)	-	-	Périodes de 11 min 38%
		ARBA (EV)	-	-	2-4 min
		ALHA (SC)	-	-	8 min
Richardson 1985 (337)	130-143 jours	ARBA	-	< 50 μV	Périodes de 18 min 56%
		ALHA	-	50-200 μV	14 min 44%
Szeto 1990 (338)	125 jours	ARBA	SEF : 13-23 Hz	-	-
		ALHA	SEF : 3-9 Hz	-	-

Lee 2009 (223)	125 ± 2 jours	ARBA	SEF : 10.9 ± 0.3 Hz	-	-
		ALHA	SEF : 7.6 ± 0.2 Hz	-	-
Rao 2009 (301)	125-137 jours	ARBA (SA)	-	< 50 µV	Périodes de 15 min 52%
		ARBA (EV)	-	-	13%
		ALHA (SC)	-	50-100 µV	Périodes de 11 min 36%
Keen 2011 (302)	121-126 jours	ARBA	SEF : 15 ± 1 Hz	57 ± 5 µV	-
		ALHA	SEF : 12 ± 1 Hz	102 ± 13 µV	-

CONCLUSION GENERALE

L'analyse quantitative des EEG néonataux post-anoxiques, à l'aide de marqueurs qEEG pertinents cliniquement et disponibles dans un logiciel utilisé en routine, nous a permis de décrire quantitativement la sévérité de ces tracés selon la classification française et de développer un modèle de classification automatique des EEG efficace dès la phase de latence post-anoxique (avant H6) pour discriminer les nouveau-nés nécessitant un traitement par hypothermie thérapeutique. Ce modèle peut également être utilisé plus tardivement lors de la phase secondaire (après H6) chez les enfants mis en hypothermie pour évaluer automatiquement l'évolution des tracés et donc le pronostic à plus long terme.

Ce modèle pourra servir à l'implémentation d'un outil d'évaluation automatique de la sévérité de l'EAI précoce à partir des EEG néonataux, utilisable au lit du malade pour aider les médecins dans les décisions thérapeutiques des premiers jours de vie après une anoxie périnatale, et notamment pour l'indication d'hypothermie thérapeutique avant H6.

L'utilisation de ces mêmes marqueurs qEEG nous a également permis d'étudier la réponse cérébrale fœtale *in utero* à l'anoxie aiguë afin de déterminer des marqueurs prénataux prédictifs des lésions anoxo-ischémiques cérébrales qui pourront être utilisés dans le futur pour le développement de nouveaux moyens de détection précoce et de prévention de l'EAI néonatale.

REFERENCES

1. Rainaldi MA, Perlman JM. Pathophysiology of Birth Asphyxia. *Clin Perinatol*. 2016 Sep;43(3):409–22.
2. Stevenson DK, Benitz WE, Sunshine P, Hintz SR, Druzin ML. *Fetal and Neonatal Brain Injury*. Cambridge University Press; 2017. 855 p.
3. Thornberg E, Thiringer K, Odeback A, Milsom I. Birth asphyxia: incidence, clinical course and outcome in a Swedish population. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. 1995 Aug;84(8):927–32.
4. Wu YW, Backstrand K, Zhao S, Fullerton H, Johnston S. Declining Diagnosis of Birth Asphyxia in California: 1991–2000. *Pediatrics*. 2004;
5. Pierrat V, Haouari N, Liska A, Thomas D, Subtil D, Truffert P, et al. Prevalence, causes, and outcome at 2 years of age of newborn encephalopathy: population based study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2005 May;90(3):F257–61.
6. Dzakpasu S, Joseph KS, Huang L, Allen A, Sauve R, Young D, et al. Decreasing diagnoses of birth asphyxia in Canada: fact or artifact. *Pediatrics*. 2009 Apr;123(4):e668-672.
7. Garne E, Vain-Nielsen N, Hansen AV, Fenger-Grøn J. Birth asphyxia in a Danish hospital uptake area was reduced after centralisation of deliveries. *Dan Med J*. 2018 Feb;65(2):A5443.
8. Lawn JE, Cousens S, Zupan J. 4 million neonatal deaths: When? Where? Why? *The Lancet*. 2005 Mar 5;365(9462):891–900.
9. Rebeille-Borgella B. Étude LyTONEPAL : cohorte nationale de nouveau-nés à terme ou proche du terme présentant une encéphalopathie anoxo-ischémique : évaluation de la prévalence et description de la population d'étude. 2018 Apr 6;63.
10. Volpe JJ. *Neurology of the Newborn E-Book*. Elsevier Health Sciences; 2008. 1109 p.
11. Volpe JJ. Neonatal encephalopathy: an inadequate term for hypoxic-ischemic encephalopathy. *Ann Neurol*. 2012 Aug;72(2):156–66.
12. Perlman M, Shah PS. Hypoxic-Ischemic Encephalopathy: Challenges in Outcome and Prediction. *J Pediatr*. 2011 Feb 1;158(2, Supplement):e51–4.
13. Thoresen M, Satas S, Puka-Sundvall M, Whitelaw A, Hallström Å, Løberg E-M, et al. Post-hypoxic hypothermia reduces cerebrocortical release of NO and excitotoxins. *NeuroReport*. 1997 Oct;8(15):3359.
14. Inder TE, Volpe JJ. Mechanisms of perinatal brain injury. *Semin Neonatol*. 2000 Feb 1;5(1):3–16.

15. Roth SC, Baudin J, Cady E, Johal K, Townsend JP, Wyatt JS, et al. Relation of deranged neonatal cerebral oxidative metabolism with neurodevelopmental outcome and head circumference at 4 years. *Dev Med Child Neurol*. 1997 Nov;39(11):718–25.
16. Hanrahan JD, Cox IJ, Azzopardi D, Cowan FM, Sargentoni J, Bell JD, et al. Relation between proton magnetic resonance spectroscopy within 18 hours of birth asphyxia and neurodevelopment at 1 year of age. *Dev Med Child Neurol*. 1999 Feb;41(2):76–82.
17. Itskovitz J, LaGamma EF, Rudolph AM. Heart rate and blood pressure responses to umbilical cord compression in fetal lambs with special reference to the mechanism of variable deceleration. *Am J Obstet Gynecol*. 1983 Oct 15;147(4):451–7.
18. Giussani DA, Spencer JA, Hanson MA. Fetal cardiovascular reflex responses to hypoxaemia. *Fetal Matern Med Rev*. 1994 Feb;6(1):17–37.
19. Bennet L, Westgate JA, Liu Y-C (“Jack”), Wassink G, Gunn AJ. Fetal acidosis and hypotension during repeated umbilical cord occlusions are associated with enhanced chemoreflex responses in near-term fetal sheep. *J Appl Physiol*. 2005 Oct 1;99(4):1477–82.
20. Lear CA, Galinsky R, Wassink G, Yamaguchi K, Davidson JO, Westgate JA, et al. The myths and physiology surrounding intrapartum decelerations: the critical role of the peripheral chemoreflex. *J Physiol*. 2016 Sep 1;594(17):4711–25.
21. Recher M, Prevost ALD, Sharma D, De Jonckheere J, Garabedian C, Storme L. Roles of parasympathetic outflow and sympathetic outflow in the cardiovascular response to brief umbilical cord occlusion in fetal sheep. *PLoS ONE*. 2021 Jul 6;16(7):e0254155.
22. Jensen A, Garnier Y, Berger R. Dynamics of fetal circulatory responses to hypoxia and asphyxia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1999 Jun;84(2):155–72.
23. Wassink G, Bennet L, Booth LC, Jensen EC, Wibbens B, Dean JM, et al. The ontogeny of hemodynamic responses to prolonged umbilical cord occlusion in fetal sheep. *J Appl Physiol Bethesda Md 1985*. 2007 Oct;103(4):1311–7.
24. Garabedian C, De Jonckheere J, Butruille L, Deruelle P, Storme L, Houfflin-Debarge V. Understanding fetal physiology and second line monitoring during labor. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2017 Feb;46(2):113–7.
25. Koehler RC, Jones MD, Traystman RJ. Cerebral circulatory response to carbon monoxide and hypoxic hypoxia in the lamb. *Am J Physiol*. 1982 Jul;243(1):H27–32.
26. Kaneko M, White S, Homan J, Richardson B. Cerebral blood flow and metabolism in relation to electrocortical activity with severe umbilical cord occlusion in the near-term ovine fetus. *Am J Obstet Gynecol*. 2003 Apr 1;188(4):961–72.
27. Richardson BS, Carmichael L, Homan J, Johnston L, Gagnon R. Fetal cerebral, circulatory, and metabolic responses during heart rate decelerations with umbilical cord compression. *Am J Obstet Gynecol*. 1996 Oct;175(4 Pt 1):929–36.

28. Newman JP, Peebles DM, Hanson MA. Adenosine Produces Changes in Cerebral Hemodynamics and Metabolism as Assessed by Near-Infrared Spectroscopy in Late-Gestation Fetal Sheep in Utero. *Pediatr Res*. 2001 Aug;50(2):217–21.
29. Hunter CJ, Bennet L, Power GG, Roelfsema V, Blood AB, Quaedackers JS, et al. Key neuroprotective role for endogenous adenosine A1 receptor activation during asphyxia in the fetal sheep. *Stroke*. 2003 Sep;34(9):2240–5.
30. Nguyen PN, Yan EB, Castillo-Melendez M, Walker DW, Hirst JJ. Increased allopregnanolone levels in the fetal sheep brain following umbilical cord occlusion. *J Physiol*. 2004 Oct 15;560(Pt 2):593–602.
31. Bennet L, Roelfsema V, Dean JM, Wassink G, Power GG, Jensen EC, et al. Regulation of cytochrome oxidase redox state during umbilical cord occlusion in preterm fetal sheep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2007 Apr;292(4):R1569-1576.
32. Yawno T, Yan EB, Hirst JJ, Walker DW. Neuroactive steroids induce changes in fetal sheep behavior during normoxic and asphyxic states. *Stress*. 2011 Jan 1;14(1):13–22.
33. Xu A, Durosier LD, Ross MG, Hammond R, Richardson BS, Frasch MG. Adaptive brain shut-down counteracts neuroinflammation in the near-term ovine fetus. *Front Neurol*. 2014;5:110.
34. Astrup J. Energy-requiring cell functions in the ischemic brain. Their critical supply and possible inhibition in protective therapy. *J Neurosurg*. 1982 Apr;56(4):482–97.
35. Chao CR, Hohimer AR, Bissonnette JM. The effect of elevated blood glucose on the electroencephalogram and cerebral metabolism during short-term brain ischemia in fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol*. 1989 Jul 1;161(1):221–8.
36. Fisher DJ. Acidaemia reduces cardiac output and left ventricular contractility in conscious lambs. *J Dev Physiol*. 1986 Feb;8(1):23–31.
37. Lewinsky RM. Cardiac systolic time intervals and other parameters of myocardial contractility as indices of fetal acid-base status. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol*. 1994 Sep;8(3):663–81.
38. Bennet L, Rossenrode S, Gunning MI, Gluckman PD, Gunn AJ. The cardiovascular and cerebrovascular responses of the immature fetal sheep to acute umbilical cord occlusion. *J Physiol*. 1999 May 15;517(Pt 1):247.
39. Gunn AJ, Maxwell L, de Haan HH, Bennet L, Williams CE, Gluckman PD, et al. Delayed hypotension and subendocardial injury after repeated umbilical cord occlusion in near-term fetal lambs. *Am J Obstet Gynecol*. 2000 Dec 1;183(6):1564–72.
40. Yumoto Y, Satoh S, Fujita Y, Koga T, Kinukawa N, Nakano H. Noninvasive measurement of isovolumetric contraction time during hypoxemia and acidemia: Fetal lamb validation as an index of cardiac contractility. *Early Hum Dev*. 2005 Jul 1;81(7):635–42.

41. Gunn AJ, Bennet L. Fetal Hypoxia Insults and Patterns of Brain Injury: Insights from Animal Models. *Clin Perinatol*. 2009 Sep 1;36(3):579–93.
42. Frasch MG, Keen AE, Gagnon R, Ross MG, Richardson BS. Monitoring fetal electrocortical activity during labour for predicting worsening acidemia: a prospective study in the ovine fetus near term. *PLoS One*. 2011;6(7):e22100.
43. Astrup J, Symon L, Branston NM, Lassen NA. Cortical evoked potential and extracellular K⁺ and H⁺ at critical levels of brain ischemia. *Stroke*. 1977 Feb;8(1):51–7.
44. Wassink G, Gunn ER, Drury PP, Bennet L, Gunn AJ. The mechanisms and treatment of asphyxial encephalopathy. *Front Neurosci*. 2014;8:40.
45. Lotgering FK, Bishai JM, Struijk PC, Blood AB, Hunter CJ, Power GG, et al. Ten-minute umbilical cord occlusion markedly reduces cerebral blood flow and heat production in fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol*. 2003 Jul;189(1):233–8.
46. Tan WKM, Williams CE, During MJ, Mallard CE, Gunning MI, Gunn AJ, et al. Accumulation of Cytotoxins During the Development of Seizures and Edema after Hypoxic-Ischemic Injury in Late Gestation Fetal Sheep. *Pediatr Res*. 1996 May;39(5):791–7.
47. Northington FJ, Chavez-Valdez R, Martin LJ. Neuronal cell death in neonatal hypoxia-ischemia. *Ann Neurol*. 2011 May;69(5):743–58.
48. Hossmann K-A. Pathophysiology and Therapy of Experimental Stroke. *Cell Mol Neurobiol*. 2006 Nov 1;26(7):1055–81.
49. El-Dib M, Inder TE, Chalak LF, Massaro AN, Thoresen M, Gunn AJ. Should therapeutic hypothermia be offered to babies with mild neonatal encephalopathy in the first 6 h after birth? *Pediatr Res*. 2019 Mar;85(4):442–8.
50. Iwata O, Iwata S, Bainbridge A, De Vita E, Matsuishi T, Cady EB, et al. Supra- and sub-baseline phosphocreatine recovery in developing brain after transient hypoxia-ischaemia: relation to baseline energetics, insult severity and outcome. *Brain J Neurol*. 2008 Aug;131(Pt 8):2220–6.
51. Gunn AJ, Gunn TR, Haan HH de, Williams CE, Gluckman PD. Dramatic neuronal rescue with prolonged selective head cooling after ischemia in fetal lambs. *J Clin Invest*. 1997 Jan 15;99(2):248–56.
52. Bennet L, Roelfsema V, Pathipati P, Quaedackers JS, Gunn AJ. Relationship between evolving epileptiform activity and delayed loss of mitochondrial activity after asphyxia measured by near-infrared spectroscopy in preterm fetal sheep. *J Physiol*. 2006 Apr 1;572(Pt 1):141–54.
53. Jensen EC, Bennet L, Hunter CJ, Power GC, Gunn AJ. Post-hypoxic hypoperfusion is associated with suppression of cerebral metabolism and increased tissue oxygenation in near-term fetal sheep. *J Physiol*. 2006 Apr 1;572(Pt 1):131–9.

54. Gunn AJ, Laptook AR, Robertson NJ, Barks JD, Thoresen M, Wassink G, et al. Therapeutic hypothermia translates from ancient history in to practice. *Pediatr Res*. 2017 Jan;81(1–2):202–9.
55. Zhu C, Wang X, Xu F, Bahr BA, Shibata M, Uchiyama Y, et al. The influence of age on apoptotic and other mechanisms of cell death after cerebral hypoxia-ischemia. *Cell Death Differ*. 2005 Feb;12(2):162–76.
56. Mallard C, Davidson JO, Tan S, Green CR, Bennet L, Robertson NJ, et al. Astrocytes and microglia in acute cerebral injury underlying cerebral palsy associated with preterm birth. *Pediatr Res*. 2014 Jan;75(1–2):234–40.
57. Keogh MJ, Drury PP, Bennet L, Davidson JO, Mathai S, Gunn ER, et al. Limited predictive value of early changes in EEG spectral power for neural injury after asphyxia in preterm fetal sheep. *Pediatr Res*. 2012 Apr;71(1):345–53.
58. Davidson JO, Wassink G, Yuill CA, Zhang FG, Bennet L, Gunn AJ. How long is too long for cerebral cooling after ischemia in fetal sheep? *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. 2015 May;35(5):751–8.
59. de Vries LS, Groenendaal F. Patterns of neonatal hypoxic–ischaemic brain injury. *Neuroradiology*. 2010 Jun;52(6):555–66.
60. Laptook AR, Corbett RJ, Sterett R, Garcia D, Tollefsbol G. Quantitative relationship between brain temperature and energy utilization rate measured in vivo using ³¹P and ¹H magnetic resonance spectroscopy. *Pediatr Res*. 1995 Dec;38(6):919–25.
61. Nakashima K, Todd MM, Warner DS. The Relation between Cerebral Metabolic Rate and Ischemic Depolarization : A Comparison of the Effects of Hypothermia, Pentobarbital, and Isoflurane. *Anesthesiology*. 1995 May 1;82(5):1199–208.
62. Xu R-X, Nakamura T, Nagao S, Miyamoto O, Jin L, Toyoshima T, et al. Specific Inhibition of Apoptosis after Cold-induced Brain Injury by Moderate Postinjury Hypothermia. *Neurosurgery*. 1998 Jul 1;43(1):107–14.
63. Ooboshi H, Ibayashi S, Takano K, Sadoshima S, Kondo A, Uchimura H, et al. Hypothermia inhibits ischemia-induced efflux of amino acids and neuronal damage in the hippocampus of aged rats. *Brain Res*. 2000 Nov 24;884(1):23–30.
64. Tooley JR, Satas S, Porter H, Silver IA, Thoresen M. Head cooling with mild systemic hypothermia in anesthetized piglets is neuroprotective. *Ann Neurol*. 2003 Jan;53(1):65–72.
65. Roelfsema V, Bennet L, George S, Wu D, Guan J, Veerman M, et al. Window of opportunity of cerebral hypothermia for postischemic white matter injury in the near-term fetal sheep. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. 2004 Aug;24(8):877–86.

66. Baumann E, Preston E, Slinn J, Stanimirovic D. Post-ischemic hypothermia attenuates loss of the vascular basement membrane proteins, agrin and SPARC, and the blood–brain barrier disruption after global cerebral ischemia. *Brain Res.* 2009 May 7;1269:185–97.
67. Zhou KQ, Draghi V, Lear CA, Dean JM, Ashton JL, Hou Y, et al. Protection of axonal integrity with 48 or 72 h of cerebral hypothermia in near-term fetal sheep. *Pediatr Res.* 2020 Jul;88(1):48–56.
68. Dean JM, George SA, Wassink G, Gunn AJ, Bennet L. Suppression of post-hypoxic-ischemic EEG transients with dizocilpine is associated with partial striatal protection in the preterm fetal sheep. *Neuropharmacology.* 2006 Mar 1;50(4):491–503.
69. Bennet L, Dean JM, Wassink G, Gunn AJ. Differential effects of hypothermia on early and late epileptiform events after severe hypoxia in preterm fetal sheep. *J Neurophysiol.* 2007 Jan;97(1):572–8.
70. Srinivasakumar P, Zempel J, Wallendorf M, Lawrence R, Inder T, Mathur A. Therapeutic hypothermia in neonatal hypoxic ischemic encephalopathy: electrographic seizures and magnetic resonance imaging evidence of injury. *J Pediatr.* 2013 Aug;163(2):465–70.
71. Gunn AJ, Gunn TR, Gunning MI, Williams CE, Gluckman PD. Neuroprotection With Prolonged Head Cooling Started Before Postischemic Seizures in Fetal Sheep. *Pediatrics.* 1998 Nov 1;102(5):1098–106.
72. Gunn AJ, Bennet L, Gunning MI, Gluckman PD, Gunn TR. Cerebral hypothermia is not neuroprotective when started after postischemic seizures in fetal sheep. *Pediatr Res.* 1999 Sep;46(3):274–80.
73. Davidson JO, Yuill CA, Zhang FG, Wassink G, Bennet L, Gunn AJ. Extending the duration of hypothermia does not further improve white matter protection after ischemia in term-equivalent fetal sheep. *Sci Rep.* 2016 Apr 28;6(1):25178.
74. Azzopardi D, Brocklehurst P, Edwards D, Halliday H, Levene M, Thoresen M, et al. The TOBY Study. Whole body hypothermia for the treatment of perinatal asphyxial encephalopathy: a randomised controlled trial. *BMC Pediatr.* 2008 Apr 30;8:17.
75. Shankaran S, Pappas A, McDonald SA, Vohr BR, Hintz SR, Yolton K, et al. Childhood Outcomes after Hypothermia for Neonatal Encephalopathy. *N Engl J Med.* 2012 May 31;366(22):2085–92.
76. Jacobs SE, Berg M, Hunt R, Tarnow-Mordi WO, Inder TE, Davis PG. Cooling for newborns with hypoxic ischaemic encephalopathy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013 Jan 31;(1):CD003311.
77. Shankaran S, Laptook AR, Ehrenkranz RA, Tyson JE, McDonald SA, Donovan EF, et al. Whole-Body Hypothermia for Neonates with Hypoxic–Ischemic Encephalopathy. *N Engl J Med.* 2005 Oct 13;353(15):1574–84.

78. Azzopardi D, Strohm B, Marlow N, Brocklehurst P, Deierl A, Eddama O, et al. Effects of hypothermia for perinatal asphyxia on childhood outcomes. *N Engl J Med*. 2014 Jul 10;371(2):140–9.
79. Thoresen M, Tooley J, Liu X, Jary S, Fleming P, Luyt K, et al. Time is brain: starting therapeutic hypothermia within three hours after birth improves motor outcome in asphyxiated newborns. *Neonatology*. 2013;104(3):228–33.
80. Thoresen M, Whitelaw A. Cardiovascular changes during mild therapeutic hypothermia and rewarming in infants with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics*. 2000 Jul;106(1 Pt 1):92–9.
81. Gluckman PD, Wyatt JS, Azzopardi D, Ballard R, Edwards AD, Ferriero DM, et al. Selective head cooling with mild systemic hypothermia after neonatal encephalopathy: multicentre randomised trial. *The Lancet*. 2005 Feb 19;365(9460):663–70.
82. Saliba E, Debillon T. Neuroprotection par hypothermie contrôlée dans l'encéphalopathie hypoxique-ischémique du nouveau-né à terme. /data/revues/0929693X/v17sS3/S0929693X10709040/ [Internet]. 2010 Aug 21 [cited 2019 Apr 6]; Available from: <https://www.em-consulte.com/en/article/263302>
83. Bednarek N, Loron G, Venot P. [Perinatal neuroprotection in 2015]. *Arch Pediatr Organe Off Soc Francaise Pediatr*. 2015 Oct;22(10):1005–7.
84. Chevallier M, Ego A, Cans C, Debillon T, French Society of Neonatology. Adherence to hypothermia guidelines: a French multicenter study of fullterm neonates. *PloS One*. 2013;8(12):e83742.
85. Tian N, Zhang W. A Comprehensive Evaluation of the Predictive Abilities of Fetal Electrocardiogram-Derived Parameters during Labor in Newborn Acidemia: Our Institutional Experience. *BioMed Res Int*. 2018 May 17;2018:3478925.
86. Nelson KB, Dambrosia JM, Ting TY, Grether JK. Uncertain value of electronic fetal monitoring in predicting cerebral palsy. *N Engl J Med*. 1996 Mar 7;334(10):613–8.
87. GRAHAM EM, ADAMI RR, MCKENNEY SL, JENNINGS JM, BURD I, WITTER FR. Diagnostic Accuracy of Fetal Heart Rate Monitoring in the Identification of Neonatal Encephalopathy. *Obstet Gynecol*. 2014 Sep;124(3):507–13.
88. Murray DM, O'Riordan MN, Horgan R, Boylan G, Higgins JR, Ryan CA. Fetal heart rate patterns in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy: relationship with early cerebral activity and neurodevelopmental outcome. *Am J Perinatol*. 2009 Sep;26(8):605–12.
89. Ruth VJ, Raivio KO. Perinatal brain damage: predictive value of metabolic acidosis and the Apgar score. *Br Med J*. 1988 Jul 2;297(6640):24–7.

90. Low JA, Lindsay BG, Derrick EJ. Threshold of metabolic acidosis associated with newborn complications. *Am J Obstet Gynecol*. 1997 Dec;177(6):1391–4.
91. King TA, Jackson GL, Josey AS, Vedro DA, Hawkins H, Burton KM, et al. The effect of profound umbilical artery acidemia in term neonates admitted to a newborn nursery. *J Pediatr*. 1998 Apr 1;132(4):624–9.
92. Casey BM, McIntire DD, Leveno KJ. The Continuing Value of the Apgar Score for the Assessment of Newborn Infants. *N Engl J Med*. 2001 Feb 15;344(7):467–71.
93. Murray DM, Boylan GB, Fitzgerald AP, Ryan CA, Murphy BP, Connolly S. Persistent lactic acidosis in neonatal hypoxic–ischaemic encephalopathy correlates with EEG grade and electrographic seizure burden. *Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed*. 2008 May 1;93(3):F183–6.
94. Tokuhisa T, Ibara S, Minakami H, Maede Y, Ishihara C, Matsui T. Outcome of infants with hypoxic ischemic encephalopathy treated with brain hypothermia. *J Obstet Gynaecol Res*. 2015;41(2):229–37.
95. Ross MG. Threshold of metabolic acidosis associated with newborn cerebral palsy: medical legal implications. *Am J Obstet Gynecol*. 2019 Apr;220(4):348–53.
96. Peeples ES, Rao R, Dizon MLV, Johnson YR, Joe P, Flibotte J, et al. Predictive Models of Neurodevelopmental Outcomes After Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy. *Pediatrics*. 2021 Feb;147(2).
97. Perlman JM, Risser R. Severe fetal acidemia: Neonatal neurologic features and short-term outcome. *Pediatr Neurol*. 1993 Jul 1;9(4):277–82.
98. Apgar V. A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant. *Curr Res Anesth Analg*. 1953 Aug;32(4):260–7.
99. Moster D, Lie RT, Irgens LM, Bjerkedal T, Markestad T. The association of Apgar score with subsequent death and cerebral palsy: A population-based study in term infants. *J Pediatr*. 2001 Jun;138(6):798–803.
100. Laptook AR, Shankaran S, Ambalavanan N, Carlo WA, McDonald SA, Higgins RD, et al. Outcome of term infants using apgar scores at 10 minutes following hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics*. 2009 Dec;124(6):1619.
101. Ehrenstein V. Association of Apgar scores with death and neurologic disability. *Clin Epidemiol*. 2009 Aug 9;1:45–53.
102. Natarajan G, Shankaran S, Laptook AR, Pappas A, Bann CM, McDonald SA, et al. Apgar scores at 10 min and outcomes at 6-7 years following hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2013 Nov;98(6):F473-479.
103. Sarnat HB, Sarnat MS. Neonatal encephalopathy following fetal distress. A clinical and electroencephalographic study. *Arch Neurol*. 1976 Oct;33(10):696–705.

104. Leviton A, Nelson KB. Problems with definitions and classifications of newborn encephalopathy. *Pediatr Neurol*. 1992 Apr;8(2):85–90.
105. Thompson CM, Puterman AS, Linley LL, Hann FM, van der Elst CW, Molteno CD, et al. The value of a scoring system for hypoxic ischaemic encephalopathy in predicting neurodevelopmental outcome. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. 1997 Jul;86(7):757–61.
106. Walsh BH, Neil J, Morey J, Yang E, Silvera MV, Inder TE, et al. The Frequency and Severity of Magnetic Resonance Imaging Abnormalities in Infants with Mild Neonatal Encephalopathy. *J Pediatr*. 2017 Aug;187:26-33.e1.
107. DuPont TL, Chalak LF, Morriss MC, Burchfield PJ, Christie L, Sánchez PJ. Short-Term Outcomes of Newborns with Perinatal Acidemia Who are Not Eligible for Systemic Hypothermia Therapy. *J Pediatr*. 2013 Jan 1;162(1):35–41.
108. Lamblin M-D, Walls Esquivel E, André M. The electroencephalogram of the full-term newborn: review of normal features and hypoxic-ischemic encephalopathy patterns. *Neurophysiol Clin Clin Neurophysiol*. 2013 Dec;43(5–6):267–87.
109. Boylan GB, Kharoshankaya L, Mathieson SR. Diagnosis of seizures and encephalopathy using conventional EEG and amplitude integrated EEG. *Handb Clin Neurol*. 2019;162:363–400.
110. Bourel-Ponchel E, Gueden S, Hasaerts D, Héberlé C, Malfilâtre G, Mony L, et al. Normal EEG during the neonatal period: maturational aspects from premature to full-term newborns. *Neurophysiol Clin Clin Neurophysiol*. 2021 Jan;51(1):61–88.
111. Boylan GB, Murray DM, Rennie JM. The normal EEG and aEEG. In: *Neonatal Cerebral Investigation* [Internet]. 2008 [cited 2018 Feb 10]. p. 83–91. Available from: <http://discovery.ucl.ac.uk/1495196/>
112. Murray DM, Boylan GB, Ryan CA, Connolly S. Early EEG findings in hypoxic-ischemic encephalopathy predict outcomes at 2 years. *Pediatrics*. 2009 Sep;124(3):e459-467.
113. Walsh BH, Murray DM, Boylan GB. The use of conventional EEG for the assessment of hypoxic ischaemic encephalopathy in the newborn: a review. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2011 Jul;122(7):1284–94.
114. Leroy-Terquem E, Vermersch AI, Dean P, Assaf Z, Boddaert N, Lapillonne A, et al. Abnormal Interhemispheric Synchrony in Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy: A Retrospective Pilot Study. *Neonatology*. 2017;112(4):359–64.
115. Scavone C, Radvanyi-Bouvet MF, Morel-Kahn F, Dreyfus-Brisac C. Coma apres souffrance foetale aigue chez le nouveau-ne a terme: Evolution electro-clinique. *Rev Electroencéphalographie Neurophysiol Clin*. 1985 Dec 1;15(3):279–88.
116. Pezzani C, Radvanyi-Bouvet MF, Relier JP, Monod N. Neonatal electroencephalography during the first twenty-four hours of life in full-term newborn infants. *Neuropediatrics*. 1986 Feb;17(1):11–8.

117. Lamblin M, Racoussot S, Pierrat V, Duquennoy C, Ouahsine T, Lequien P, et al. Encéphalopathie anoxo-ischémique du nouveau-né à terme. Apport de l'électroencéphalogramme et de l'échographie transfontanellaire à l'évaluation pronostique. À propos de 29 observations. *Neurophysiol Clin Neurophysiol*. 1996 Jan 1;26(6):369–78.
118. Pressler RM, Boylan GB, Morton M, Binnie CD, Rennie JM. Early serial EEG in hypoxic ischaemic encephalopathy. *Clin Neurophysiol*. 2001 Jan 1;112(1):31–7.
119. Nash KB, Bonifacio SL, Glass HC, Sullivan JE, Barkovich AJ, Ferriero DM, et al. Video-EEG monitoring in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy treated with hypothermia. *Neurology*. 2011 Feb 8;76(6):556–62.
120. Hamelin S, Delnard N, Cneude F, Debillon T, Vercueil L. Influence of hypothermia on the prognostic value of early EEG in full-term neonates with hypoxic ischemic encephalopathy. /data/revues/09877053/v41i1/S0987705310001097/ [Internet]. 2011 Feb 10 [cited 2020 May 13]; Available from: <https://www.em-consulte.com/en/article/281025>
121. De Haan HH, Gunn AJ, Williams CE, Gluckman PD. Brief Repeated Umbilical Cord Occlusions Cause Sustained Cytotoxic Cerebral Edema and Focal Infarcts in Near-Term Fetal Lambs. *Pediatr Res*. 1997 Jan;41(1):96–104.
122. Fraser M, Bennet L, Gunning M, Williams C, Gluckman PD, George S, et al. Cortical electroencephalogram suppression is associated with post-ischemic cortical injury in 0.65 gestation fetal sheep. *Dev Brain Res*. 2005 Jan 1;154(1):45–55.
123. Bednarek N, Delebarre G, Saad S, Loron G, Mezguiche F, Morville P. L'EEG d'amplitude : description, applications, avantages et inconvénients. *Arch Pédiatrie*. 2008 Aug 1;15(8):1326–31.
124. Hellström-Westas L. Monitoring brain function with aEEG in term asphyxiated infants before and during cooling. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. 2013 Jul;102(7):678–9.
125. Shellhaas RA, Gallagher PR, Clancy RR. Assessment of neonatal electroencephalography (EEG) background by conventional and two amplitude-integrated EEG classification systems. *J Pediatr*. 2008 Sep;153(3):369–74.
126. al Naqeeb N, Edwards AD, Cowan FM, Azzopardi D. Assessment of neonatal encephalopathy by amplitude-integrated electroencephalography. *Pediatrics*. 1999 Jun;103(6 Pt 1):1263–71.
127. Hellström-Westas L, Rosén I, Vries LS de, Greisen G. Amplitude-integrated EEG Classification and Interpretation in Preterm and Term Infants. *NeoReviews*. 2006 Feb 1;7(2):e76–87.
128. Toet MC, van der Meij W, de Vries LS, Uiterwaal CSPM, van Huffelen KC. Comparison between simultaneously recorded amplitude integrated electroencephalogram

- (cerebral function monitor) and standard electroencephalogram in neonates. *Pediatrics*. 2002 May;109(5):772–9.
129. Hellström-Westas L, Rosén I, Svenningsen NW. Predictive value of early continuous amplitude integrated EEG recordings on outcome after severe birth asphyxia in full term infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1995 Jan;72(1):F34–38.
 130. Toet M, Hellstrom-Westas L, Groenendaal F, Eken P, de Vries LS. Amplitude integrated EEG 3 and 6 hours after birth in full term neonates with hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1999 Jul;81(1):F19–23.
 131. Chandrasekaran M, Chaban B, Montaldo P, Thayyil S. Predictive value of amplitude-integrated EEG (aEEG) after rescue hypothermic neuroprotection for hypoxic ischemic encephalopathy: a meta-analysis. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc*. 2017;37(6):684–9.
 132. Rennie JM, Chorley G, Boylan GB, Pressler R, Nguyen Y, Hooper R. Non-expert use of the cerebral function monitor for neonatal seizure detection. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2004 Jan;89(1):F37–40.
 133. Hellström-Westas L, Rosén I, Vries LS de, Greisen G. Amplitude-integrated EEG Classification and Interpretation in Preterm and Term Infants. *NeoReviews*. 2006 Feb 1;7(2):e76–87.
 134. Bernet V, Latal B, Natalucci G, Doell C, Ziegler A, Wohlrab G. Effect of Sedation and Analgesia on Postoperative Amplitude-Integrated EEG in Newborn Cardiac Patients. *Pediatr Res*. 2010 Jun;67(6):650–5.
 135. Evans E, Koh S, Lerner J, Sankar R, Garg M. Accuracy of amplitude integrated EEG in a neonatal cohort. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2010 May;95(3):F169–173.
 136. Hallberg B, Grossmann K, Bartocci M, Blennow M. The prognostic value of early aEEG in asphyxiated infants undergoing systemic hypothermia treatment. *Acta Paediatr Oslo Nor 1992*. 2010 Apr;99(4):531–6.
 137. Thoresen M, Hellström-Westas L, Liu X, de Vries LS. Effect of hypothermia on amplitude-integrated electroencephalogram in infants with asphyxia. *Pediatrics*. 2010 Jul;126(1):e131–139.
 138. Rakshasbhuvankar A, Paul S, Nagarajan L, Ghosh S, Rao S. Amplitude-integrated EEG for detection of neonatal seizures: a systematic review. *Seizure*. 2015 Dec;33:90–8.
 139. Shah NA, Van Meurs KP, Davis AS. Amplitude-integrated electroencephalography: a survey of practices in the United States. *Am J Perinatol*. 2015 Jul;32(8):755–60.
 140. Ramaswamy V, Horton J, Vandermeer B, Buscemi N, Miller S, Yager J. Systematic review of biomarkers of brain injury in term neonatal encephalopathy. *Pediatr Neurol*. 2009 Mar;40(3):215–26.

141. Bennet L, Booth L, Gunn AJ. Potential biomarkers for hypoxic-ischemic encephalopathy. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2010 Oct;15(5):253–60.
142. Satriano A, Pluchinotta F, Gazzolo F, Serpero L, Gazzolo D. The potentials and limitations of neuro-biomarkers as predictors of outcome in neonates with birth asphyxia. *Early Hum Dev.* 2017 Feb 1;105:63–7.
143. O’Boyle DS, Dunn WB, O’Neill D, Kirwan JA, Broadhurst DI, Hallberg B, et al. Improvement in the Prediction of Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy with the Integration of Umbilical Cord Metabolites and Current Clinical Makers. *J Pediatr.* 2021 Feb;229:175-181.e1.
144. Ruhfus M, Giannakis S, Markus M, Stein A, Hoehn T, Felderhoff-Mueser U, et al. Association of Routinely Measured Proinflammatory Biomarkers With Abnormal MRI Findings in Asphyxiated Neonates Undergoing Therapeutic Hypothermia. *Front Pediatr.* 2021;9:624652.
145. Liu J, Cao H-Y, Huang X-H, Wang Q. The pattern and early diagnostic value of Doppler ultrasound for neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Trop Pediatr.* 2007 Oct;53(5):351–4.
146. Vasiljević B, Maglajlić-Djukić S, Stanković S, Lutovacs D, Gojnić M. [Predictive value of color Doppler neuro-sonography for the development of neurological sequels in newborn infants with hypoxic ischemic encephalopathy]. *Vojnosanit Pregl.* 2011 Oct;68(10):825–31.
147. Elstad M, Whitelaw A, Thoresen M. Cerebral Resistance Index is less predictive in hypothermic encephalopathic newborns. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. 2011 Oct;100(10):1344–9.
148. Natique KR, Das Y, Maxey MN, Sepulveda P, Brown LS, Chalak LF. Early Use of Transcranial Doppler Ultrasonography to Stratify Neonatal Encephalopathy. *Pediatr Neurol.* 2021 Nov 1;124:33–9.
149. Dean JM, Gunn AJ, Wassink G, George S, Bennet L. Endogenous alpha2-adrenergic receptor-mediated neuroprotection after severe hypoxia in preterm fetal sheep. *Neuroscience.* 2006 Oct 27;142(3):615–28.
150. Keogh MJ, Bennet L, Drury PP, Booth LC, Mathai S, Naylor AS, et al. Subclinical exposure to low-dose endotoxin impairs EEG maturation in preterm fetal sheep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2012 Aug 1;303(3):R270-278.
151. Pressler RM, Boylan GB, Morton M, Binnie CD, Rennie JM. Early serial EEG in hypoxic ischaemic encephalopathy. *Clin Neurophysiol.* 2001 Jan 1;112(1):31–7.
152. Murray DM, Boylan GB, Ryan CA, Connolly S. Early EEG findings in hypoxic-ischemic encephalopathy predict outcomes at 2 years. *Pediatrics.* 2009 Sep;124(3):e459-467.

153. Hamelin S, Delnard N, Cneude F, Debillon T, Vercueil L. Influence of hypothermia on the prognostic value of early EEG in full-term neonates with hypoxic ischemic encephalopathy. *Neurophysiol Clin Clin Neurophysiol*. 2011 Feb;41(1):19–27.
154. Tsuchida TN. EEG background patterns and prognostication of neonatal encephalopathy in the era of hypothermia. *J Clin Neurophysiol Off Publ Am Electroencephalogr Soc*. 2013 Apr;30(2):122–5.
155. Awal MA, Lai MM, Azemi G, Boashash B, Colditz PB. EEG background features that predict outcome in term neonates with hypoxic ischaemic encephalopathy: A structured review. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2016 Jan;127(1):285–96.
156. Weeke LC, Boylan GB, Pressler RM, Hallberg B, Blennow M, Toet MC, et al. Role of EEG background activity, seizure burden and MRI in predicting neurodevelopmental outcome in full-term infants with hypoxic-ischaemic encephalopathy in the era of therapeutic hypothermia. *Eur J Paediatr Neurol EJPJN Off J Eur Paediatr Neurol Soc*. 2016 Nov;20(6):855–64.
157. De Wispelaere LA, Ouwehand S, Olsthoorn M, Govaert P, Smit LS, de Jonge RC, et al. Electroencephalography and brain magnetic resonance imaging in asphyxia comparing cooled and non-cooled infants. *Eur J Paediatr Neurol EJPJN Off J Eur Paediatr Neurol Soc*. 2019 Jan;23(1):181–90.
158. Thoresen M, Hellström-Westas L, Liu X, de Vries LS. Effect of hypothermia on amplitude-integrated electroencephalogram in infants with asphyxia. *Pediatrics*. 2010 Jul;126(1):e131-139.
159. Csekő AJ, Bangó M, Lakatos P, Kárdási J, Pusztai L, Szabó M. Accuracy of amplitude-integrated electroencephalography in the prediction of neurodevelopmental outcome in asphyxiated infants receiving hypothermia treatment. *Acta Paediatr Oslo Nor 1992*. 2013 Jul;102(7):707–11.
160. Del Río R, Ochoa C, Alarcon A, Arnáez J, Blanco D, García-Alix A. Amplitude Integrated Electroencephalogram as a Prognostic Tool in Neonates with Hypoxic-Ischemic Encephalopathy: A Systematic Review. *PloS One*. 2016;11(11):e0165744.
161. Sewell EK, Vezina G, Chang T, Tsuchida T, Harris K, Ridore M, et al. Evolution of Amplitude-Integrated Electroencephalogram as a Predictor of Outcome in Term Encephalopathic Neonates Receiving Therapeutic Hypothermia. *Am J Perinatol*. 2018 Feb;35(3):277–85.
162. Garfinkle J, Sant’Anna GM, Rosenblatt B, Majnemer A, Wintermark P, Shevell MI. Somatosensory evoked potentials in neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy treated with hypothermia. *Eur J Paediatr Neurol EJPJN Off J Eur Paediatr Neurol Soc*. 2015 Jul;19(4):423–8.

163. Nevalainen P, Lauronen L, Metsäranta M, Lönnqvist T, Ahtola E, Vanhatalo S. Neonatal somatosensory evoked potentials persist during hypothermia. *Acta Paediatr.* 2017;106(6):912–7.
164. Cainelli E, Trevisanuto D, Cavallin F, Manara R, Suppiej A. Evoked potentials predict psychomotor development in neonates with normal MRI after hypothermia for hypoxic-ischemic encephalopathy. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol.* 2018;129(6):1300–6.
165. Kamino D, Almazrooei A, Pang EW, Widjaja E, Moore AM, Chau V, et al. Abnormalities in evoked potentials associated with abnormal glycemia and brain injury in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol.* 2021 Jan;132(1):307–13.
166. Rutherford MA, Pennock JM, Counsell SJ, Mercuri E, Cowan FM, Dubowitz LMS, et al. Abnormal Magnetic Resonance Signal in the Internal Capsule Predicts Poor Neurodevelopmental Outcome in Infants With Hypoxic-Ischemic Encephalopathy. *Pediatrics.* 1998 Aug 1;102(2):323–8.
167. Li J, Funato M, Tamai H, Wada H, Nishihara M, Iwamoto H, et al. Predictors of neurological outcome in cooled neonates. *Pediatr Int.* 2013;55(2):169–76.
168. Jain SV, Zempel JM, Srinivasakumar P, Wallendorf M, Mathur A. Early EEG power predicts MRI injury in infants with hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc.* 2017;37(5):541–6.
169. McDonough TL, Paolicchi JM, Heier LA, Das N, Engel M, Perlman JM, et al. Prediction of Future Epilepsy in Neonates With Hypoxic-Ischemic Encephalopathy Who Received Selective Head Cooling. *J Child Neurol.* 2017;32(7):630–7.
170. Nevalainen P, Metsäranta M, Toiviainen-Salo S, Marchi V, Mikkonen K, Vanhatalo S, et al. Neonatal neuroimaging and neurophysiology predict infantile onset epilepsy after perinatal hypoxic ischemic encephalopathy. *Seizure.* 2020 Aug;80:249–56.
171. Ouwehand S, Smidt LCA, Dudink J, Benders MJNL, de Vries LS, Groenendaal F, et al. Predictors of Outcomes in Hypoxic-Ischemic Encephalopathy following Hypothermia: A Meta-Analysis. *Neonatology.* 2020;117(4):411–27.
172. Thoresen M, Jary S, Walløe L, Karlsson M, Martinez-Biarge M, Chakkarapani E, et al. MRI combined with early clinical variables are excellent outcome predictors for newborn infants undergoing therapeutic hypothermia after perinatal asphyxia. *EClinicalMedicine.* 2021 Jun;36:100885.
173. Thayyil S, Chandrasekaran M, Taylor A, Bainbridge A, Cady EB, Chong WKK, et al. Cerebral Magnetic Resonance Biomarkers in Neonatal Encephalopathy: A Meta-analysis. *Pediatrics.* 2010 Feb 1;125(2):e382–95.

174. Roelants-Van Rijn AM, van der Grond J, de Vries LS, Groenendaal F. Value of 1H-MRS Using Different Echo Times in Neonates with Cerebral Hypoxia-Ischemia. *Pediatr Res.* 2001 Mar;49(3):356–62.
175. Vergales BD, Zanelli SA, Matsumoto JA, Goodkin HP, Lake DE, Moorman JR, et al. Depressed heart rate variability is associated with abnormal EEG, MRI, and death in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy. *Am J Perinatol.* 2014 Nov;31(10):855–62.
176. Goulding RM, Stevenson NJ, Murray DM, Livingstone V, Filan PM, Boylan GB. Heart rate variability in hypoxic ischemic encephalopathy during therapeutic hypothermia. *Pediatr Res.* 2017 Apr;81(4):609–15.
177. Metzler M, Govindan R, Al-Shargabi T, Vezina G, Andescavage N, Wang Y, et al. Pattern of brain injury and depressed heart rate variability in newborns with hypoxic ischemic encephalopathy. *Pediatr Res.* 2017 Sep;82(3):438–43.
178. Bell AH, McClure BG, Hicks EM. Power spectral analysis of the EEG of term infants following birth asphyxia. *Dev Med Child Neurol.* 1990 Nov;32(11):990–8.
179. Victor S, Appleton RE, Beirne M, Marson AG, Weindling AM. Spectral analysis of electroencephalography in premature newborn infants: normal ranges. *Pediatr Res.* 2005 Mar;57(3):336–41.
180. Wikström S, Ley D, Hansen-Pupp I, Rosén I, Hellström-Westas L. Early amplitude-integrated EEG correlates with cord TNF-alpha and brain injury in very preterm infants. *Acta Paediatr Oslo Nor 1992.* 2008 Jul;97(7):915–9.
181. Niemarkt HJ, Andriessen P, Peters CHL, Pasma JW, Zimmermann LJ, Bambang Oetomo S. Quantitative analysis of maturational changes in EEG background activity in very preterm infants with a normal neurodevelopment at 1 year of age. *Early Hum Dev.* 2010 Apr;86(4):219–24.
182. Middel RG, Brandenburg N, Van Braeckel KNJA, Bos AF, Ter Horst HJ. The Predictive Value of Amplitude-Integrated Electroencephalography in Preterm Infants for IQ and Other Neuropsychological Outcomes at Early School Age. *Neonatology.* 2018;113(4):287–95.
183. Burger C, Biermayr M, Posod A, Neubauer V, Pupp Peglow U, Kuenz K, et al. Amplitude-integrated electroencephalography shows alterations in children born preterm displaying poor literacy precursor skills. *Acta Paediatr Oslo Nor 1992.* 2019 Sep;108(9):1661–8.
184. Bell AH, McClure BG, McCullagh PJ, McClelland RJ. Spectral Edge Frequency of the EEG in Healthy Neonates and Variation with Behavioural State. *Neonatology.* 1991;60(2):69–74.

185. Inder TE, Buckland L, Williams CE, Spencer C, Gunning MI, Darlow BA, et al. Lowered electroencephalographic spectral edge frequency predicts the presence of cerebral white matter injury in premature infants. *Pediatrics*. 2003 Jan;111(1):27–33.
186. West CR, Harding JE, Williams CE, Gunning MI, Battin MR. Quantitative electroencephalographic patterns in normal preterm infants over the first week after birth. *Early Hum Dev*. 2006 Jan 1;82(1):43–51.
187. Pezzani C, Radvanyi-Bouvet MF, Relier JP, Monod N. Neonatal electroencephalography during the first twenty-four hours of life in full-term newborn infants. *Neuropediatrics*. 1986 Feb;17(1):11–8.
188. Biagioni E, Bartalena L, Boldrini A, Pieri R, Cioni G. Constantly discontinuous EEG patterns in full-term neonates with hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 1999 Sep;110(9):1510–5.
189. Menache CC, Bourgeois BFD, Volpe JJ. Prognostic value of neonatal discontinuous EEG. *Pediatr Neurol*. 2002 Aug 1;27(2):93–101.
190. Iyer KK, Roberts JA, Metsäranta M, Finnigan S, Breakspear M, Vanhatalo S. Novel features of early burst suppression predict outcome after birth asphyxia. *Ann Clin Transl Neurol*. 2014;1(3):209–14.
191. Flisberg A, Kjellmer I, Löfhede J, Lindecrantz K, Thordstein M. Prognostic capacity of automated quantification of suppression time in the EEG of post-asphyctic full-term neonates. *Acta Paediatr Oslo Nor 1992*. 2011 Oct;100(10):1338–43.
192. Matic V, Cherian PJ, Jansen K, Koolen N, Naulaers G, Swarte RM, et al. Automated EEG inter-burst interval detection in neonates with mild to moderate postasphyxial encephalopathy. In: 2012 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. 2012. p. 17–20.
193. Matic V, Cherian PJ, Jansen K, Koolen N, Naulaers G, Swarte RM, et al. Improving Reliability of Monitoring Background EEG Dynamics in Asphyxiated Infants. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2016;63(5):973–83.
194. Koolen N, Jansen K, Vervisch J, Matic V, De Vos M, Naulaers G, et al. Line length as a robust method to detect high-activity events: automated burst detection in premature EEG recordings. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2014 Oct;125(10):1985–94.
195. Dunne JM, Wertheim D, Clarke P, Kapellou O, Chisholm P, Boardman JP, et al. Automated electroencephalographic discontinuity in cooled newborns predicts cerebral MRI and neurodevelopmental outcome. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2017 Jan;102(1):F58–64.
196. Dereymaeker A, Matic V, Vervisch J, Cherian PJ, Ansari AH, De Wel O, et al. Automated EEG background analysis to identify neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy

- treated with hypothermia at risk for adverse outcome: A pilot study. *Pediatr Neonatol*. 2019;60(1):50–8.
197. Raurale SA, Nalband S, Boylan GB, Lightbody G, O’Toole JM. Suitability of an inter-burst detection method for grading hypoxic-ischemic encephalopathy in newborn EEG. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc IEEE Eng Med Biol Soc Annu Int Conf*. 2019 Jul;2019:4125–8.
 198. Kamitaki BK, Tu B, Wong S, Mendiratta A, Choi H. Quantitative EEG Changes Correlate With Post-Clamp Ischemia During Carotid Endarterectomy. *J Clin Neurophysiol Off Publ Am Electroencephalogr Soc*. 2020 Feb 10;
 199. Doyle OM, Greene BR, Murray DM, Marnane L, Lightbody G, Boylan GB. The effect of frequency band on quantitative EEG measures in neonates with hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Conf Proc Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc IEEE Eng Med Biol Soc Annu Int Conf*. 2007;2007:717–21.
 200. Wong FY, Barfield CP, Walker AM. Power spectral analysis of two-channel EEG in hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Early Hum Dev*. 2007 Jun;83(6):379–83.
 201. Korotchikova I, Stevenson NJ, Walsh BH, Murray DM, Boylan GB. Quantitative EEG analysis in neonatal hypoxic ischaemic encephalopathy. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2011 Aug;122(8):1671–8.
 202. Stevenson NJ, Korotchikova I, Temko A, Lightbody G, Marnane WP, Boylan GB. An automated system for grading EEG abnormality in term neonates with hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Ann Biomed Eng*. 2013 Apr;41(4):775–85.
 203. Matic V, Cherian PJ, Koolen N, Naulaers G, Swarte RM, Govaert P, et al. Holistic approach for automated background EEG assessment in asphyxiated full-term infants. *J Neural Eng*. 2014 Dec;11(6):066007.
 204. Temko A, Doyle O, Murray D, Lightbody G, Boylan G, Marnane W. Multimodal predictor of neurodevelopmental outcome in newborns with hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Comput Biol Med*. 2015 Aug;63:169–77.
 205. Ahmed R, Temko A, Marnane W, Lightbody G, Boylan G. Grading hypoxic-ischemic encephalopathy severity in neonatal EEG using GMM supervectors and the support vector machine. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2016 Jan;127(1):297–309.
 206. Guo J, Cheng X, Wu D. Grading Method for Hypoxic-Ischemic Encephalopathy Based on Neonatal EEG. *Comput Model Eng Sci*. 2020 Jan 1;122:721–41.
 207. Moghadam SM, Pinchefsky E, Tse I, Marchi V, Kohonen J, Kauppila M, et al. Building an Open Source Classifier for the Neonatal EEG Background: A Systematic Feature-Based Approach From Expert Scoring to Clinical Visualization. *Front Hum Neurosci*. 2021 May 31;15:675154.

208. Raurale SA, Boylan GB, Mathieson S, Marnane WP, Lightbody G, O'Toole JM. Grading hypoxic-ischemic encephalopathy in neonatal EEG with convolutional neural networks and quadratic time-frequency distributions. *J Neural Eng.* 2021 Feb 22;
209. Azzopardi DV, Strohm B, Edwards AD, Dyet L, Halliday HL, Juszczak E, et al. Moderate hypothermia to treat perinatal asphyxial encephalopathy. *N Engl J Med.* 2009 Oct 1;361(14):1349–58.
210. Sarnat HB, Sarnat MS. Neonatal encephalopathy following fetal distress. A clinical and electroencephalographic study. *Arch Neurol.* 1976 Oct;33(10):696–705.
211. Clancy RR, Legido A. The Exact Ictal and Interictal Duration of Electroencephalographic Neonatal Seizures. *Epilepsia.* 1987;28(5):537–41.
212. Lacan L, Betrouni N, Lamblin M-D, Chaton L, Delval A, Bourriez J-L, et al. Quantitative approach to early neonatal EEG visual analysis in hypoxic-ischemic encephalopathy severity: Bridging the gap between eyes and machine. *Neurophysiol Clin [Internet].* 2021 Jan 2 [cited 2021 Jan 18]; Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0987705320301477>
213. al Naqeeb N, Edwards AD, Cowan FM, Azzopardi D. Assessment of neonatal encephalopathy by amplitude-integrated electroencephalography. *Pediatrics.* 1999 Jun;103(6 Pt 1):1263–71.
214. Marics G, Csekő A, Vásárhelyi B, Zakariás D, Schuster G, Szabó M. Prevalence and etiology of false normal aEEG recordings in neonatal hypoxic-ischaemic encephalopathy. *BMC Pediatr.* 2013 Nov 22;13:194.
215. Hagmann CF, Robertson NJ, Azzopardi D. Artifacts on Electroencephalograms May Influence the Amplitude-Integrated EEG Classification: A Qualitative Analysis in Neonatal Encephalopathy. *Pediatrics.* 2006 Dec 1;118(6):2552–4.
216. Rakshasbhuvankar A, Rao S, Palumbo L, Ghosh S, Nagarajan L. Amplitude Integrated Electroencephalography Compared With Conventional Video EEG for Neonatal Seizure Detection: A Diagnostic Accuracy Study. *J Child Neurol.* 2017 Aug;32(9):815–22.
217. Quigg M, Leiner D. Engineering aspects of the quantified amplitude-integrated electroencephalogram in neonatal cerebral monitoring. *J Clin Neurophysiol Off Publ Am Electroencephalogr Soc.* 2009 Jun;26(3):145–9.
218. Govindan RB, Massaro A, Vezina G, Tsuchida T, Cristante C, du Plessis A. Does relative or absolute EEG power have prognostic value in HIE setting? *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol.* 2017;128(1):14–5.
219. Zhang Q, Hu Y, Dong X, Feng X. Clinical significance of electroencephalography power spectrum density and functional connection analysis in neonates with hypoxicischemic encephalopathy. *Int J Dev Neurosci Off J Int Soc Dev Neurosci.* 2020 Dec 23;

220. Thordstein M, Flisberg A, Löfgren N, Bågenholm R, Lindecrantz K, Wallin BG, et al. Spectral analysis of burst periods in EEG from healthy and post-asphyctic full-term neonates. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2004 Nov;115(11):2461–6.
221. Connor CW. A Forensic Disassembly of the BIS Monitor. *Anesth Analg*. 2020 Dec;131(6):1923–33.
222. Pulgar VM, Zhang J, Massmann GA, Figueroa JP. Mild chronic hypoxia modifies the fetal sheep neural and cardiovascular responses to repeated umbilical cord occlusion. *Brain Res*. 2007 Oct 24;1176:18–26.
223. Lee SJ, Hatran DP, Tomimatsu T, Peña JP, McAuley G, Longo LD. Fetal cerebral blood flow, electrocorticographic activity, and oxygenation: responses to acute hypoxia. *J Physiol*. 2009;587(9):2033–47.
224. Frasch MG, Durosier LD, Gold N, Cao M, Matuszewski B, Keenliside L, et al. Adaptive shut-down of EEG activity predicts critical acidemia in the near-term ovine fetus. *Physiol Rep*. 2015 Jul;3(7).
225. Thaler I, Boldes R, Timor-Tritsch I. Real-time spectral analysis of the fetal EEG: a new approach to monitoring sleep states and fetal condition during labor. *Pediatr Res*. 2000 Sep;48(3):340–5.
226. Wassink G, Bennet L, Davidson JO, Westgate JA, Gunn AJ. Pre-existing hypoxia is associated with greater EEG suppression and early onset of evolving seizure activity during brief repeated asphyxia in near-term fetal sheep. *PLoS One*. 2013;8(8):e73895.
227. Wang X, Durosier LD, Ross MG, Richardson BS, Frasch MG. Online detection of fetal acidemia during labour by testing synchronization of EEG and heart rate: a prospective study in fetal sheep. *PLoS One* 9:e108119. 2014.
228. Lombroso CT. Remarks on the EEG and movement disorder in SSPE. *Neurology*. 1968 Jan;18(1 Pt 2):69–75.
229. Sinclair DB, Campbell M, Byrne P, Prasertsom W, Robertson CM. EEG and long-term outcome of term infants with neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 1999 Apr;110(4):655–9.
230. Les SVM, Support Vector Machine [Internet]. *Analytics & Insights*. 2019 [cited 2021 Jul 15]. Available from: <https://analyticsinsights.io/les-svm-support-vector-machine/>
231. Doyle OM, Temko A, Murray DM, Lightbody G, Marnane W, Boylan GB. Predicting the neurodevelopmental outcome in newborns with hypoxic-ischaemic injury. *Conf Proc Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc IEEE Eng Med Biol Soc Annu Conf*. 2010;2010:1370–3.

232. Ahmed R, Temko A, Marnane W, Boylan G, Lightbody G. Grading brain injury in neonatal EEG using SVM and supervector kernel. In: 2014 IEEE International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing (ICASSP). 2014. p. 5894–8.
233. Malfilâtre G, Mony L, Hasaerts D, Vignolo-Diard P, Lamblin M-D, Bourel-Ponchel E. Technical recommendations and interpretation guidelines for electroencephalography for premature and full-term newborns. *Neurophysiol Clin Clin Neurophysiol*. 2020 Nov 6;
234. Orbach SA, Bonifacio SL, Kuzniewicz M, Glass HC. Lower Incidence of Seizure among Neonates Treated with Therapeutic Hypothermia. *J Child Neurol*. 2014 Nov;29(11):1502–7.
235. van Handel M, Swaab H, de Vries LS, Jongmans MJ. Behavioral Outcome in Children with a History of Neonatal Encephalopathy following Perinatal Asphyxia. *J Pediatr Psychol*. 2010 Apr 1;35(3):286–95.
236. Murray DM, O'Connor CM, Ryan CA, Korotchikova I, Boylan GB. Early EEG Grade and Outcome at 5 Years After Mild Neonatal Hypoxic Ischemic Encephalopathy. *Pediatrics*. 2016;138(4).
237. Chalak LF, Nguyen K-A, Prempunpong C, Heyne R, Thayyil S, Shankaran S, et al. Prospective research in infants with mild encephalopathy identified in the first six hours of life: neurodevelopmental outcomes at 18-22 months. *Pediatr Res*. 2018 Dec;84(6):861–8.
238. Conway JM, Walsh BH, Boylan GB, Murray DM. Mild hypoxic ischaemic encephalopathy and long term neurodevelopmental outcome - A systematic review. *Early Hum Dev*. 2018 May;120:80–7.
239. Montaldo P, Lally PJ, Oliveira V, Swamy R, Mendoza J, Atreja G, et al. Therapeutic hypothermia initiated within 6 hours of birth is associated with reduced brain injury on MR biomarkers in mild hypoxic-ischaemic encephalopathy: a non-randomised cohort study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2019 Sep;104(5):F515–20.
240. Rao R, Trivedi S, Distler A, Liao S, Vesoulis Z, Smyser C, et al. Neurodevelopmental Outcomes in Neonates with Mild Hypoxic Ischemic Encephalopathy Treated with Therapeutic Hypothermia. *Am J Perinatol*. 2019 Nov;36(13):1337–43.
241. Jacobs SE, Berg M, Hunt R, Tarnow-Mordi WO, Inder TE, Davis PG. Cooling for newborns with hypoxic ischaemic encephalopathy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013 Jan 31;(1):CD003311.
242. Chalak L, Latremouille S, Mir I, Sánchez PJ, Sant'Anna G. A review of the conundrum of mild hypoxic-ischemic encephalopathy: Current challenges and moving forward. *Early Hum Dev*. 2018 May 1;120:88–94.

243. Osredkar D, Toet MC, van Rooij LGM, van Huffelen AC, Groenendaal F, de Vries LS. Sleep-wake cycling on amplitude-integrated electroencephalography in term newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics*. 2005 Feb;115(2):327–32.
244. Massaro AN, Tsuchida T, Kadom N, El-Dib M, Glass P, Baumgart S, et al. aEEG evolution during therapeutic hypothermia and prediction of NICU outcome in encephalopathic neonates. *Neonatology*. 2012;102(3):197–202.
245. Kharoshankaya L, Stevenson NJ, Livingstone V, Murray DM, Murphy BP, Ahearne CE, et al. Seizure burden and neurodevelopmental outcome in neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Dev Med Child Neurol*. 2016 Dec;58(12):1242–8.
246. Lin Y-K, Hwang-Bo S, Seo Y-M, Youn Y-A. Clinical seizures and unfavorable brain MRI patterns in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy. *Medicine (Baltimore)*. 2021 Mar 26;100(12):e25118.
247. van Putten MJAM. The revised brain symmetry index. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2007 Nov;118(11):2362–7.
248. Temko A, Boylan G, Marnane W, Lightbody G. Robust neonatal EEG seizure detection through adaptive background modeling. *Int J Neural Syst*. 2013 Aug;23(4):1350018.
249. Eklund JM, Fontana N, Pugh JE, McGregor C, Yelder P, James A, et al. Automated Sleep-Wake Detection in Neonates from Cerebral Function Monitor Signals. 2014 IEEE 27th Int Symp Comput-Based Med Syst. 2014;
250. Ansari AH, Wel OD, Pillay K, Dereymaeker A, Jansen K, Huffel SV, et al. A convolutional neural network outperforming state-of-the-art sleep staging algorithms for both preterm and term infants. *J Neural Eng*. 2020 Jan;17(1):016028.
251. Ryu S, Back S, Lee S, Seo H, Park C, Lee K, et al. Pilot study of a single-channel EEG seizure detection algorithm using machine learning. *Childs Nerv Syst ChNS Off J Int Soc Pediatr Neurosurg*. 2021 May 3;
252. Nolan H, Whelan R, Reilly RB. FASTER: Fully Automated Statistical Thresholding for EEG artifact Rejection. *J Neurosci Methods*. 2010 Sep 30;192(1):152–62.
253. Mognon A, Jovicich J, Bruzzone L, Buiatti M. ADJUST: An automatic EEG artifact detector based on the joint use of spatial and temporal features. *Psychophysiology*. 2011;48(2):229–40.
254. Goeral K, Urlesberger B, Giordano V, Kasprian G, Wagner M, Schmidt L, et al. Prediction of Outcome in Neonates with Hypoxic-Ischemic Encephalopathy II: Role of Amplitude-Integrated Electroencephalography and Cerebral Oxygen Saturation Measured by Near-Infrared Spectroscopy. *Neonatology*. 2017;112(3):193–202.
255. Jacobs SE, Morley CJ, Inder TE, Stewart MJ, Smith KR, McNamara PJ, et al. Whole-body hypothermia for term and near-term newborns with hypoxic-ischemic

- encephalopathy: a randomized controlled trial. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2011 Aug;165(8):692–700.
256. d'Allest A, André M, Radvanyi-Bouvet M. Apport de l'électroencéphalogramme pour le diagnostic et le pronostic de l'asphyxie périnatale du nouveau-né à terme. *Arch Pédiatrie*. 1996 Jan 1;3:S254–6.
257. Prout AP, Frasch MG, Veldhuizen RAW, Hammond R, Ross MG, Richardson BS. Systemic and cerebral inflammatory response to umbilical cord occlusions with worsening acidosis in the ovine fetus. *Am J Obstet Gynecol*. 2010 Jan;202(1):82.e1-9.
258. Biagioni E, Mercuri E, Rutherford M, Cowan F, Azzopardi D, Frisone MF, et al. Combined use of electroencephalogram and magnetic resonance imaging in full-term neonates with acute encephalopathy. *Pediatrics*. 2001 Mar;107(3):461–8.
259. Shah DK, Lavery S, Doyle LW, Wong C, McDougall P, Inder TE. Use of 2-channel bedside electroencephalogram monitoring in term-born encephalopathic infants related to cerebral injury defined by magnetic resonance imaging. *Pediatrics*. 2006 Jul;118(1):47–55.
260. Leijser LM, Vein AA, Liauw L, Strauss T, Veen S, Wezel-Meijler G van. Prediction of short-term neurological outcome in full-term neonates with hypoxic-ischaemic encephalopathy based on combined use of electroencephalogram and neuro-imaging. *Neuropediatrics*. 2007 Oct;38(5):219–27.
261. Dunne JM, Wertheim D, Clarke P, Kapellou O, Chisholm P, Boardman JP, et al. Automated electroencephalographic discontinuity in cooled newborns predicts cerebral MRI and neurodevelopmental outcome. *Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed*. 2017 Jan 1;102(1):F58–64.
262. Young GB, da Silva OP. Effects of morphine on the electroencephalograms of neonates: a prospective, observational study. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2000 Nov;111(11):1955–60.
263. van Leuven K, Groenendaal F, Toet MC, Schobben AF a. M, Bos S a. J, de Vries LS, et al. Midazolam and amplitude-integrated EEG in asphyxiated full-term neonates. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. 2004 Sep;93(9):1221–7.
264. Shany E, Benzaquen O, Friger M, Richardson J, Golan A. Influence of antiepileptic drugs on amplitude-integrated electroencephalography. *Pediatr Neurol*. 2008 Dec;39(6):387–91.
265. Murray DM, Ryan CA, Boylan GB, Fitzgerald AP, Connolly S. Prediction of seizures in asphyxiated neonates: correlation with continuous video-electroencephalographic monitoring. *Pediatrics*. 2006 Jul;118(1):41–6.
266. Tsuchida TN, Wusthoff CJ, Shellhaas RA, Abend NS, Hahn CD, Sullivan JE, et al. American clinical neurophysiology society standardized EEG terminology and categorization for the description of continuous EEG monitoring in neonates: report of

- the American Clinical Neurophysiology Society critical care monitoring committee. *J Clin Neurophysiol Off Publ Am Electroencephalogr Soc.* 2013 Apr;30(2):161–73.
267. Lamblin M, Racoussot S, Pierrat V, Duquennoy C, Ouahsine T, Lequien P, et al. Encéphalopathie anoxo-ischémique du nouveau-né à terme. Apport de l'électroencéphalogramme et de l'échographie transfontanellaire à l'évaluation pronostique. À propos de 29 observations. *Neurophysiol Clin Neurophysiol.* 1996 Jan 1;26(6):369–78.
268. Raurale SA, Boylan GB, Lightbody G, O'Toole JM. Grading the severity of hypoxic-ischemic encephalopathy in newborn EEG using a convolutional neural network. *ArXiv200505561 Cs Eess Q-Bio* [Internet]. 2020 May 12 [cited 2021 Jul 25]; Available from: <http://arxiv.org/abs/2005.05561>
269. Petitgand C, Motulsky A, Denis J-L, Régis C. Investigating the Barriers to Physician Adoption of an Artificial Intelligence- Based Decision Support System in Emergency Care: An Interpretative Qualitative Study. *Stud Health Technol Inform.* 2020 Jun 16;270:1001–5.
270. L'Intelligence Artificielle... avec intelligence ! [Internet]. FUN MOOC. [cited 2021 Oct 18]. Available from: <http://www.fun-mooc.fr/fr/cours/lintelligence-artificielle-avec-intelligence/>
271. L'Hôpital, une nouvelle industrie - Tracts - GALLIMARD - Site Gallimard [Internet]. [cited 2021 Oct 18]. Available from: <http://www.gallimard.fr/Catalogue/GALLIMARD/Tracts/L-Hopital-une-nouvelle-industrie#>
272. L'Idolâtrie de la vie - Tracts - GALLIMARD - Site Gallimard [Internet]. [cited 2021 Oct 18]. Available from: <http://www.gallimard.fr/Catalogue/GALLIMARD/Tracts/L-Idolatrie-de-la-vie>
273. Apocalypse cognitive - Gérald Bronner [Internet]. Babelio. [cited 2021 Oct 18]. Available from: <https://www.babelio.com/livres/Bronner-Apocalypse-cognitive/1287138>
274. Le Mythe de la Singularité , Jean-Gabr... [Internet]. [cited 2021 Oct 18]. Available from: <https://www.seuil.com/ouvrage/le-mythe-de-la-singularite-jean-gabriel-ganascia/9782021309997>
275. Gandhi R. Support Vector Machine — Introduction to Machine Learning Algorithms [Internet]. Medium. 2018 [cited 2021 Jul 15]. Available from: <https://towardsdatascience.com/support-vector-machine-introduction-to-machine-learning-algorithms-934a444fca47>
276. Morrison JL, Berry MJ, Botting KJ, Darby JRT, Frasch MG, Gatford KL, et al. Improving pregnancy outcomes in humans through studies in sheep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2018 Dec 1;315(6):R1123–53.

277. Bernhard CG, Kaiser IH, Kolmodin GM. On the development of cortical activity in fetal sheep. *Acta Physiol Scand*. 1959 Dec 12;47:333–49.
278. Jones MD. Energy metabolism in the developing brain. *Semin Perinatol*. 1979 Apr;3(2):121–9.
279. Clewlow F, Dawes GS, Johnston BM, Walker DW. Changes in breathing, electrocortical and muscle activity in unanaesthetized fetal lambs with age. *J Physiol*. 1983 Aug;341:463–76.
280. Barlow RM. The foetal sheep: morphogenesis of the nervous system and histochemical aspects of myelination. *J Comp Neurol*. 1969 Mar;135(3):249–62.
281. McINTOSH GH, Baghurst KI, Potter BJ, Hetzel BS. Foetal Brain Development in the Sheep. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 1979;5(2):103–14.
282. Frasch MG, Grasch MG, Frasch MG, Mansano RZ, McPhaul L, Gagnon R, et al. Measures of acidosis with repetitive umbilical cord occlusions leading to fetal asphyxia in the near-term ovine fetus. *Am J Obstet Gynecol*. 2009 Feb;200(2):200.e1-7.
283. Garabedian C, Champion C, Servan-Schreiber E, Butruille L, Aubry E, Sharma D, et al. A new analysis of heart rate variability in the assessment of fetal parasympathetic activity: An experimental study in a fetal sheep model. *PloS One*. 2017;12(7):e0180653.
284. Garabedian C, Clermont-Hama Y, Sharma D, Aubry E, Butruille L, Deruelle P, et al. Correlation of a new index reflecting the fluctuation of parasympathetic tone and fetal acidosis in an experimental study in a sheep model. *PloS One*. 2018;13(1):e0190463.
285. Garabedian C, Aubry E, Sharma D, Bleu G, Clermont-Hama Y, Ghesquière L, et al. Exploring fetal response to acidosis in ewes: Choosing an adequate experimental model. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2018 Oct 1;47(8):397–403.
286. Ghesquière L, De Jonckheere J, Drumez E, Sharma D, Aubry E, Deruelle P, et al. Parasympathetic nervous system response to acidosis: Evaluation in an experimental fetal sheep model. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2019 Apr;98(4):433–9.
287. East CE, Leader LR, Sheehan P, Henshall NE, Colditz PB, Lau R. Intrapartum fetal scalp lactate sampling for fetal assessment in the presence of a non-reassuring fetal heart rate trace. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 May 1;(5):CD006174.
288. Mann LI, Prichard JW, Symmes D. EEG, ECG, and acid-base observations during acute fetal hypoxia. *Am J Obstet Gynecol*. 1970 Jan 1;106(1):39–51.
289. Symmes D, Prichard JW, Mann LI. Spectral analysis of fetal sheep EEG during hypoxia. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1970 Nov;29(5):511–5.
290. Dawes GS, Fox HE, Leduc BM, Liggins GC, Richards RT. Respiratory movements and rapid eye movement sleep in the foetal lamb. *J Physiol*. 1972 Jan;220(1):119–43.

291. Ruckebusch Y. Development of sleep and wakefulness in the foetal lamb. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1972 Feb 1;32(2):119–28.
292. Lacan L, Hamoud Y, Nguyen S, De Jonckheere J, Storme L, Houfflin-Debargue V, et al. Fetal sheep cerebral electrical activity: A new technique to record EEG. *J Neurosci Methods*. 2020 Aug 2;108888.
293. Bernhard CG, Kolmodin GM, Meyerson BA. On the prenatal development of function and structure in the somesthetic cortex of the sheep. *Prog Brain Res*. 1967;26:60–77.
294. Åarström K-E. On the Early Development of the Isocortex in Fetal Sheep. In: Bernhard CG, Schadé JP, editors. *Progress in Brain Research* [Internet]. Elsevier; 1967 [cited 2021 Sep 14]. p. 1–59. (Developmental Neurology; vol. 26). Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079612308614181>
295. Szeto HH, Vo TDH, Dwyer G, Dogramajian ME, Cox MJ, Senger G. The ontogeny of fetal lamb electrocortical activity: A power spectral analysis. *Am J Obstet Gynecol*. 1985 Oct 15;153(4):462–6.
296. Jost RG, Quilligan EJ, Yeh SY, Anderson GG. Intrauterine electroencephalogram of the sheep fetus. *Am J Obstet Gynecol*. 1972 Oct 15;114(4):535–9.
297. Mann LI, Duchin S, Weiss RR. Fetal EEG sleep stages and physiologic variability. *Am J Obstet Gynecol*. 1974 Jun 15;119(4):533–8.
298. Ioffe S, Jansen AH, Russell BJ, Chernick V. Sleep, wakefulness and the monosynaptic reflex in fetal and newborn lambs. *Pflugers Arch*. 1980 Nov;388(2):149–57.
299. Szeto HH, Hinman DJ. Prenatal development of sleep-wake patterns in sheep. *Sleep*. 1985 Dec;8(4):347–55.
300. Ruckebusch Y, Gaujoux M, Eghbali B. Sleep cycles and kinesis in the foetal lamb. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1977 Feb 1;42(2):226–37.
301. Rao N, Keen A, Czikk M, Frasch M, Richardson BS. Behavioural state linkage in the ovine fetus near term. *Brain Res*. 2009 Jan 23;1250:149–56.
302. Keen AE, Frasch MG, Sheehan MA, Matuszewski BJ, Richardson BS. Electrocortical activity in the near-term ovine fetus: Automated analysis using amplitude frequency components. *Brain Res*. 2011 Jul 21;1402:30–7.
303. Pulgar VM, Zhang J, Massmann GA, Figueroa JP. Prolonged Mild Hypoxia Alters Fetal Sheep Electrocorticogram Activity. *J Soc Gynecol Investig JSGL*. 2006 Sep 1;13(6):404–11.
304. Bartelds B, van Bel F, Teitel DF, Rudolph AM. Carotid, not aortic, chemoreceptors mediate the fetal cardiovascular response to acute hypoxemia in lambs. *Pediatr Res*. 1993 Jul;34(1):51–5.

305. Giussani DA, Unno N, Jenkins SL, Wentworth RA, Derks JB, Collins JH, et al. Dynamics of cardiovascular responses to repeated partial umbilical cord compression in late-gestation sheep fetus. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol*. 1997 Nov 1;273(5):H2351–60.
306. Kawagoe Y, Green L, White S, Richardson B. Intermittent umbilical cord occlusion in the ovine fetus near term: effects on behavioral state activity. *Am J Obstet Gynecol*. 1999 Dec;181(6):1520–9.
307. Bennet L, Roelfsema V, George S, Dean JM, Emerald BS, Gunn AJ. The effect of cerebral hypothermia on white and grey matter injury induced by severe hypoxia in preterm fetal sheep. *J Physiol*. 2007 Jan 15;578(Pt 2):491–506.
308. Mallard EC, Gunn AJ, Williams CE, Johnston BM, Gluckman PD. Transient umbilical cord occlusion causes hippocampal damage in the fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol*. 1992 Nov 1;167(5):1423–30.
309. Williams CE, Gunn AJ, Mallard C, Gluckman PD. Outcome after ischemia in the developing sheep brain: An electroencephalographic and histological study. *Ann Neurol*. 1992;31(1):14–21.
310. Reddy K, Mallard C, Guan J, Marks K, Bennet L, Gunning M, et al. Maturation change in the cortical response to hypoperfusion injury in the fetal sheep. *Pediatr Res*. 1998 May;43(5):674–82.
311. George S, Gunn AJ, Westgate JA, Brabyn C, Guan J, Bennet L. Fetal heart rate variability and brain stem injury after asphyxia in preterm fetal sheep. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol*. 2004 Oct 1;287(4):R925–33.
312. Abbasi H, Drury PP, Lear CA, Gunn AJ, Davidson JO, Bennet L, et al. EEG sharp waves are a biomarker of striatal neuronal survival after hypoxia-ischemia in preterm fetal sheep. *Sci Rep [Internet]*. 2018 [cited 2020 Oct 14];8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6218488/>
313. Gunn AJ, Parer JT, Mallard EC, Williams CE, Gluckman PD. Cerebral Histologic and Electrocorticographic Changes after Asphyxia in Fetal Sheep. *Pediatr Res*. 1992 May;31(5):486–91.
314. Wilson PC, Philpott RH, Spies S, Ahmed Y, Kadichza M. The Effect of Fetal Head Compression and Fetal Acidaemia During Labour on Human Fetal Cerebral Function as Measured by the Fetal Electroencephalogram. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 1979;86(4):269–77.
315. Pospelov AS, Puskarjov M, Kaila K, Voipio J. Endogenous brain-sparing responses in brain pH and PO₂ in a rodent model of birth asphyxia. *Acta Physiol Oxf Engl*. 2020 Jul;229(3):e13467.
316. Ala-Kurikka T, Pospelov A, Summanen M, Alafuzoff A, Kurki S, Voipio J, et al. A physiologically validated rat model of term birth asphyxia with seizure generation after, not during, brain hypoxia. *Epilepsia*. 2021 Apr;62(4):908–19.

317. Gailus B, Naundorf H, Welzel L, John M, Römermann K, Kaila K, et al. Long-term outcome in a noninvasive rat model of birth asphyxia with neonatal seizures: Cognitive impairment, anxiety, epilepsy, and structural brain alterations. *Epilepsia*. 2021 Aug 29;
318. Gold N, Herry CL, Wang X, Frasch MG. Fetal Cardiovascular Decompensation During Labor Predicted From the Individual Heart Rate Tracing: A Machine Learning Approach in Near-Term Fetal Sheep Model. *Front Pediatr*. 2021;9:593889.
319. Castel A, Frank YS, Feltner J, Karp FB, Albright CM, Frasch MG. Monitoring Fetal Electroencephalogram Intrapartum: A Systematic Literature Review. *Front Pediatr*. 2020;8:584.
320. Bernstine RL, Borkowski WJ, Price AH. Prenatal fetal electroencephalography. *Am J Obstet Gynecol*. 1955 Sep;70(3):623–30.
321. Rosen MG, Scibetta JJ. The human fetal electroencephalogram. I. An electrode for continuous recording during labor. *Am J Obstet Gynecol*. 1969 Aug 1;104(7):1057–60.
322. Chachava KV, Devdariani MG, Loladze AS. [Several variants in the electroencephalogram of the fetus in normal and pathologic states]. *Akush Ginekol (Sofia)*. 1969 Jun;45(6):18–21.
323. Peltzman P, Goldstein PJ, Battagin R. Quantitative analysis of fetal electrophysiologic data. *Am J Obstet Gynecol*. 1973 Apr 15;115(8):1117–24.
324. Borgstedt AD, Rosen MG, Chik L, Sokol RJ, Bachelder L, Leo P. Fetal electroencephalography. Relationship to neonatal and one-year developmental neurological examinations in high-risk infants. *Am J Dis Child* 1960. 1975 Jan;129(1):35–8.
325. Chik L, Sokol RJ, Rosen MG, Borgstedt AD. Computer interpreted fetal electroencephalogram. I. Relative frequency of patterns. *Am J Obstet Gynecol*. 1976 Jun 15;125(4):537–40.
326. Sokol RJ, Rosen MG, Chik L. Fetal electroencephalographic monitoring related to infant outcome. *Am J Obstet Gynecol*. 1977 Feb 1;127(3):329–30.
327. Weller C, Dyson RJ, McFadyen IR, Green HL, Arias E. Fetal Electroencephalography Using a New, Flexible Electrode. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 1981;88(10):983–6.
328. Qureshi AI, Miran MS, Li S, Jiang M. Ultrasound-Guided Second Trimester Fetal Electroencephalography in Two Pregnant Volunteers: A Technical Note. *J Vasc Interv Neurol*. 2016 Jun;9(1):60–5.
329. Rosen MG, Scibetta J, Chik L, Borgstedt AD. An approach to the study of brain damage: The principles of fetal electroencephalography. *Am J Obstet Gynecol*. 1973 Jan 1;115(1):37–47.

330. Djelmis J, Drazancić A, Dürrigl V, Djelmis J, Ivansenić M. The effect of fetal hypoxia and acidosis on the changes in fetal electroencephalogram during labor. *Am J Perinatol*. 1988 Apr;5(2):177–85.
331. Blum T, Saling E, Bauer R. First magnetoencephalographic recordings of the brain activity of a human fetus. *Br J Obstet Gynaecol*. 1985 Dec;92(12):1224–9.
332. Preissl H, Lowery CL, Eswaran H. Fetal magnetoencephalography: current progress and trends. *Exp Neurol*. 2004 Nov 1;190:28–36.
333. Eswaran H, Haddad NI, Shihabuddin BS, Preissl H, Siegel ER, Murphy P, et al. Non-invasive detection and identification of brain activity patterns in the developing fetus. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2007 Sep;118(9):1940–6.
334. Haddad N, Govindan RB, Vairavan S, Siegel E, Temple J, Preissl H, et al. Correlation between fetal brain activity patterns and behavioral states: An exploratory fetal magnetoencephalography study. *Exp Neurol*. 2011 Apr 1;228(2):200–5.
335. Gatellier M-A, De Jonckheere J, Storme L, Houfflin-Debarge V, Ghesquiere L, Garabedian C. Fetal heart rate variability analysis for neonatal acidosis prediction. *J Clin Monit Comput*. 2021 Aug;35(4):771–7.
336. Butruille L, De Jonckheere J, Flocteil M, Garabedian C, Houfflin-Debarge V, Storme L, et al. Parasympathetic tone variations according to umbilical cord pH at birth: a computerized fetal heart rate variability analysis. *J Clin Monit Comput*. 2017 Dec;31(6):1197–202.
337. Richardson BS, Patrick JE, Abduljabbar H. Cerebral oxidative metabolism in the fetal lamb: relationship to electrocortical state. *Am J Obstet Gynecol*. 1985 Oct 15;153(4):426–31.
338. Szeto HH. Spectral edge frequency as a simple quantitative measure of the maturation of electrocortical activity. *Pediatr Res*. 1990 Mar;27(3):289–92.
339. Abbasi H, Bennet L, Gunn AJ, Unsworth CP. Robust Wavelet Stabilized “Footprints of Uncertainty” for Fuzzy System Classifiers to Automatically Detect Sharp Waves in the EEG after Hypoxia Ischemia. *Int J Neural Syst*. 2017 May;27(3):1650051.
340. Yamaguchi K, Lear CA, Beacom MJ, Ikeda T, Gunn AJ, Bennet L. Evolving changes in fetal heart rate variability and brain injury after hypoxia-ischaemia in preterm fetal sheep. *J Physiol*. 2018;596(23):6093–104.
341. Garabedian C, Champion C, Servan-Schreiber E, Butruille L, Aubry E, Sharma D, et al. A new analysis of heart rate variability in the assessment of fetal parasympathetic activity: An experimental study in a fetal sheep model. *PLOS ONE*. 2017 juil;12(7):e0180653.
342. Garabedian C, Clermont-Hama Y, Sharma D, Aubry E, Butruille L, Deruelle P, et al. Correlation of a new index reflecting the fluctuation of parasympathetic tone and fetal

- acidosis in an experimental study in a sheep model. *PLOS ONE*. 2018 Jan 10;13(1):e0190463.
343. Ghesquière L, De Jonckheere J, Drumez E, Sharma D, Aubry E, Deruelle P, et al. Parasympathetic nervous system response to acidosis: evaluation in an experimental fetal sheep model. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2018 Dec 19;
 344. Garabedian C, Aubry E, Sharma D, Bleu G, Clermont-Hama Y, Ghesquière L, et al. Exploring fetal response to acidosis in ewes: Choosing an adequate experimental model. *J Gynecol Obstet Hum Reprod [Internet]*. 2018 Apr 11; Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2468784718300576>
 345. Prout AP, Frasch MG, Veldhuizen RAW, Hammond R, Ross MG, Richardson BS. Systemic and cerebral inflammatory response to umbilical cord occlusions with worsening acidosis in the ovine fetus. *Am J Obstet Gynecol*. 2010 Jan;202(1):82.e1-9.
 346. Back SA, Riddle A, Dean J, Hohimer AR. The Instrumented Fetal Sheep as a Model of Cerebral White Matter Injury in the Premature Infant. *Neurotherapeutics*. 2012 Apr;9(2):359–70.
 347. Bernhard CG, Kolmodin GM, Meyerson BA. On the Prenatal Development of Function and Structure in the Somesthetic Cortex of the Sheep. In: Bernhard CG, Schadé JP, editors. *Progress in Brain Research [Internet]*. Elsevier; 1967 [cited 2020 Jan 26]. p. 60–77. (Developmental Neurology; vol. 26). Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079612308614193>
 348. Frasch MG, Durosier LD, Gold N, Cao M, Matuszewski B, Keenlside L, et al. Adaptive shut-down of EEG activity predicts critical acidemia in the near-term ovine fetus. *Physiol Rep*. 2015 Jul;3(7).
 349. Kurinczuk JJ, White-Koning M, Badawi N. Epidemiology of neonatal encephalopathy and hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Early Hum Dev*. 2010 Jun;86(6):329–38.
 350. Pin TW, Eldridge B, Galea MP. A review of developmental outcomes of term infants with post-asphyxia neonatal encephalopathy. *Eur J Paediatr Neurol [Internet]*. 2009 [cited 2020 Apr 17];13(3). Available from: </scholarlywork/316468-a-review-of-developmental-outcomes-of-term-infants-with-post-asphyxia-neonatal-encephalopathy>
 351. Volpe's Neurology of the Newborn - 6th Edition [Internet]. [cited 2020 Apr 17]. Available from: <https://www.elsevier.com/books/volpes-neurology-of-the-newborn/volpe/978-0-323-42876-7>
 352. Azzopardi D, TOBY study group. Predictive value of the amplitude integrated EEG in infants with hypoxic ischaemic encephalopathy: data from a randomised trial of therapeutic hypothermia. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2014 Jan;99(1):F80-82.

PUBLICATIONS

Articles publiés :

- **Lacan L**, Hamoud Y, Nguyen S, De Jonckheere J, Storme L, Houfflin-Debarge V, et al. Fetal sheep cerebral electrical activity: A new technique to record EEG. *Journal of Neuroscience Methods*. 2020 Aug 2;108888.
- **Lacan L**, Betrouni N, Lamblin MD, Chaton L, Delval A, Bourriez JL et al. Quantitative approach of early neonatal EEG visual analysis in hypoxic-ischemic encephalopathy severity. Bridging the gap between eyes and machine; *Journal Neurophysiologie Clinique*. 2020
- Hamoud Y, Pekar JD, Drumez E, **Lacan L**, Maboudou P, De Jonckheere J, et al. Changes in S100B and troponin levels in a fetal sheep model of worsening acidosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 29 juin 2021;264:173-7.

Articles en cours de soumission :

- Ghesquière L, Perbet R, **Lacan L**, Hamoud Y, Stichelbout M, Sharma D, Nguyen S, Storme L, Houfflin-Debarge V, De Jonckheere J, Garabedian C. Associations between fetal heart rate variability and umbilical cord occlusions-induced neural injury: An experimental study in a fetal sheep model. (*Scientific reports*).
- Delval A, Girard B, **Lacan L**, Chaton C, Flamein F, Storme L, et al. Neurophysiological recordings improve the accuracy of the evaluation of the outcome in perinatal hypoxic ischemic encephalopathy. (*European Journal of Paediatric Neurology*)

†Model
NEUCL-2744; No. of Pages 11

ARTICLE IN PRESS

Neurophysiologie Clinique/Clinical Neurophysiology (2020) xxx, xxx–xxx



ELSEVIER

Disponible en ligne sur
ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com/en



ORIGINAL ARTICLE

Quantitative approach to early neonatal EEG visual analysis in hypoxic-ischemic encephalopathy severity: Bridging the gap between eyes and machine

Laure Lacan^{a,b,*}, Nacim Betrouni^{c,d},
Marie-Dominique Lamblin^d, Laurence Chaton^{c,d},
Arnaud Delval^{c,d}, Jean-Louis Bourriez^{c,d}, Laurent Storme^a,
Philippe Derambure^{c,d}, Sylvie NguyenThe Tich^{a,b}

^a EA4489, Environnement périnatal et santé, Faculté de médecine, Université de Lille, 2 Avenue Eugène Avinée, 59120 Loos, France

^b Service de Neurologie pédiatrique, Hôpital Roger Salengro, CHRU de Lille, Avenue du Professeur Emile Laine, 59037, France

^c Inserm U 1172, Faculté de médecine, Université de Lille, 2 Avenue Eugène Avinée, 59120 Loos, France

^d Service de Neurophysiologie Clinique, Hôpital Roger Salengro, CHRU de Lille, Avenue du Professeur Emile Laine, 59037, France

Received 17 August 2020; accepted 2 December 2020

KEYWORDS

French classification;
HIE;
Neonatal EEG;
Perinatal asphyxia;
Quantitative EEG

Abstract

Objectives. – To identify relevant quantitative parameters for early classification of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE) severity from conventional EEGs.

Methods. – Ninety EEGs, recorded in full-term infants within 6 h of life after perinatal hypoxia, were visually classified according to the French EEG classification into three groups of increasing HIE severity.

Physiologically significant EEG features (signal amplitude, continuity and frequency content) were automatically quantified using different parameters. The EEG parameters selection was based on their ability to reproduce the visual EEG classification. Post hoc analysis based on clinical outcome was performed.

* Corresponding author at: Service de neurologie pédiatrique, Hôpital Roger Salengro, Avenue du Professeur Emile Laine, CHRU, 59037 Lille, France.

E-mail address: laure.lacan@chru-lille.fr (L. Lacan).

<https://doi.org/10.1016/j.neucli.2020.12.003>
0987-7053/© 2020 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Please cite this article in press as: Lacan L, et al. Quantitative approach to early neonatal EEG visual analysis in hypoxic-ischemic encephalopathy severity: Bridging the gap between eyes and machine. *Neurophysiologie Clinique/Clinical Neurophysiology* (2020), <https://doi.org/10.1016/j.neucli.2020.12.003>

INTRODUCTION

With reported incidences of 3–5 per 1000 term live births, perinatal asphyxia remains a common cause of neonatal death and long-term disabilities [27,47]. Mild therapeutic hypothermia (TH) is now the standard of care for full-term neonates with moderate to severe encephalopathy [5, 37]. Whole body cooling to a temperature between 32–34°C for 72 hours has been shown to improve survival and neurodevelopmental outcome, especially when started within 6 hours after delivery [4,22,41]. Hence, early detection of moderate or severe neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE) is essential for TH initiation.

The degree of cerebral injury after perinatal hypoxia is commonly evaluated by clinical assessment, using scores such as the Sarnat score, which includes EEG in its original description [38]. Numerous studies have demonstrated that conventional EEG (cEEG) provides an early and reliable evaluation of cerebral injury, including in newborns undergoing hypothermia [18,31,33,34]. Visual analysis of EEG background activity remains the gold standard method for grading HIE and several classification systems are proposed [48]. The French EEG classification (Table A.1), adapted from Scavone and Pezzani [33,39], considers four severity grades (normal, mild, moderate and severe abnormalities) that correlate with long-term prognosis [24,25,26].

However, visual analysis can sometimes be discordant between interpreters, is time-consuming and requires a qualified neurophysiologist available around the clock, which may be challenging in some neonatal intensive care units (NICU). Simplified EEG analysis tools such as amplitude-integrated EEG (aEEG) are commonly used. Nevertheless, visual interpretation of aEEG is also a highly skilled task and remains user-dependant [42]. Some studies have proposed algorithms for the automatic classification of HIE severity, based on the combination of different EEG quantitative features [2,13,29,45,46] but the clinical implementation of these methods is still difficult since they require specific software platforms to compute these features. Thus, there is a lack of a simple and reliable EEG tool capable of reproducing the HIE visual classification and usable as a diagnostic support in clinical practice.

The aim of this study was to identify quantitative EEG parameters that are relevant in reproducing the French visual EEG classification in early neonatal EEGs.

METHODS

Database

Inclusion

EEGs recorded between 2013 and 2017 during the first six hours of life after perinatal asphyxia in newborns admitted to our neonatal intensive care unit (NICU) were retrospectively analysed.

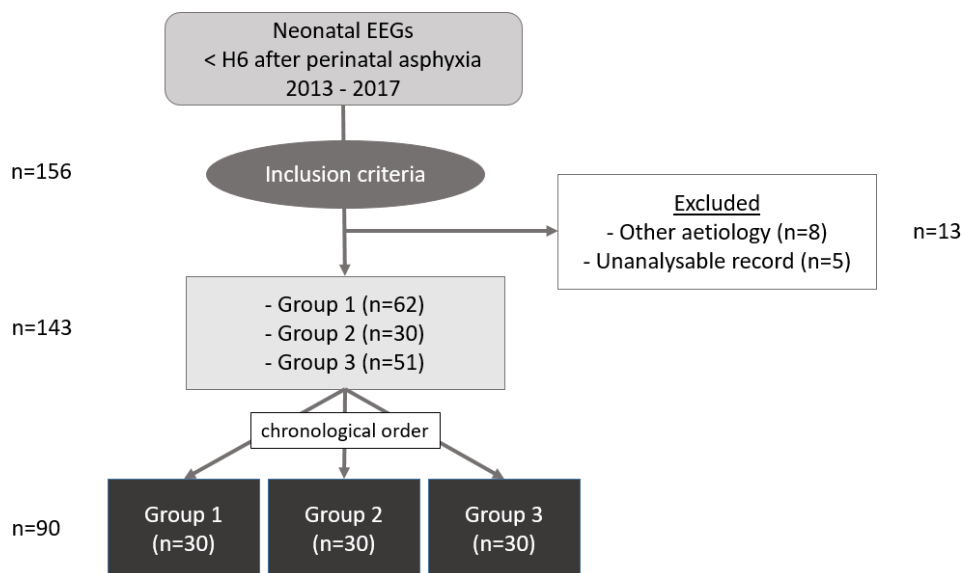
Inclusion criteria were as follows: gestational age ≥ 36 weeks; birth weight > 1800 g; post-natal age ≤ 6 h; clinical suspicion of HIE with at least one of the following criteria: pH ≤ 7 or base deficit ≥ 16 mmol/L or lactate ≥ 11 mmol/L before 1 hour of life (measured in umbilical cord, capillary, venous or arterial blood); or Apgar score ≤ 5 at 10 minutes of life, or ventilatory support (intubation or mask ventilation) needed at birth and continued at 10 min of life. If another cause of metabolic acidosis or encephalopathy was suspected, such as congenital heart disease or inborn errors of metabolism, the EEG was excluded, as were unreadable EEG traces. One EEG per infant was retained for analysis. The

clinical status at the time of EEG was noted, including body temperature, use of sedative, analgesic or anticonvulsant drugs, intubation and mechanical ventilation.

EEGs that met these criteria (n=143) were visually classified into three groups according to their HIE severity grade (normal or mildly abnormal, moderate and severe EEGs), as explained below. The first 30 consecutive EEGs were retained in each group in order to obtain three groups of equal size (Fig 1), i.e., 90 EEGs.

Clinical follow-up was systematically proposed, and clinical data were collected from medical visits reports. Neurological assessment was graded at one and three years of age using a score adapted from the International Classification of Functioning, Disability and Health (ICF) classification (Table A.2). For the analyses, children were separated into two groups of good and poor outcomes, the latter being defined as significant sequelae (score ≥ 3) at age three years, or death.

Fig. 1: Flow chart of the neonatal EEGs included in the study



Ethics

The study was declared to the National Commission of Information Technology and Liberties (agreement reference: DEC-20 138). The parents were informed by a written document of the anonymized use of data and non-opposition consent was obtained.

EEG recordings

EEGs were recorded using the Micromed EEG System® (Micromed, Mâcon, France). They were started as soon as possible after birth on the basis of a 24/7 availability. Eight scalp electrodes (F4, C4, T4, O2, F3, C3, T3, O1), one ground electrode and one reference electrode were positioned according to the international 10:20 electrode placement system, modified for neonates. After scalp cleaning, Nicolet® cup electrodes (Natus, Paris, France) were fixed using adhesive paste and secured by a net. The electrode impedance was maintained below 5 kOhm. The EEG signal was digitised at a sampling rate of 256 Hz. They were stored on a computer hard drive and read on the System Plus Evolution Software® (Micromed). EEGs were concomitantly recorded and stored on the same disk.

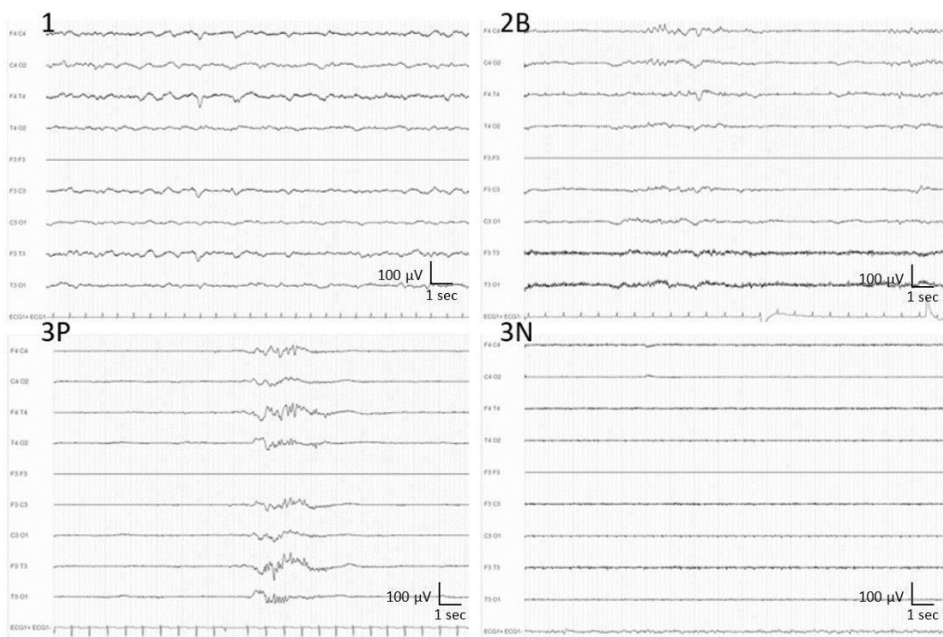
Visual EEG classification

EEGs were classified on the basis of the initial neurophysiological report confirmed by independent analysis by the authors (LL, MDL) blinded to clinical data. Inter-observer agreement between the initial report and the second neurophysiological analysis was high (kappa = 0.9 [0.83–0.97]). In case of disagreement, a third neurophysiologist (LC) read the EEG blinded to clinical data and to the previous interpretations and assessed the final EEG grade.

The visual analysis was conducted on a bipolar display montage, with 0.53–70 Hz digital filters, an amplitude of 100 $\mu\text{V}/\text{cm}$ and a display of 30 mm/sec. HIE severity was assessed using the French classification in grade from 0 to 3 (Table A.1). Grades 0 and 1 were both included in group 1 (normal or mildly abnormal EEGs). Groups 2 and 3 corresponded respectively to moderate (grade 2) and severe (grade 3) EEGs (Fig. 2). Spikes and seizures (defined as a sudden, repetitive, stereotyped discharge lasting at least 10 seconds [10]) were noted. For each EEG, artefact periods were marked and a set of “artefact-free” EEGs was constituted by removing these periods from the trace.

Fig. 2. Examples of EEG traces with different HIE severity grades according to visual analysis

1 – Mild abnormalities: grade 1; **2B** – Moderate abnormalities: grade 2 (discontinuous type B); **3P** – Severe abnormalities: grade 3 (paroxysmal tracing); **3N** – Severe abnormalities: grade 3 (inactive tracing)



Quantitative EEG analysis

Six EEG features proposed in the program “EEG Analyser” (Micromed) and reflecting the amplitude, continuity and frequency content of the signal, were used for quantitative analysis:

- *Minimal and Maximal Amplitude Index (MinAI, MaxAI)* represent the minimal and maximal peak of amplitude during a time interval (μV). The amplitude was measured using CFM after filtering the signal at 2–20 Hz.
- *Absolute Total Power (ATP)* was calculated using a Fourier transform as the total spectral power over the range 0.5–19.5 Hz (μV^2).

- *Spectral Edge Frequency (SEF)* was defined as the frequency (Hz) below which 95% of the power in EEG exists [20].
- *Relative Low Frequency Power (RLFP)* was the ratio of the spectral power in low frequencies (0.5–5 Hz) on the absolute total power (%).
- *Burst Suppression Ratio (BSR)* was measured as the ratio of the Interburst Interval (IBI)'s length (in seconds) on the total length of the analysed interval (%). IBIs were detected for an amplitude of less than 5 μ V during more than 500 ms.

These six features were measured on C3-C4 derivation every two seconds over the entire tracing. Mean, median, minimal and maximal values and variation coefficient were considered for each feature over the analysed period (i.e., 30 quantitative parameters in total).

Data analysis

Data descriptive analysis

Demographic, clinical and EEG characteristics were described by the mean and standard deviation or the median and interquartile range for quantitative variables, and by frequency and percentage for qualitative variables. Differences between the 3 groups were analysed by a Kruskal-Wallis test for quantitative variables and chi-squared for qualitative variables.

EEG parameters selection

Logistic regression analyses, adjusted for the significant covariates from the previous analyses, were first run as a parameter-selection strategy. A second selection round for the parameters with significant results from the regression analyses was applied by taking into account the performance of EEG classification (global performance and specifically for the critical grade 2) and importance of each parameter, tested using a random forest classifier with calculation of the precision decay when the variable is removed from the model.

Lastly and in order to consider the influence of artefacts, the same analyses were repeated in the second set of "artefact-free" EEGs after manual removal of artefact periods. Only parameters with robust performances on artefact and artefact-free traces were retained.

Post-hoc analysis

Differences between the three groups for each selected EEG parameter were then verified by post-hoc analysis. Kruskal-Wallis test followed by pairwise comparisons using Dunn tests were used.

The quantitative data were also analysed in relation to clinical outcome (good or poor) at three years of age. The performance of each parameter in predicting the clinical outcome was determined using ROC (receiver operating characteristic) curve analysis.

All the analyses were run using XlStat add-on for Microsoft Excel (AddInSoft, Paris, France). The significance level was set at p-value < 0.05. Corrections for multiple comparisons were done using Bonferroni correction.

RESULTS

Characteristics of the population

The demographic and perinatal characteristics of the 90 infants were not different (including for laboratory results), except for the Apgar score at 10 minutes, which was lower in group 3 (Table 1a).

EEGs were recorded soon after birth (3.6 ± 1.2 hours of life) for a mean duration of 50 minutes ($50.8 \text{ min} \pm 19.2 [22-175]$). Recording conditions differed for group 3 (most severe EEGs) with 90% of patient intubated and 86% in passive hypothermia at the time of EEG. There was no difference in the presence of sedative, anticonvulsant or analgesic drugs between the 3 groups (Table 1b).

Thirteen neonates died during the neonatal period. Among the 77 surviving infants, 71 (92%) were followed up at one year and 69 (90%) at three years. All the children in group 1 had a normal outcome at one and three years of age. Four infants in group 2 (15% of the available data) had a poor outcome at three years of age (death: $n=2$, major sequelae: $n=2$), as well as 14 (54%) infants in group 3 (death: $n=11$, major sequelae: $n=3$) (Table 1c).

Table 1a: Demographic and perinatal characteristics of the population.

	N=90	Group 1 (n=30)	Group 2 (n=30)	Group 3 (n=30)	p- value
Gender (M/F)	62/28	22/8	20/10	20/10	-
Gestational age at birth (weeks) <i>mean \pm sd</i>	39.4 ± 1.5	39.60 ± 1.63	39.27 ± 1.30	39.31 ± 1.43	0.42
Birth weight (g) <i>mean \pm sd</i>	3161 ± 629	3259 ± 539	2977 ± 739	3239 ± 577	0.15
Progress of pregnancy: N(%)					
Normal	53 (58.9%)	21 (70%)	13 (43.3%)	19 (63.3%)	-
Maternal complication ¹	22 (24.4%)	6 (20%)	10 (33.3%)	6 (20%)	
Fetal complication ²	15 (16.7%)	3 (10%)	7 (23.3%)	5 (16.7%)	
Delivery: N(%)					
Emergency caesarean section	48 (53.3%)	19 (63.3%)	17 (56.7%)	12 (40%)	-
Physiological vaginal delivery	24 (26.7%)	4 (13.3%)	7 (23.3%)	13 (43.3%)	
Instrumental delivery	17 (18.9%)	7 (23.3%)	5 (16.7%)	5 (16.7%)	
Scheduled caesarean section	1 (1.1%)	0	1 (3.3%)	0	
Perinatal asphyxia criteria <i>(mean \pmsd)</i>					
pH before H1	6.95 ± 0.2	6.93 ± 0.10	6.98 ± 0.24	6.94 ± 0.18	0.78
Lactate before H1 (mmol/L)	12.6 ± 4.0	12.5 ± 4.1	12.1 ± 4.2	13.3 ± 3.9	0.41
Apgar score at 10 min	5.5 ± 5.0	5.7 ± 3.0	6.3 ± 2.4	3.9 ± 2.6	0.004
Ventilatory support at 10 min	68 (76.7%)	17 (56.7%)	24 (80%)	28 (93.3%)	-
Sarnat score: N(%)					
1	21 (23.3%)	16 (53.3%)	4 (13.3%)	1 (3.3%)	-
2	52 (57.8%)	14 (46.7%)	21 (70%)	17 (56.7%)	
3	17 (18.9%)	0	5 (16.7%)	12 (40%)	

¹ Maternal complication: e.g., diabetes during pregnancy, maternal pathology, treatment, toxic substances, etc.

² Fetal complication: e.g., multiple pregnancies, intrauterine growth restriction, ultrasound abnormality, etc.

Table 1b: EEG data.

Recording conditions: N(%)	N=90	Group 1 (n=30)	Group 2 (n=30)	Group 3 (n=30)	p-value
Sedation or analgesia ³	34 (37.8%)	6 (20%)	12 (40%)	16 (53.3%)	0.12
Intubation/ventilation	62 (68.9%)	13 (43.3%)	22 (73.3%)	27 (90%)	-
Hypothermia (T°<34°C)	47 (52.2%)	6 (20%)	15 (50%)	26 (86.7%)	-
Body temperature (°C)	34.2 ± 1.7	35.3 ± 1.4	34.2 ± 1.6	33.1 ± 1.4	<0.001
Temporal data (mean ± sd)					
Post-natal delay (hours)	3.6 ± 1.2	3.1 ± 1.2	3.8 ± 1.1	3.8 ± 1.3	0.056
EEG duration (minutes)	50.8 ± 19.2	57.8 ± 10.4	48.9 ± 14.0	45.6 ± 27.3	<0.001
Seizures/paroxysmal discharges: N(%)					
None	78 (86.7%)	30 (100%)	26 (86.7%)	22 (73.3%)	
< 5 per hour	8 (8.9%)	0	4 (13.3%)	4 (13.3%)	-
> 5 per hour	4 (4.4%)	0	0	4 (13.3%)	
Detailed EEG visual grades⁴					
		Grade 0 / 1	Grade 2a / 2b	Grade 3p / 3n	
		11 / 19	18 / 12	17 / 13	

³ Presence of sedative, anticonvulsant or analgesic drugs: phenobarbital, clonazepam, morphine or sufentanyl.

⁴ Grade 0 (normal); Grade 1 (mild abnormalities); Grade 2a: discontinuous trace type A; Grade 2b: discontinuous trace type B; Grade 3p: paroxysmal trace; Grade 3n: inactive trace (table A.1).

Table 1c: Clinical outcome of the children at 1 and 3 years of age.

Neonatal death	N=90	Group 1 (n=30)	Group 2 (n=30)	Group 3 (n=30)
	13 (14.4%)	0	2 (6.7%)	11 (36.7%)
One year				
Good outcome	68 (75.6%)	30 (100%)	24 (80%)	14 (46.7%)
Poor outcome	3 (3.3%)	0	0	3 (10%)
Missing data	6 (6.7%)	0	4 (13.3%)	2 (6.7%)
Three years				
Good outcome	64 (71.1%)	30 (100%)	22 (73.3%)	12 (40%)
Poor outcome	5 (5.6%)	0	2 (6.7%)	3 (10%)
Missing data	8 (8.9%)	0	4 (13.3%)	4 (13.3%)

EEG parameters selection

Logistic regression analysis was adjusted for body temperature at the time of EEG recording, as this covariate was significantly associated with EEG groups (Table 1a). Of the 30 quantitative parameters tested, 18 were significantly different between the 3 groups ($p_{\text{corrected}} = 0.0016$). Comparison between raw EEGs and “artefact-free” EEGs removed 7 parameters that appeared to be highly sensitive to artefacts. Among the 11 remaining parameters, four were retained that performed best in logistic regression and in the random forest model: the mean value of the Minimal Amplitude Index (MinAI [mean]), the minimal values of the Maximal Amplitude Index (MaxAI [min]) and of the Absolute Total Power (ATP [min]), the maximal value of the Burst Suppression Ratio (BSR [max]). Two variables were added to the selection because of their low correlation with the others: the variation coefficient of the Relative Low Frequency Power (RLFP [var]) and the maximal value of the Spectral Edge Frequency (SEF

[max]). A total of six parameters were finally selected. For each parameter, the overall EEG classification performance (61-70%), the classification performance of EEG grades 2 (43-50%) in logistic regression analysis and precision decay when removed from the random forest model (1.4-9.1) are presented in [Table 2](#).

Table 2: Selection of six EEG quantitative parameters considering their performance in logistic regression analysis (p-values and EEG classification performances) and their importance in the random forest model (precision decay when the variable is removed from the model).

Quantitative parameters	p-value	Overall EEG classification performance	Grades 2 EEG classification performance	Precision decay
MinAI [mean]	<0.0001	70%	50%	7.8
MaxAI [min]	<0.0001	66%	47%	9.1
ATP [min]	0.0011	62%	47%	6.2
RLFP [var]	<0.0001	61%	43%	3.4
SEF [max]	0.0003	61%	43%	1.4
BSR [max]	<0.0001	69%	47%	5.1

MinAI [mean]: mean value of the Minimal Amplitude Index; MaxAI [min]: minimal value of the Maximal Amplitude Index; ATP [min]: minimal value of the Absolute Total Power; RLFP [var]: variation coefficient of the Relative Low Frequency Power; SEF [max]: maximal value of the Spectral Ede Frequency; BSR [max]: maximal value of the Burst Suppression Ratio

Post-hoc analysis

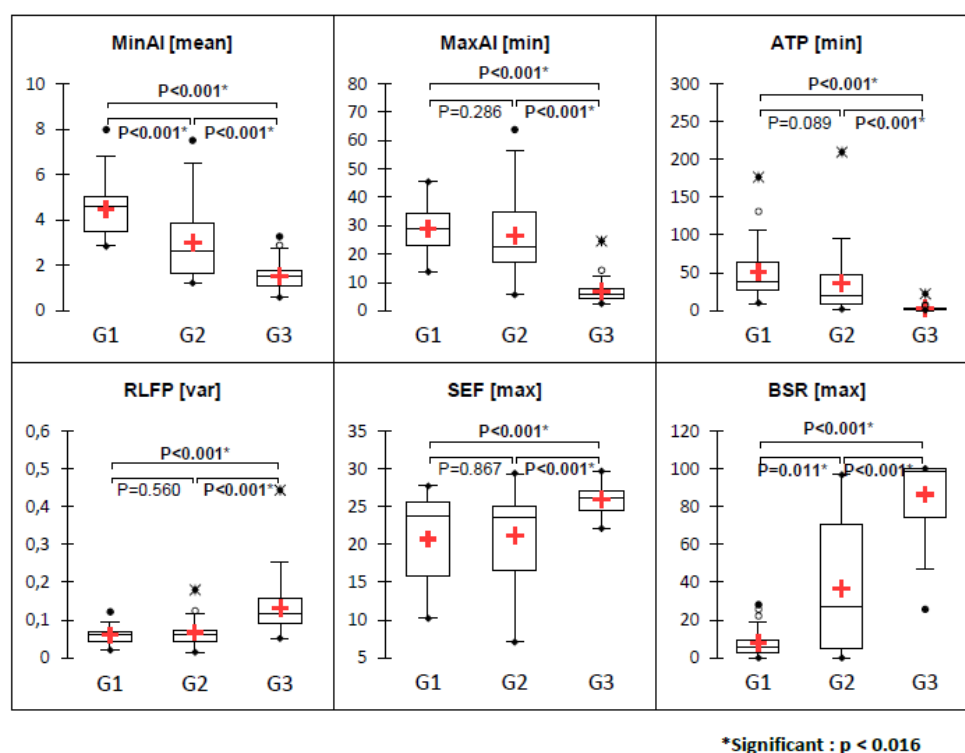
In relation to HIE severity groups

The values of the six selected parameters are presented by group in the [Table 3](#). The six parameters differed significantly between group 3 and groups 1 and 2 EEGs ($p < 0.001$). The mean value of the Minimal Amplitude Index and the maximal value of the Burst Suppression Ratio were different between the three groups ($p < 0.01$) ([Fig.3](#)).

Table 3: Values of the six EEG parameters in the three HIE severity groups.

EEG parameters <i>[mean ± sd (min-max)]</i>	Group 1	Group 2	Group 3
Mean value of MinAI (μV)	4.6 ± 1.3 (2.8–8.0)	3.0 ± 1.6 (1.2–7.5)	1.5 ± 0.7 (0.6–3.3)
Minimal value of MaxAI (μV)	28.7 ± 8.1 (13.7–45.4)	26.5 ± 14.5 (5.6–63.8)	6.9 ± 4.5 (2.4–24.5)
Minimal value of ATP (μV^2)	50.5 ± 36.9 (9.9–176.1)	36.7 ± 42.4 (1.5–209.1)	2.7 ± 4.1 (0.2–22.0)
Variation coefficient of RLFP (%)	6.1 ± 2.4 (2.0–12.2)	6.5 ± 3.4 (1.4–17.9)	13.2 ± 7.5 (5.1–42.2)
Maximal value of SEF (Hz)	20.7 ± 5.8 (10.2–27.7)	21.1 ± 5.6 (7.1–29.4)	25.9 ± 2.1 (22.1–29.7)
Maximal value of BSR (%)	7.8 ± 7.7 (0.0–28.0)	36.7 ± 32.9 (0.0–96.7)	86.2 ± 20.8 (25.6–100.0)

MinAI: Minimal Amplitude Index; MaxAI: Maximal Amplitude Index; ATP: Absolute Total Power; RLFP: Relative Low Frequency Power; SEF: Spectral Ede Frequency; BSR: Burst Suppression Ratio

Fig. 3. Distribution of the six selected EEG parameters in relation to the three HIE severity groups.*In relation to long-term prognosis*

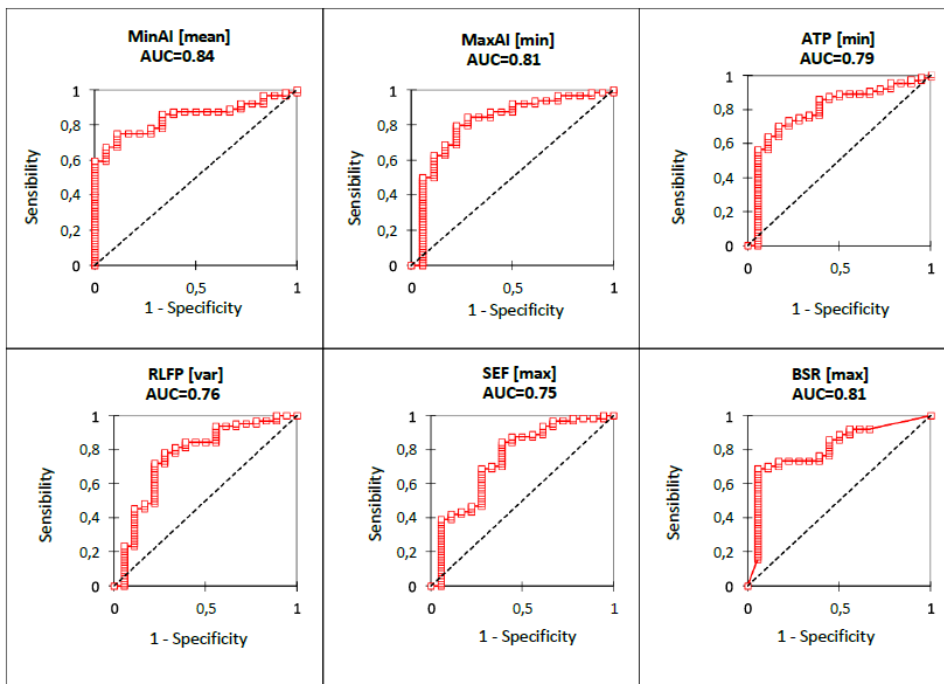
When EEGs were analyzed regarding the clinical outcome, independently from initial EEG group, it was observed that EEGs of children with a good outcome at three years of age were characterized by high amplitude and absolute total power values (MinAI, MaxAI, ATP). These children also had low BSR, RLFP and SEF values (Table 4). The areas under the ROC curves (AUC), reflecting the performance of each parameter in predicting clinical outcome, were all above 75% (Fig. 4).

Table 4: Values of the six EEG parameters in relation to the outcome at three years of age.

EEG parameters [mean ± sd (min-max)]	Good outcome	Poor outcome
Mean value of MinAI (μV)	3.5 ± 1.7 (0.6–8.0)	1.6 ± 0.6 (0.7–2.9)
Minimal value of MaxAI (μV)	24.1 ± 12.7 (2.4–56.6)	11.6 ± 14.4 (2.5–63.8)
Minimal value of ATP (μV ²)	36.1 ± 35.3 (0.2–176.1)	16.3 ± 48.5 (0.3–209.1)
Variation coefficient of RLFP (%)	7.1 ± 3.6 (2.0–17.9)	13.1 ± 9.1 (1.4–44.2)
Maximal value of SEF (Hz)	21.6 ± 5.2 (10.2–29.4)	25.1 ± 4.9 (7.1–29.7)
Maximal value of BSR (%)	31.4 ± 36.2 (0.0–100.0)	76.0 ± 29.5 (0.0–100.0)

MinAI: Minimal Amplitude Index; MaxAI: Maximal Amplitude Index; ATP: Absolute Total Power; RLFP: Relative Low Frequency Power; SEF: Spectral Ede Frequency; BSR: Burst Suppression Ratio

Fig. 4. ROC curves of the six selected EEG parameters for outcome prediction at age three.



DISCUSSION

This study provides quantitative data that is complementary to visual analysis in early neonatal EEGs. Using logistic regression and a random forest classifier, we selected six EEG parameters as the best reflectors of the French EEG classification for HIE; Minimal Amplitude Index (MinAI [mean]), Maximal Amplitude Index (MaxAI [min]) Absolute Total Power (ATP [min]), Burst Suppression Ratio (BSR [max]), Relative Low Frequency Power (RLFP [var]) and Spectral Edge Frequency (SEF [max]). These EEG parameters reflect EEG background characteristics known to be well associated with the severity of neonatal HIE: signal continuity, amplitude and frequency content [6,7,9,30,31,44].

The amplitude parameters (MinAI and MaxAI) decreased with cerebral injury severity. The mean value of Minimal AI decreased significantly from 5 μ V, to 3 μ V and 1.5 μ V in group 1, 2 and 3, respectively. The lowest value of Maximal AI was not significantly different between group 1 (29 μ V) and 2 (26.5 μ V) but decreased significantly in group 3 EEGs (7 μ V). These results are consistent with the values found in previous studies [11,23,42,43] and in particular in aEEG classifications of HIE severity proposed by al Naqeeb in 1999 and Hellström-Westas in 2006 [19,32] (Table A.3). Experimental studies have shown that severe cerebral anoxia was associated with an initial suppression of the EEG amplitude during the primary phase of energy failure and during the latent phase despite normalisation of energy mechanism [3,17,21].

Burst Suppression Ratio (BSR) increased with HIE severity grades (8%, 37% and 86% in groups 1, 2 and 3, respectively). As in previous studies, the results show that IBI length was directly associated with long term prognosis [30]. Different methods have already been proposed for IBI detection [12,14,16]. The BSR appears to be a simple and reliable measure of discontinuity in this study. Similarly, the variation coefficient of the Relative Low Frequency Power (RLFP) appears to be a marker of

discontinuity, sensitive to the alternation between burst and IBI. However, this parameter was discriminative only for very discontinuous tracings (group 3).

Regarding frequency content, Absolute Total Power (ATP) tended to decrease with HIE severity ($50 \mu V^2$, $37 \mu V^2$ and $3 \mu V^2$ in group 1, 2 and 3 respectively) but differed significantly only between group 1–2 and group 3. Between group 1 and 2 the decreasing reflected the slowing of the signal [7,49]. In group 3, the very low value corresponded to signal suppression in inactive tracings. We observed quite a similar pattern with SEF. SEF did not differ between group 1 and 2 but was high in very discontinuous traces: 26 Hz maximum in group 3. SEF is generally used to measure the depth of anaesthesia in adults and decrease from 16 to 12 Hz during effective anaesthesia [40]. It has been studied by Inder et al. in preterm born infants: SEF increased with gestational age (from 5 to 12 Hz between 30 and 40 SA), and a low value at term age was associated with white matter lesions and poor prognosis [8,20]. However, to date, no study had shown significant differences in SEF values between EEG HIE grades [13,23,49]. We interpret our results as an indirect reflection of discontinuity: to reach 95% of the signal, the algorithm needed to include nearly all the frequencies contained in the tracing, which explains this high value in group 3.

The six EEG quantitative parameters easily classified group 3 EEGs. Severe EEGs were characterized by high Burst Suppression Ratio (86% maximum), low amplitude ($1.5 \mu V$ minimum), low total power ($2.7 \mu V^2$ minimum) and high SEF values (26 Hz maximum). Minimal Amplitude Index and Burst Suppression Ratio by themselves discriminated between the three EEG groups. This confirms the importance of these two features as markers of anoxia and the results of previous studies [6,23,30].

As visual discrimination between EEG grades 1 and 2 is the most difficult and represents a major therapeutic impact (indication for TH), the selection of our EEG parameters was particularly optimized for EEG grade 2 classification accuracy. BSR and Minimal Amplitude Index were significantly different between groups 1 and 2, Minimal Amplitude Index being the most accurate. When the group 2 EEGs (moderate abnormalities) misclassified by MinAI were checked, we observed that these were either discontinuous type A traces or slow EEG, with one hyperactive rapid trace (Fig. 5-A). All of these children had normal neurological status at age 3 years. It is important to note that in group 2, the French classification is based also on patterns less amenable to quantitative analysis (hyperactive rapid traces for example). We also wish to emphasize that our quantitative analysis was performed over the entire EEG trace and did not measure the temporal organization and lability of the EEG, which are major criteria in visual interpretation.

In a second step we analysed the prognostic value of quantitative parameters themselves, independently from EEG visual classification. We were able to confirm that high amplitude values and low discontinuity values in early neonatal EEGs were associated with a favourable clinical outcome at 3 years of age.

We also want to highlight that we did not observe any significant difference in birth condition and neonatal laboratory results between our three groups of increasing HIE severity, even though these parameters are still considered as hallmarks of HIE in routine care. Lactate and pH values were very close in our 3 groups. Previous studies have shown limitations of these biomarkers for brain damage detection and have searched for more sensitive biological parameters is an active field [1,15,36]. This is the first study to demonstrate the absence of relationship between pH, lactate and EEG grades. This again highlights the relevance of EEG as an early marker of anoxic brain injury and its central role in NICUs, ideally embedded in a Neonatal Neurocritical Care Program [35].

Our study was conducted in conditions as close as possible to daily practice. We used commercially available embedded tools and analyzed the entire EEG trace, using the raw signal. Results were adjusted for newborn body temperature at the time of EEG recording, as this parameter was significantly associated with HIE severity groups. As a consequence, we expect that these quantitative EEG values, especially for amplitude and discontinuity, can be used as references to facilitate visual classification.

This study has some limitations. Some unreadable EEGs were removed from analysis. We did not specifically deal with traces showing seizures, which could lead to underestimation of discontinuity or low amplitude signal (Fig. 5-B). However, seizures were not frequent in our tracings, as expected in early EEGs recorded here at H4 of life on average [28]. As well, the presence of artefacts could disrupt the quantitative analysis and we tried to minimize their impact by selecting the least sensitive EEG parameters.

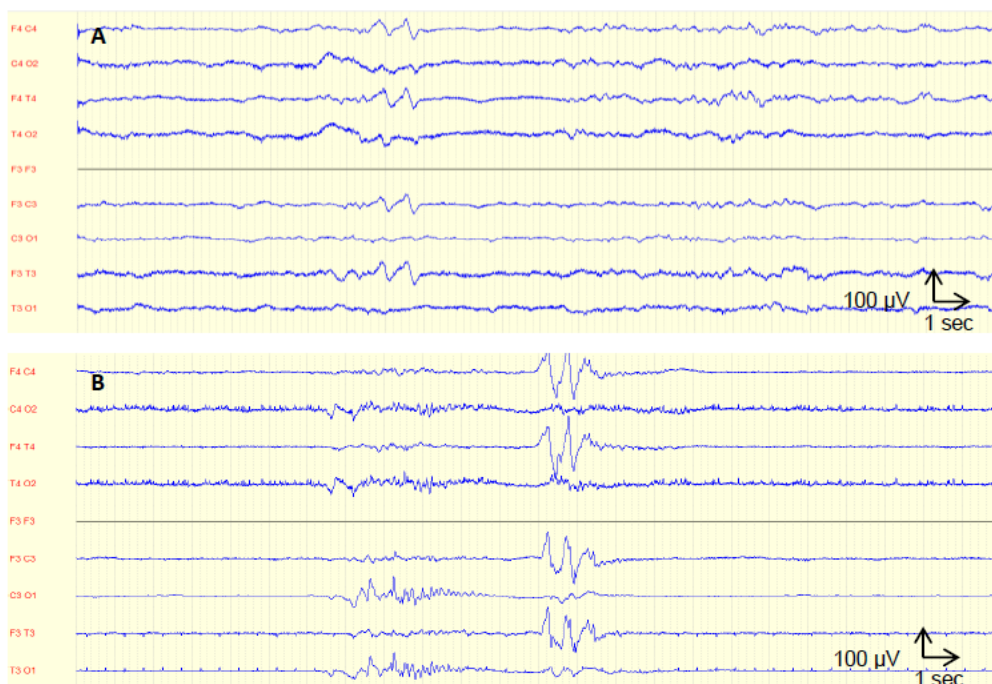
In most studies including consecutive EEG recordings, the most severe ones are underrepresented, as this situation is less frequent. To achieve valid statistical analysis, we decided to constitute three groups of equal size.

Using these quantitative EEG parameters individually remains limited for intermediate EEG grading. A combining approach with a multiparametric algorithm may contribute to improve the EEG classification performances. Such an algorithm could be easily implemented in an EEG machine for early HIE automatic classification at the bedside in NICU, helping to determine the indication for TH when the neurophysiologist is not available to interpret the EEG within 6 hours after perinatal asphyxia. In this case, optimisation of grade 2 classification remains necessary.

Fig. 5. Examples of misclassified EEGs

A - Visual classification: grade 2 (slow EEG) / MinAI classification: grade 1 (normal amplitude)

B - Visual classification: grade 3 (paroxysmal tracing) / MinAI classification: grade 2 (falsely higher amplitude due to a permanent artefact on C4-O2).



CONCLUSION

Our study proposes six relevant quantitative EEG parameters as early markers of neonatal HIE severity, selected for their capacity to replicate neonatal HIE visual classification. These parameters also demonstrated their prognostic value for clinical outcome independently from visual EEG grading mainly by detecting traces that were very severely abnormal. Their usefulness on an individual basis remains limited for intermediate traces. Thus, they should be considered as complementary to visual analysis. We plan to combine them in a multiparametric algorithm to improve their performance.

Declarations of interest: none. This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

REFERENCES

1. Rainaldi MA, Perlman JM. Pathophysiology of Birth Asphyxia. *Clin Perinatol*. 2016 Sep;43(3):409–22.
2. Stevenson DK, Benitz WE, Sunshine P, Hintz SR, Druzin ML. *Fetal and Neonatal Brain Injury*. Cambridge University Press; 2017. 855 p.
3. Thornberg E, Thiringer K, Odeback A, Milsom I. Birth asphyxia: incidence, clinical course and outcome in a Swedish population. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. 1995 Aug;84(8):927–32.
4. Wu YW, Backstrand K, Zhao S, Fullerton H, Johnston S. Declining Diagnosis of Birth Asphyxia in California: 1991–2000. *Pediatrics*. 2004;
5. Pierrat V, Haouari N, Liska A, Thomas D, Subtil D, Truffert P, et al. Prevalence, causes, and outcome at 2 years of age of newborn encephalopathy: population based study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2005 May;90(3):F257–61.
6. Dzakpasu S, Joseph KS, Huang L, Allen A, Sauve R, Young D, et al. Decreasing diagnoses of birth asphyxia in Canada: fact or artifact. *Pediatrics*. 2009 Apr;123(4):e668-672.
7. Garne E, Vain-Nielsen N, Hansen AV, Fenger-Grøn J. Birth asphyxia in a Danish hospital uptake area was reduced after centralisation of deliveries. *Dan Med J*. 2018 Feb;65(2):A5443.
8. Lawn JE, Cousens S, Zupan J. 4 million neonatal deaths: When? Where? Why? *The Lancet*. 2005 Mar 5;365(9462):891–900.
9. Rebeille-Borgella B. Étude LyTONEPAL : cohorte nationale de nouveau-nés à terme ou proche du terme présentant une encéphalopathie anoxo-ischémique : évaluation de la prévalence et description de la population d'étude. 2018 Apr 6;63.
10. Volpe JJ. *Neurology of the Newborn E-Book*. Elsevier Health Sciences; 2008. 1109 p.
11. Volpe JJ. Neonatal encephalopathy: an inadequate term for hypoxic-ischemic encephalopathy. *Ann Neurol*. 2012 Aug;72(2):156–66.
12. Perlman M, Shah PS. Hypoxic-Ischemic Encephalopathy: Challenges in Outcome and Prediction. *J Pediatr*. 2011 Feb 1;158(2, Supplement):e51–4.
13. Thoresen M, Satas S, Puka-Sundvall M, Whitelaw A, Hallström Å, Løberg E-M, et al. Post-hypoxic hypothermia reduces cerebrocortical release of NO and excitotoxins. *NeuroReport*. 1997 Oct;8(15):3359.
14. Inder TE, Volpe JJ. Mechanisms of perinatal brain injury. *Semin Neonatol*. 2000 Feb 1;5(1):3–16.

15. Roth SC, Baudin J, Cady E, Johal K, Townsend JP, Wyatt JS, et al. Relation of deranged neonatal cerebral oxidative metabolism with neurodevelopmental outcome and head circumference at 4 years. *Dev Med Child Neurol*. 1997 Nov;39(11):718–25.
16. Hanrahan JD, Cox IJ, Azzopardi D, Cowan FM, Sargentoni J, Bell JD, et al. Relation between proton magnetic resonance spectroscopy within 18 hours of birth asphyxia and neurodevelopment at 1 year of age. *Dev Med Child Neurol*. 1999 Feb;41(2):76–82.
17. Itskovitz J, LaGamma EF, Rudolph AM. Heart rate and blood pressure responses to umbilical cord compression in fetal lambs with special reference to the mechanism of variable deceleration. *Am J Obstet Gynecol*. 1983 Oct 15;147(4):451–7.
18. Giussani DA, Spencer JA, Hanson MA. Fetal cardiovascular reflex responses to hypoxaemia. *Fetal Matern Med Rev*. 1994 Feb;6(1):17–37.
19. Bennet L, Westgate JA, Liu Y-C (“Jack”), Wassink G, Gunn AJ. Fetal acidosis and hypotension during repeated umbilical cord occlusions are associated with enhanced chemoreflex responses in near-term fetal sheep. *J Appl Physiol*. 2005 Oct 1;99(4):1477–82.
20. Lear CA, Galinsky R, Wassink G, Yamaguchi K, Davidson JO, Westgate JA, et al. The myths and physiology surrounding intrapartum decelerations: the critical role of the peripheral chemoreflex. *J Physiol*. 2016 Sep 1;594(17):4711–25.
21. Recher M, Prevost ALD, Sharma D, De Jonckheere J, Garabedian C, Storme L. Roles of parasympathetic outflow and sympathetic outflow in the cardiovascular response to brief umbilical cord occlusion in fetal sheep. *PLoS ONE*. 2021 Jul 6;16(7):e0254155.
22. Jensen A, Garnier Y, Berger R. Dynamics of fetal circulatory responses to hypoxia and asphyxia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1999 Jun;84(2):155–72.
23. Wassink G, Bennet L, Booth LC, Jensen EC, Wibbens B, Dean JM, et al. The ontogeny of hemodynamic responses to prolonged umbilical cord occlusion in fetal sheep. *J Appl Physiol Bethesda Md 1985*. 2007 Oct;103(4):1311–7.
24. Garabedian C, De Jonckheere J, Butruille L, Deruelle P, Storme L, Houfflin-Debarge V. Understanding fetal physiology and second line monitoring during labor. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2017 Feb;46(2):113–7.
25. Koehler RC, Jones MD, Traystman RJ. Cerebral circulatory response to carbon monoxide and hypoxic hypoxia in the lamb. *Am J Physiol*. 1982 Jul;243(1):H27–32.
26. Kaneko M, White S, Homan J, Richardson B. Cerebral blood flow and metabolism in relation to electrocortical activity with severe umbilical cord occlusion in the near-term ovine fetus. *Am J Obstet Gynecol*. 2003 Apr 1;188(4):961–72.
27. Richardson BS, Carmichael L, Homan J, Johnston L, Gagnon R. Fetal cerebral, circulatory, and metabolic responses during heart rate decelerations with umbilical cord compression. *Am J Obstet Gynecol*. 1996 Oct;175(4 Pt 1):929–36.

28. Newman JP, Peebles DM, Hanson MA. Adenosine Produces Changes in Cerebral Hemodynamics and Metabolism as Assessed by Near-Infrared Spectroscopy in Late-Gestation Fetal Sheep in Utero. *Pediatr Res*. 2001 Aug;50(2):217–21.
29. Hunter CJ, Bennet L, Power GG, Roelfsema V, Blood AB, Quaedackers JS, et al. Key neuroprotective role for endogenous adenosine A1 receptor activation during asphyxia in the fetal sheep. *Stroke*. 2003 Sep;34(9):2240–5.
30. Nguyen PN, Yan EB, Castillo-Melendez M, Walker DW, Hirst JJ. Increased allopregnanolone levels in the fetal sheep brain following umbilical cord occlusion. *J Physiol*. 2004 Oct 15;560(Pt 2):593–602.
31. Bennet L, Roelfsema V, Dean JM, Wassink G, Power GG, Jensen EC, et al. Regulation of cytochrome oxidase redox state during umbilical cord occlusion in preterm fetal sheep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2007 Apr;292(4):R1569-1576.
32. Yawno T, Yan EB, Hirst JJ, Walker DW. Neuroactive steroids induce changes in fetal sheep behavior during normoxic and asphyxic states. *Stress*. 2011 Jan 1;14(1):13–22.
33. Xu A, Durosier LD, Ross MG, Hammond R, Richardson BS, Frasch MG. Adaptive brain shut-down counteracts neuroinflammation in the near-term ovine fetus. *Front Neurol*. 2014;5:110.
34. Astrup J. Energy-requiring cell functions in the ischemic brain. Their critical supply and possible inhibition in protective therapy. *J Neurosurg*. 1982 Apr;56(4):482–97.
35. Chao CR, Hohimer AR, Bissonnette JM. The effect of elevated blood glucose on the electroencephalogram and cerebral metabolism during short-term brain ischemia in fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol*. 1989 Jul 1;161(1):221–8.
36. Fisher DJ. Acidaemia reduces cardiac output and left ventricular contractility in conscious lambs. *J Dev Physiol*. 1986 Feb;8(1):23–31.
37. Lewinsky RM. Cardiac systolic time intervals and other parameters of myocardial contractility as indices of fetal acid-base status. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol*. 1994 Sep;8(3):663–81.
38. Bennet L, Rossenrode S, Gunning MI, Gluckman PD, Gunn AJ. The cardiovascular and cerebrovascular responses of the immature fetal sheep to acute umbilical cord occlusion. *J Physiol*. 1999 May 15;517(Pt 1):247.
39. Gunn AJ, Maxwell L, de Haan HH, Bennet L, Williams CE, Gluckman PD, et al. Delayed hypotension and subendocardial injury after repeated umbilical cord occlusion in near-term fetal lambs. *Am J Obstet Gynecol*. 2000 Dec 1;183(6):1564–72.
40. Yumoto Y, Satoh S, Fujita Y, Koga T, Kinukawa N, Nakano H. Noninvasive measurement of isovolumetric contraction time during hypoxemia and acidemia: Fetal lamb validation as an index of cardiac contractility. *Early Hum Dev*. 2005 Jul 1;81(7):635–42.

41. Gunn AJ, Bennet L. Fetal Hypoxia Insults and Patterns of Brain Injury: Insights from Animal Models. *Clin Perinatol*. 2009 Sep 1;36(3):579–93.
42. Frasch MG, Keen AE, Gagnon R, Ross MG, Richardson BS. Monitoring fetal electrocortical activity during labour for predicting worsening acidemia: a prospective study in the ovine fetus near term. *PLoS One*. 2011;6(7):e22100.
43. Astrup J, Symon L, Branston NM, Lassen NA. Cortical evoked potential and extracellular K⁺ and H⁺ at critical levels of brain ischemia. *Stroke*. 1977 Feb;8(1):51–7.
44. Wassink G, Gunn ER, Drury PP, Bennet L, Gunn AJ. The mechanisms and treatment of asphyxial encephalopathy. *Front Neurosci*. 2014;8:40.
45. Lotgering FK, Bishai JM, Struijk PC, Blood AB, Hunter CJ, Power GG, et al. Ten-minute umbilical cord occlusion markedly reduces cerebral blood flow and heat production in fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol*. 2003 Jul;189(1):233–8.
46. Tan WKM, Williams CE, During MJ, Mallard CE, Gunning MI, Gunn AJ, et al. Accumulation of Cytotoxins During the Development of Seizures and Edema after Hypoxic-Ischemic Injury in Late Gestation Fetal Sheep. *Pediatr Res*. 1996 May;39(5):791–7.
47. Northington FJ, Chavez-Valdez R, Martin LJ. Neuronal cell death in neonatal hypoxia-ischemia. *Ann Neurol*. 2011 May;69(5):743–58.
48. Hossmann K-A. Pathophysiology and Therapy of Experimental Stroke. *Cell Mol Neurobiol*. 2006 Nov 1;26(7):1055–81.
49. El-Dib M, Inder TE, Chalak LF, Massaro AN, Thoresen M, Gunn AJ. Should therapeutic hypothermia be offered to babies with mild neonatal encephalopathy in the first 6 h after birth? *Pediatr Res*. 2019 Mar;85(4):442–8.
50. Iwata O, Iwata S, Bainbridge A, De Vita E, Matsuishi T, Cady EB, et al. Supra- and sub-baseline phosphocreatine recovery in developing brain after transient hypoxia-ischaemia: relation to baseline energetics, insult severity and outcome. *Brain J Neurol*. 2008 Aug;131(Pt 8):2220–6.
51. Gunn AJ, Gunn TR, Haan HH de, Williams CE, Gluckman PD. Dramatic neuronal rescue with prolonged selective head cooling after ischemia in fetal lambs. *J Clin Invest*. 1997 Jan 15;99(2):248–56.
52. Bennet L, Roelfsema V, Pathipati P, Quaedackers JS, Gunn AJ. Relationship between evolving epileptiform activity and delayed loss of mitochondrial activity after asphyxia measured by near-infrared spectroscopy in preterm fetal sheep. *J Physiol*. 2006 Apr 1;572(Pt 1):141–54.
53. Jensen EC, Bennet L, Hunter CJ, Power GC, Gunn AJ. Post-hypoxic hypoperfusion is associated with suppression of cerebral metabolism and increased tissue oxygenation in near-term fetal sheep. *J Physiol*. 2006 Apr 1;572(Pt 1):131–9.

54. Gunn AJ, Laptook AR, Robertson NJ, Barks JD, Thoresen M, Wassink G, et al. Therapeutic hypothermia translates from ancient history in to practice. *Pediatr Res*. 2017 Jan;81(1–2):202–9.
55. Zhu C, Wang X, Xu F, Bahr BA, Shibata M, Uchiyama Y, et al. The influence of age on apoptotic and other mechanisms of cell death after cerebral hypoxia-ischemia. *Cell Death Differ*. 2005 Feb;12(2):162–76.
56. Mallard C, Davidson JO, Tan S, Green CR, Bennet L, Robertson NJ, et al. Astrocytes and microglia in acute cerebral injury underlying cerebral palsy associated with preterm birth. *Pediatr Res*. 2014 Jan;75(1–2):234–40.
57. Keogh MJ, Drury PP, Bennet L, Davidson JO, Mathai S, Gunn ER, et al. Limited predictive value of early changes in EEG spectral power for neural injury after asphyxia in preterm fetal sheep. *Pediatr Res*. 2012 Apr;71(1):345–53.
58. Davidson JO, Wassink G, Yuill CA, Zhang FG, Bennet L, Gunn AJ. How long is too long for cerebral cooling after ischemia in fetal sheep? *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. 2015 May;35(5):751–8.
59. de Vries LS, Groenendaal F. Patterns of neonatal hypoxic–ischaemic brain injury. *Neuroradiology*. 2010 Jun;52(6):555–66.
60. Laptook AR, Corbett RJ, Sterett R, Garcia D, Tollefsbol G. Quantitative relationship between brain temperature and energy utilization rate measured in vivo using ³¹P and ¹H magnetic resonance spectroscopy. *Pediatr Res*. 1995 Dec;38(6):919–25.
61. Nakashima K, Todd MM, Warner DS. The Relation between Cerebral Metabolic Rate and Ischemic Depolarization : A Comparison of the Effects of Hypothermia, Pentobarbital, and Isoflurane. *Anesthesiology*. 1995 May 1;82(5):1199–208.
62. Xu R-X, Nakamura T, Nagao S, Miyamoto O, Jin L, Toyoshima T, et al. Specific Inhibition of Apoptosis after Cold-induced Brain Injury by Moderate Postinjury Hypothermia. *Neurosurgery*. 1998 Jul 1;43(1):107–14.
63. Ooboshi H, Ibayashi S, Takano K, Sadoshima S, Kondo A, Uchimura H, et al. Hypothermia inhibits ischemia-induced efflux of amino acids and neuronal damage in the hippocampus of aged rats. *Brain Res*. 2000 Nov 24;884(1):23–30.
64. Tooley JR, Satas S, Porter H, Silver IA, Thoresen M. Head cooling with mild systemic hypothermia in anesthetized piglets is neuroprotective. *Ann Neurol*. 2003 Jan;53(1):65–72.
65. Roelfsema V, Bennet L, George S, Wu D, Guan J, Veerman M, et al. Window of opportunity of cerebral hypothermia for postischemic white matter injury in the near-term fetal sheep. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. 2004 Aug;24(8):877–86.

66. Baumann E, Preston E, Slinn J, Stanimirovic D. Post-ischemic hypothermia attenuates loss of the vascular basement membrane proteins, agrin and SPARC, and the blood–brain barrier disruption after global cerebral ischemia. *Brain Res.* 2009 May 7;1269:185–97.
67. Zhou KQ, Draghi V, Lear CA, Dean JM, Ashton JL, Hou Y, et al. Protection of axonal integrity with 48 or 72 h of cerebral hypothermia in near-term fetal sheep. *Pediatr Res.* 2020 Jul;88(1):48–56.
68. Dean JM, George SA, Wassink G, Gunn AJ, Bennet L. Suppression of post-hypoxic-ischemic EEG transients with dizocilpine is associated with partial striatal protection in the preterm fetal sheep. *Neuropharmacology.* 2006 Mar 1;50(4):491–503.
69. Bennet L, Dean JM, Wassink G, Gunn AJ. Differential effects of hypothermia on early and late epileptiform events after severe hypoxia in preterm fetal sheep. *J Neurophysiol.* 2007 Jan;97(1):572–8.
70. Srinivasakumar P, Zempel J, Wallendorf M, Lawrence R, Inder T, Mathur A. Therapeutic hypothermia in neonatal hypoxic ischemic encephalopathy: electrographic seizures and magnetic resonance imaging evidence of injury. *J Pediatr.* 2013 Aug;163(2):465–70.
71. Gunn AJ, Gunn TR, Gunning MI, Williams CE, Gluckman PD. Neuroprotection With Prolonged Head Cooling Started Before Postischemic Seizures in Fetal Sheep. *Pediatrics.* 1998 Nov 1;102(5):1098–106.
72. Gunn AJ, Bennet L, Gunning MI, Gluckman PD, Gunn TR. Cerebral hypothermia is not neuroprotective when started after postischemic seizures in fetal sheep. *Pediatr Res.* 1999 Sep;46(3):274–80.
73. Davidson JO, Yuill CA, Zhang FG, Wassink G, Bennet L, Gunn AJ. Extending the duration of hypothermia does not further improve white matter protection after ischemia in term-equivalent fetal sheep. *Sci Rep.* 2016 Apr 28;6(1):25178.
74. Azzopardi D, Brocklehurst P, Edwards D, Halliday H, Levene M, Thoresen M, et al. The TOBY Study. Whole body hypothermia for the treatment of perinatal asphyxial encephalopathy: a randomised controlled trial. *BMC Pediatr.* 2008 Apr 30;8:17.
75. Shankaran S, Pappas A, McDonald SA, Vohr BR, Hintz SR, Yolton K, et al. Childhood Outcomes after Hypothermia for Neonatal Encephalopathy. *N Engl J Med.* 2012 May 31;366(22):2085–92.
76. Jacobs SE, Berg M, Hunt R, Tarnow-Mordi WO, Inder TE, Davis PG. Cooling for newborns with hypoxic ischaemic encephalopathy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013 Jan 31;(1):CD003311.
77. Shankaran S, Laptook AR, Ehrenkranz RA, Tyson JE, McDonald SA, Donovan EF, et al. Whole-Body Hypothermia for Neonates with Hypoxic–Ischemic Encephalopathy. *N Engl J Med.* 2005 Oct 13;353(15):1574–84.

78. Azzopardi D, Strohm B, Marlow N, Brocklehurst P, Deierl A, Eddama O, et al. Effects of hypothermia for perinatal asphyxia on childhood outcomes. *N Engl J Med*. 2014 Jul 10;371(2):140–9.
79. Thoresen M, Tooley J, Liu X, Jary S, Fleming P, Luyt K, et al. Time is brain: starting therapeutic hypothermia within three hours after birth improves motor outcome in asphyxiated newborns. *Neonatology*. 2013;104(3):228–33.
80. Thoresen M, Whitelaw A. Cardiovascular changes during mild therapeutic hypothermia and rewarming in infants with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics*. 2000 Jul;106(1 Pt 1):92–9.
81. Gluckman PD, Wyatt JS, Azzopardi D, Ballard R, Edwards AD, Ferriero DM, et al. Selective head cooling with mild systemic hypothermia after neonatal encephalopathy: multicentre randomised trial. *The Lancet*. 2005 Feb 19;365(9460):663–70.
82. Saliba E, Debillon T. Neuroprotection par hypothermie contrôlée dans l'encéphalopathie hypoxique-ischémique du nouveau-né à terme. /data/revues/0929693X/v17sS3/S0929693X10709040/ [Internet]. 2010 Aug 21 [cited 2019 Apr 6]; Available from: <https://www.em-consulte.com/en/article/263302>
83. Bednarek N, Loron G, Venot P. [Perinatal neuroprotection in 2015]. *Arch Pediatr Organe Off Soc Francaise Pediatr*. 2015 Oct;22(10):1005–7.
84. Chevallier M, Ego A, Cans C, Debillon T, French Society of Neonatology. Adherence to hypothermia guidelines: a French multicenter study of fullterm neonates. *PloS One*. 2013;8(12):e83742.
85. Tian N, Zhang W. A Comprehensive Evaluation of the Predictive Abilities of Fetal Electrocardiogram-Derived Parameters during Labor in Newborn Acidemia: Our Institutional Experience. *BioMed Res Int*. 2018 May 17;2018:3478925.
86. Nelson KB, Dambrosia JM, Ting TY, Grether JK. Uncertain value of electronic fetal monitoring in predicting cerebral palsy. *N Engl J Med*. 1996 Mar 7;334(10):613–8.
87. GRAHAM EM, ADAMI RR, MCKENNEY SL, JENNINGS JM, BURD I, WITTER FR. Diagnostic Accuracy of Fetal Heart Rate Monitoring in the Identification of Neonatal Encephalopathy. *Obstet Gynecol*. 2014 Sep;124(3):507–13.
88. Murray DM, O'Riordan MN, Horgan R, Boylan G, Higgins JR, Ryan CA. Fetal heart rate patterns in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy: relationship with early cerebral activity and neurodevelopmental outcome. *Am J Perinatol*. 2009 Sep;26(8):605–12.
89. Ruth VJ, Raivio KO. Perinatal brain damage: predictive value of metabolic acidosis and the Apgar score. *Br Med J*. 1988 Jul 2;297(6640):24–7.

90. Low JA, Lindsay BG, Derrick EJ. Threshold of metabolic acidosis associated with newborn complications. *Am J Obstet Gynecol*. 1997 Dec;177(6):1391–4.
91. King TA, Jackson GL, Josey AS, Vedro DA, Hawkins H, Burton KM, et al. The effect of profound umbilical artery acidemia in term neonates admitted to a newborn nursery. *J Pediatr*. 1998 Apr 1;132(4):624–9.
92. Casey BM, McIntire DD, Leveno KJ. The Continuing Value of the Apgar Score for the Assessment of Newborn Infants. *N Engl J Med*. 2001 Feb 15;344(7):467–71.
93. Murray DM, Boylan GB, Fitzgerald AP, Ryan CA, Murphy BP, Connolly S. Persistent lactic acidosis in neonatal hypoxic–ischaemic encephalopathy correlates with EEG grade and electrographic seizure burden. *Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed*. 2008 May 1;93(3):F183–6.
94. Tokuhisa T, Ibara S, Minakami H, Maede Y, Ishihara C, Matsui T. Outcome of infants with hypoxic ischemic encephalopathy treated with brain hypothermia. *J Obstet Gynaecol Res*. 2015;41(2):229–37.
95. Ross MG. Threshold of metabolic acidosis associated with newborn cerebral palsy: medical legal implications. *Am J Obstet Gynecol*. 2019 Apr;220(4):348–53.
96. Peeples ES, Rao R, Dizon MLV, Johnson YR, Joe P, Flibotte J, et al. Predictive Models of Neurodevelopmental Outcomes After Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy. *Pediatrics*. 2021 Feb;147(2).
97. Perlman JM, Risser R. Severe fetal acidemia: Neonatal neurologic features and short-term outcome. *Pediatr Neurol*. 1993 Jul 1;9(4):277–82.
98. Apgar V. A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant. *Curr Res Anesth Analg*. 1953 Aug;32(4):260–7.
99. Moster D, Lie RT, Irgens LM, Bjerkedal T, Markestad T. The association of Apgar score with subsequent death and cerebral palsy: A population-based study in term infants. *J Pediatr*. 2001 Jun;138(6):798–803.
100. Laptook AR, Shankaran S, Ambalavanan N, Carlo WA, McDonald SA, Higgins RD, et al. Outcome of term infants using apgar scores at 10 minutes following hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics*. 2009 Dec;124(6):1619.
101. Ehrenstein V. Association of Apgar scores with death and neurologic disability. *Clin Epidemiol*. 2009 Aug 9;1:45–53.
102. Natarajan G, Shankaran S, Laptook AR, Pappas A, Bann CM, McDonald SA, et al. Apgar scores at 10 min and outcomes at 6-7 years following hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2013 Nov;98(6):F473-479.
103. Sarnat HB, Sarnat MS. Neonatal encephalopathy following fetal distress. A clinical and electroencephalographic study. *Arch Neurol*. 1976 Oct;33(10):696–705.

104. Leviton A, Nelson KB. Problems with definitions and classifications of newborn encephalopathy. *Pediatr Neurol*. 1992 Apr;8(2):85–90.
105. Thompson CM, Puterman AS, Linley LL, Hann FM, van der Elst CW, Molteno CD, et al. The value of a scoring system for hypoxic ischaemic encephalopathy in predicting neurodevelopmental outcome. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. 1997 Jul;86(7):757–61.
106. Walsh BH, Neil J, Morey J, Yang E, Silvera MV, Inder TE, et al. The Frequency and Severity of Magnetic Resonance Imaging Abnormalities in Infants with Mild Neonatal Encephalopathy. *J Pediatr*. 2017 Aug;187:26-33.e1.
107. DuPont TL, Chalak LF, Morriss MC, Burchfield PJ, Christie L, Sánchez PJ. Short-Term Outcomes of Newborns with Perinatal Acidemia Who are Not Eligible for Systemic Hypothermia Therapy. *J Pediatr*. 2013 Jan 1;162(1):35–41.
108. Lamblin M-D, Walls Esquivel E, André M. The electroencephalogram of the full-term newborn: review of normal features and hypoxic-ischemic encephalopathy patterns. *Neurophysiol Clin Clin Neurophysiol*. 2013 Dec;43(5–6):267–87.
109. Boylan GB, Kharoshankaya L, Mathieson SR. Diagnosis of seizures and encephalopathy using conventional EEG and amplitude integrated EEG. *Handb Clin Neurol*. 2019;162:363–400.
110. Bourel-Ponchel E, Gueden S, Hasaerts D, Héberlé C, Malfilâtre G, Mony L, et al. Normal EEG during the neonatal period: maturational aspects from premature to full-term newborns. *Neurophysiol Clin Clin Neurophysiol*. 2021 Jan;51(1):61–88.
111. Boylan GB, Murray DM, Rennie JM. The normal EEG and aEEG. In: *Neonatal Cerebral Investigation* [Internet]. 2008 [cited 2018 Feb 10]. p. 83–91. Available from: <http://discovery.ucl.ac.uk/1495196/>
112. Murray DM, Boylan GB, Ryan CA, Connolly S. Early EEG findings in hypoxic-ischemic encephalopathy predict outcomes at 2 years. *Pediatrics*. 2009 Sep;124(3):e459-467.
113. Walsh BH, Murray DM, Boylan GB. The use of conventional EEG for the assessment of hypoxic ischaemic encephalopathy in the newborn: a review. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2011 Jul;122(7):1284–94.
114. Leroy-Terquem E, Vermersch AI, Dean P, Assaf Z, Boddaert N, Lapillonne A, et al. Abnormal Interhemispheric Synchrony in Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy: A Retrospective Pilot Study. *Neonatology*. 2017;112(4):359–64.
115. Scavone C, Radvanyi-Bouvet MF, Morel-Kahn F, Dreyfus-Brisac C. Coma apres souffrance foetale aigue chez le nouveau-ne a terme: Evolution electro-clinique. *Rev Electroencéphalographie Neurophysiol Clin*. 1985 Dec 1;15(3):279–88.
116. Pezzani C, Radvanyi-Bouvet MF, Relier JP, Monod N. Neonatal electroencephalography during the first twenty-four hours of life in full-term newborn infants. *Neuropediatrics*. 1986 Feb;17(1):11–8.

117. Lamblin M, Racoussot S, Pierrat V, Duquennoy C, Ouahsine T, Lequien P, et al. Encéphalopathie anoxo-ischémique du nouveau-né à terme. Apport de l'électroencéphalogramme et de l'échographie transfontanellaire à l'évaluation pronostique. À propos de 29 observations. *Neurophysiol Clin Neurophysiol*. 1996 Jan 1;26(6):369–78.
118. Pressler RM, Boylan GB, Morton M, Binnie CD, Rennie JM. Early serial EEG in hypoxic ischaemic encephalopathy. *Clin Neurophysiol*. 2001 Jan 1;112(1):31–7.
119. Nash KB, Bonifacio SL, Glass HC, Sullivan JE, Barkovich AJ, Ferriero DM, et al. Video-EEG monitoring in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy treated with hypothermia. *Neurology*. 2011 Feb 8;76(6):556–62.
120. Hamelin S, Delnard N, Cneude F, Debillon T, Vercueil L. Influence of hypothermia on the prognostic value of early EEG in full-term neonates with hypoxic ischemic encephalopathy. /data/revues/09877053/v41i1/S0987705310001097/ [Internet]. 2011 Feb 10 [cited 2020 May 13]; Available from: <https://www.em-consulte.com/en/article/281025>
121. De Haan HH, Gunn AJ, Williams CE, Gluckman PD. Brief Repeated Umbilical Cord Occlusions Cause Sustained Cytotoxic Cerebral Edema and Focal Infarcts in Near-Term Fetal Lambs. *Pediatr Res*. 1997 Jan;41(1):96–104.
122. Fraser M, Bennet L, Gunning M, Williams C, Gluckman PD, George S, et al. Cortical electroencephalogram suppression is associated with post-ischemic cortical injury in 0.65 gestation fetal sheep. *Dev Brain Res*. 2005 Jan 1;154(1):45–55.
123. Bednarek N, Delebarre G, Saad S, Loron G, Mezguiche F, Morville P. L'EEG d'amplitude : description, applications, avantages et inconvénients. *Arch Pédiatrie*. 2008 Aug 1;15(8):1326–31.
124. Hellström-Westas L. Monitoring brain function with aEEG in term asphyxiated infants before and during cooling. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. 2013 Jul;102(7):678–9.
125. Shellhaas RA, Gallagher PR, Clancy RR. Assessment of neonatal electroencephalography (EEG) background by conventional and two amplitude-integrated EEG classification systems. *J Pediatr*. 2008 Sep;153(3):369–74.
126. al Naqeeb N, Edwards AD, Cowan FM, Azzopardi D. Assessment of neonatal encephalopathy by amplitude-integrated electroencephalography. *Pediatrics*. 1999 Jun;103(6 Pt 1):1263–71.
127. Hellström-Westas L, Rosén I, Vries LS de, Greisen G. Amplitude-integrated EEG Classification and Interpretation in Preterm and Term Infants. *NeoReviews*. 2006 Feb 1;7(2):e76–87.
128. Toet MC, van der Meij W, de Vries LS, Uiterwaal CSPM, van Huffelen KC. Comparison between simultaneously recorded amplitude integrated electroencephalogram

- (cerebral function monitor) and standard electroencephalogram in neonates. *Pediatrics*. 2002 May;109(5):772–9.
129. Hellström-Westas L, Rosén I, Svenningsen NW. Predictive value of early continuous amplitude integrated EEG recordings on outcome after severe birth asphyxia in full term infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1995 Jan;72(1):F34–38.
 130. Toet M, Hellstrom-Westas L, Groenendaal F, Eken P, de Vries LS. Amplitude integrated EEG 3 and 6 hours after birth in full term neonates with hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1999 Jul;81(1):F19–23.
 131. Chandrasekaran M, Chaban B, Montaldo P, Thayyil S. Predictive value of amplitude-integrated EEG (aEEG) after rescue hypothermic neuroprotection for hypoxic ischemic encephalopathy: a meta-analysis. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc*. 2017;37(6):684–9.
 132. Rennie JM, Chorley G, Boylan GB, Pressler R, Nguyen Y, Hooper R. Non-expert use of the cerebral function monitor for neonatal seizure detection. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2004 Jan;89(1):F37–40.
 133. Hellström-Westas L, Rosén I, Vries LS de, Greisen G. Amplitude-integrated EEG Classification and Interpretation in Preterm and Term Infants. *NeoReviews*. 2006 Feb 1;7(2):e76–87.
 134. Bernet V, Latal B, Natalucci G, Doell C, Ziegler A, Wohlrab G. Effect of Sedation and Analgesia on Postoperative Amplitude-Integrated EEG in Newborn Cardiac Patients. *Pediatr Res*. 2010 Jun;67(6):650–5.
 135. Evans E, Koh S, Lerner J, Sankar R, Garg M. Accuracy of amplitude integrated EEG in a neonatal cohort. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2010 May;95(3):F169–173.
 136. Hallberg B, Grossmann K, Bartocci M, Blennow M. The prognostic value of early aEEG in asphyxiated infants undergoing systemic hypothermia treatment. *Acta Paediatr Oslo Nor 1992*. 2010 Apr;99(4):531–6.
 137. Thoresen M, Hellström-Westas L, Liu X, de Vries LS. Effect of hypothermia on amplitude-integrated electroencephalogram in infants with asphyxia. *Pediatrics*. 2010 Jul;126(1):e131–139.
 138. Rakshasbhuvankar A, Paul S, Nagarajan L, Ghosh S, Rao S. Amplitude-integrated EEG for detection of neonatal seizures: a systematic review. *Seizure*. 2015 Dec;33:90–8.
 139. Shah NA, Van Meurs KP, Davis AS. Amplitude-integrated electroencephalography: a survey of practices in the United States. *Am J Perinatol*. 2015 Jul;32(8):755–60.
 140. Ramaswamy V, Horton J, Vandermeer B, Buscemi N, Miller S, Yager J. Systematic review of biomarkers of brain injury in term neonatal encephalopathy. *Pediatr Neurol*. 2009 Mar;40(3):215–26.

141. Bennet L, Booth L, Gunn AJ. Potential biomarkers for hypoxic-ischemic encephalopathy. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2010 Oct;15(5):253–60.
142. Satriano A, Pluchinotta F, Gazzolo F, Serpero L, Gazzolo D. The potentials and limitations of neuro-biomarkers as predictors of outcome in neonates with birth asphyxia. *Early Hum Dev.* 2017 Feb 1;105:63–7.
143. O’Boyle DS, Dunn WB, O’Neill D, Kirwan JA, Broadhurst DI, Hallberg B, et al. Improvement in the Prediction of Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy with the Integration of Umbilical Cord Metabolites and Current Clinical Makers. *J Pediatr.* 2021 Feb;229:175-181.e1.
144. Ruhfus M, Giannakis S, Markus M, Stein A, Hoehn T, Felderhoff-Mueser U, et al. Association of Routinely Measured Proinflammatory Biomarkers With Abnormal MRI Findings in Asphyxiated Neonates Undergoing Therapeutic Hypothermia. *Front Pediatr.* 2021;9:624652.
145. Liu J, Cao H-Y, Huang X-H, Wang Q. The pattern and early diagnostic value of Doppler ultrasound for neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Trop Pediatr.* 2007 Oct;53(5):351–4.
146. Vasiljević B, Maglajlić-Djukić S, Stanković S, Lutovacs D, Gojnić M. [Predictive value of color Doppler neuro-sonography for the development of neurological sequels in newborn infants with hypoxic ischemic encephalopathy]. *Vojnosanit Pregl.* 2011 Oct;68(10):825–31.
147. Elstad M, Whitelaw A, Thoresen M. Cerebral Resistance Index is less predictive in hypothermic encephalopathic newborns. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. 2011 Oct;100(10):1344–9.
148. Natique KR, Das Y, Maxey MN, Sepulveda P, Brown LS, Chalak LF. Early Use of Transcranial Doppler Ultrasonography to Stratify Neonatal Encephalopathy. *Pediatr Neurol.* 2021 Nov 1;124:33–9.
149. Dean JM, Gunn AJ, Wassink G, George S, Bennet L. Endogenous alpha2-adrenergic receptor-mediated neuroprotection after severe hypoxia in preterm fetal sheep. *Neuroscience.* 2006 Oct 27;142(3):615–28.
150. Keogh MJ, Bennet L, Drury PP, Booth LC, Mathai S, Naylor AS, et al. Subclinical exposure to low-dose endotoxin impairs EEG maturation in preterm fetal sheep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2012 Aug 1;303(3):R270-278.
151. Pressler RM, Boylan GB, Morton M, Binnie CD, Rennie JM. Early serial EEG in hypoxic ischaemic encephalopathy. *Clin Neurophysiol.* 2001 Jan 1;112(1):31–7.
152. Murray DM, Boylan GB, Ryan CA, Connolly S. Early EEG findings in hypoxic-ischemic encephalopathy predict outcomes at 2 years. *Pediatrics.* 2009 Sep;124(3):e459-467.

153. Hamelin S, Delnard N, Cneude F, Debillon T, Vercueil L. Influence of hypothermia on the prognostic value of early EEG in full-term neonates with hypoxic ischemic encephalopathy. *Neurophysiol Clin Clin Neurophysiol*. 2011 Feb;41(1):19–27.
154. Tsuchida TN. EEG background patterns and prognostication of neonatal encephalopathy in the era of hypothermia. *J Clin Neurophysiol Off Publ Am Electroencephalogr Soc*. 2013 Apr;30(2):122–5.
155. Awal MA, Lai MM, Azemi G, Boashash B, Colditz PB. EEG background features that predict outcome in term neonates with hypoxic ischaemic encephalopathy: A structured review. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2016 Jan;127(1):285–96.
156. Weeke LC, Boylan GB, Pressler RM, Hallberg B, Blennow M, Toet MC, et al. Role of EEG background activity, seizure burden and MRI in predicting neurodevelopmental outcome in full-term infants with hypoxic-ischaemic encephalopathy in the era of therapeutic hypothermia. *Eur J Paediatr Neurol EJPJN Off J Eur Paediatr Neurol Soc*. 2016 Nov;20(6):855–64.
157. De Wispelaere LA, Ouwehand S, Olsthoorn M, Govaert P, Smit LS, de Jonge RC, et al. Electroencephalography and brain magnetic resonance imaging in asphyxia comparing cooled and non-cooled infants. *Eur J Paediatr Neurol EJPJN Off J Eur Paediatr Neurol Soc*. 2019 Jan;23(1):181–90.
158. Thoresen M, Hellström-Westas L, Liu X, de Vries LS. Effect of hypothermia on amplitude-integrated electroencephalogram in infants with asphyxia. *Pediatrics*. 2010 Jul;126(1):e131-139.
159. Csekő AJ, Bangó M, Lakatos P, Kárdási J, Pusztai L, Szabó M. Accuracy of amplitude-integrated electroencephalography in the prediction of neurodevelopmental outcome in asphyxiated infants receiving hypothermia treatment. *Acta Paediatr Oslo Nor 1992*. 2013 Jul;102(7):707–11.
160. Del Río R, Ochoa C, Alarcon A, Arnáez J, Blanco D, García-Alix A. Amplitude Integrated Electroencephalogram as a Prognostic Tool in Neonates with Hypoxic-Ischemic Encephalopathy: A Systematic Review. *PloS One*. 2016;11(11):e0165744.
161. Sewell EK, Vezina G, Chang T, Tsuchida T, Harris K, Ridore M, et al. Evolution of Amplitude-Integrated Electroencephalogram as a Predictor of Outcome in Term Encephalopathic Neonates Receiving Therapeutic Hypothermia. *Am J Perinatol*. 2018 Feb;35(3):277–85.
162. Garfinkle J, Sant'Anna GM, Rosenblatt B, Majnemer A, Wintermark P, Shevell MI. Somatosensory evoked potentials in neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy treated with hypothermia. *Eur J Paediatr Neurol EJPJN Off J Eur Paediatr Neurol Soc*. 2015 Jul;19(4):423–8.

163. Nevalainen P, Lauronen L, Metsäranta M, Lönnqvist T, Ahtola E, Vanhatalo S. Neonatal somatosensory evoked potentials persist during hypothermia. *Acta Paediatr.* 2017;106(6):912–7.
164. Cainelli E, Trevisanuto D, Cavallin F, Manara R, Suppiej A. Evoked potentials predict psychomotor development in neonates with normal MRI after hypothermia for hypoxic-ischemic encephalopathy. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol.* 2018;129(6):1300–6.
165. Kamino D, Almazrooei A, Pang EW, Widjaja E, Moore AM, Chau V, et al. Abnormalities in evoked potentials associated with abnormal glycemia and brain injury in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol.* 2021 Jan;132(1):307–13.
166. Rutherford MA, Pennock JM, Counsell SJ, Mercuri E, Cowan FM, Dubowitz LMS, et al. Abnormal Magnetic Resonance Signal in the Internal Capsule Predicts Poor Neurodevelopmental Outcome in Infants With Hypoxic-Ischemic Encephalopathy. *Pediatrics.* 1998 Aug 1;102(2):323–8.
167. Li J, Funato M, Tamai H, Wada H, Nishihara M, Iwamoto H, et al. Predictors of neurological outcome in cooled neonates. *Pediatr Int.* 2013;55(2):169–76.
168. Jain SV, Zempel JM, Srinivasakumar P, Wallendorf M, Mathur A. Early EEG power predicts MRI injury in infants with hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc.* 2017;37(5):541–6.
169. McDonough TL, Paolicchi JM, Heier LA, Das N, Engel M, Perlman JM, et al. Prediction of Future Epilepsy in Neonates With Hypoxic-Ischemic Encephalopathy Who Received Selective Head Cooling. *J Child Neurol.* 2017;32(7):630–7.
170. Nevalainen P, Metsäranta M, Toiviainen-Salo S, Marchi V, Mikkonen K, Vanhatalo S, et al. Neonatal neuroimaging and neurophysiology predict infantile onset epilepsy after perinatal hypoxic ischemic encephalopathy. *Seizure.* 2020 Aug;80:249–56.
171. Ouwehand S, Smidt LCA, Dudink J, Benders MJNL, de Vries LS, Groenendaal F, et al. Predictors of Outcomes in Hypoxic-Ischemic Encephalopathy following Hypothermia: A Meta-Analysis. *Neonatology.* 2020;117(4):411–27.
172. Thoresen M, Jary S, Walløe L, Karlsson M, Martinez-Biarge M, Chakkarapani E, et al. MRI combined with early clinical variables are excellent outcome predictors for newborn infants undergoing therapeutic hypothermia after perinatal asphyxia. *EClinicalMedicine.* 2021 Jun;36:100885.
173. Thayyil S, Chandrasekaran M, Taylor A, Bainbridge A, Cady EB, Chong WKK, et al. Cerebral Magnetic Resonance Biomarkers in Neonatal Encephalopathy: A Meta-analysis. *Pediatrics.* 2010 Feb 1;125(2):e382–95.

174. Roelants-Van Rijn AM, van der Grond J, de Vries LS, Groenendaal F. Value of 1H-MRS Using Different Echo Times in Neonates with Cerebral Hypoxia-Ischemia. *Pediatr Res.* 2001 Mar;49(3):356–62.
175. Vergales BD, Zanelli SA, Matsumoto JA, Goodkin HP, Lake DE, Moorman JR, et al. Depressed heart rate variability is associated with abnormal EEG, MRI, and death in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy. *Am J Perinatol.* 2014 Nov;31(10):855–62.
176. Goulding RM, Stevenson NJ, Murray DM, Livingstone V, Filan PM, Boylan GB. Heart rate variability in hypoxic ischemic encephalopathy during therapeutic hypothermia. *Pediatr Res.* 2017 Apr;81(4):609–15.
177. Metzler M, Govindan R, Al-Shargabi T, Vezina G, Andescavage N, Wang Y, et al. Pattern of brain injury and depressed heart rate variability in newborns with hypoxic ischemic encephalopathy. *Pediatr Res.* 2017 Sep;82(3):438–43.
178. Bell AH, McClure BG, Hicks EM. Power spectral analysis of the EEG of term infants following birth asphyxia. *Dev Med Child Neurol.* 1990 Nov;32(11):990–8.
179. Victor S, Appleton RE, Beirne M, Marson AG, Weindling AM. Spectral analysis of electroencephalography in premature newborn infants: normal ranges. *Pediatr Res.* 2005 Mar;57(3):336–41.
180. Wikström S, Ley D, Hansen-Pupp I, Rosén I, Hellström-Westas L. Early amplitude-integrated EEG correlates with cord TNF-alpha and brain injury in very preterm infants. *Acta Paediatr Oslo Nor 1992.* 2008 Jul;97(7):915–9.
181. Niemarkt HJ, Andriessen P, Peters CHL, Pasma JW, Zimmermann LJ, Bambang Oetomo S. Quantitative analysis of maturational changes in EEG background activity in very preterm infants with a normal neurodevelopment at 1 year of age. *Early Hum Dev.* 2010 Apr;86(4):219–24.
182. Middel RG, Brandenburg N, Van Braeckel KNJA, Bos AF, Ter Horst HJ. The Predictive Value of Amplitude-Integrated Electroencephalography in Preterm Infants for IQ and Other Neuropsychological Outcomes at Early School Age. *Neonatology.* 2018;113(4):287–95.
183. Burger C, Biermayr M, Posod A, Neubauer V, Pupp Peglow U, Kuenz K, et al. Amplitude-integrated electroencephalography shows alterations in children born preterm displaying poor literacy precursor skills. *Acta Paediatr Oslo Nor 1992.* 2019 Sep;108(9):1661–8.
184. Bell AH, McClure BG, McCullagh PJ, McClelland RJ. Spectral Edge Frequency of the EEG in Healthy Neonates and Variation with Behavioural State. *Neonatology.* 1991;60(2):69–74.

185. Inder TE, Buckland L, Williams CE, Spencer C, Gunning MI, Darlow BA, et al. Lowered electroencephalographic spectral edge frequency predicts the presence of cerebral white matter injury in premature infants. *Pediatrics*. 2003 Jan;111(1):27–33.
186. West CR, Harding JE, Williams CE, Gunning MI, Battin MR. Quantitative electroencephalographic patterns in normal preterm infants over the first week after birth. *Early Hum Dev*. 2006 Jan 1;82(1):43–51.
187. Pezzani C, Radvanyi-Bouvet MF, Relier JP, Monod N. Neonatal electroencephalography during the first twenty-four hours of life in full-term newborn infants. *Neuropediatrics*. 1986 Feb;17(1):11–8.
188. Biagioni E, Bartalena L, Boldrini A, Pieri R, Cioni G. Constantly discontinuous EEG patterns in full-term neonates with hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 1999 Sep;110(9):1510–5.
189. Menache CC, Bourgeois BFD, Volpe JJ. Prognostic value of neonatal discontinuous EEG. *Pediatr Neurol*. 2002 Aug 1;27(2):93–101.
190. Iyer KK, Roberts JA, Metsäranta M, Finnigan S, Breakspear M, Vanhatalo S. Novel features of early burst suppression predict outcome after birth asphyxia. *Ann Clin Transl Neurol*. 2014;1(3):209–14.
191. Flisberg A, Kjellmer I, Löfhede J, Lindecrantz K, Thordstein M. Prognostic capacity of automated quantification of suppression time in the EEG of post-asphyctic full-term neonates. *Acta Paediatr Oslo Nor 1992*. 2011 Oct;100(10):1338–43.
192. Matic V, Cherian PJ, Jansen K, Koolen N, Naulaers G, Swarte RM, et al. Automated EEG inter-burst interval detection in neonates with mild to moderate postasphyxial encephalopathy. In: 2012 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. 2012. p. 17–20.
193. Matic V, Cherian PJ, Jansen K, Koolen N, Naulaers G, Swarte RM, et al. Improving Reliability of Monitoring Background EEG Dynamics in Asphyxiated Infants. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2016;63(5):973–83.
194. Koolen N, Jansen K, Vervisch J, Matic V, De Vos M, Naulaers G, et al. Line length as a robust method to detect high-activity events: automated burst detection in premature EEG recordings. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2014 Oct;125(10):1985–94.
195. Dunne JM, Wertheim D, Clarke P, Kapellou O, Chisholm P, Boardman JP, et al. Automated electroencephalographic discontinuity in cooled newborns predicts cerebral MRI and neurodevelopmental outcome. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2017 Jan;102(1):F58–64.
196. Dereymaeker A, Matic V, Vervisch J, Cherian PJ, Ansari AH, De Wel O, et al. Automated EEG background analysis to identify neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy

- treated with hypothermia at risk for adverse outcome: A pilot study. *Pediatr Neonatol*. 2019;60(1):50–8.
197. Raurale SA, Nalband S, Boylan GB, Lightbody G, O’Toole JM. Suitability of an inter-burst detection method for grading hypoxic-ischemic encephalopathy in newborn EEG. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc IEEE Eng Med Biol Soc Annu Int Conf*. 2019 Jul;2019:4125–8.
 198. Kamitaki BK, Tu B, Wong S, Mendiratta A, Choi H. Quantitative EEG Changes Correlate With Post-Clamp Ischemia During Carotid Endarterectomy. *J Clin Neurophysiol Off Publ Am Electroencephalogr Soc*. 2020 Feb 10;
 199. Doyle OM, Greene BR, Murray DM, Marnane L, Lightbody G, Boylan GB. The effect of frequency band on quantitative EEG measures in neonates with hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Conf Proc Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc IEEE Eng Med Biol Soc Annu Int Conf*. 2007;2007:717–21.
 200. Wong FY, Barfield CP, Walker AM. Power spectral analysis of two-channel EEG in hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Early Hum Dev*. 2007 Jun;83(6):379–83.
 201. Korotchikova I, Stevenson NJ, Walsh BH, Murray DM, Boylan GB. Quantitative EEG analysis in neonatal hypoxic ischaemic encephalopathy. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2011 Aug;122(8):1671–8.
 202. Stevenson NJ, Korotchikova I, Temko A, Lightbody G, Marnane WP, Boylan GB. An automated system for grading EEG abnormality in term neonates with hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Ann Biomed Eng*. 2013 Apr;41(4):775–85.
 203. Matic V, Cherian PJ, Koolen N, Naulaers G, Swarte RM, Govaert P, et al. Holistic approach for automated background EEG assessment in asphyxiated full-term infants. *J Neural Eng*. 2014 Dec;11(6):066007.
 204. Temko A, Doyle O, Murray D, Lightbody G, Boylan G, Marnane W. Multimodal predictor of neurodevelopmental outcome in newborns with hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Comput Biol Med*. 2015 Aug;63:169–77.
 205. Ahmed R, Temko A, Marnane W, Lightbody G, Boylan G. Grading hypoxic-ischemic encephalopathy severity in neonatal EEG using GMM supervectors and the support vector machine. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2016 Jan;127(1):297–309.
 206. Guo J, Cheng X, Wu D. Grading Method for Hypoxic-Ischemic Encephalopathy Based on Neonatal EEG. *Comput Model Eng Sci*. 2020 Jan 1;122:721–41.
 207. Moghadam SM, Pinchefsky E, Tse I, Marchi V, Kohonen J, Kauppila M, et al. Building an Open Source Classifier for the Neonatal EEG Background: A Systematic Feature-Based Approach From Expert Scoring to Clinical Visualization. *Front Hum Neurosci*. 2021 May 31;15:675154.

208. Raurale SA, Boylan GB, Mathieson S, Marnane WP, Lightbody G, O'Toole JM. Grading hypoxic-ischemic encephalopathy in neonatal EEG with convolutional neural networks and quadratic time-frequency distributions. *J Neural Eng.* 2021 Feb 22;
209. Azzopardi DV, Strohm B, Edwards AD, Dyet L, Halliday HL, Juszczak E, et al. Moderate hypothermia to treat perinatal asphyxial encephalopathy. *N Engl J Med.* 2009 Oct 1;361(14):1349–58.
210. Sarnat HB, Sarnat MS. Neonatal encephalopathy following fetal distress. A clinical and electroencephalographic study. *Arch Neurol.* 1976 Oct;33(10):696–705.
211. Clancy RR, Legido A. The Exact Ictal and Interictal Duration of Electroencephalographic Neonatal Seizures. *Epilepsia.* 1987;28(5):537–41.
212. Lacan L, Betrouni N, Lamblin M-D, Chaton L, Delval A, Bourriez J-L, et al. Quantitative approach to early neonatal EEG visual analysis in hypoxic-ischemic encephalopathy severity: Bridging the gap between eyes and machine. *Neurophysiol Clin [Internet].* 2021 Jan 2 [cited 2021 Jan 18]; Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0987705320301477>
213. al Naqeeb N, Edwards AD, Cowan FM, Azzopardi D. Assessment of neonatal encephalopathy by amplitude-integrated electroencephalography. *Pediatrics.* 1999 Jun;103(6 Pt 1):1263–71.
214. Marics G, Csekő A, Vásárhelyi B, Zakariás D, Schuster G, Szabó M. Prevalence and etiology of false normal aEEG recordings in neonatal hypoxic-ischaemic encephalopathy. *BMC Pediatr.* 2013 Nov 22;13:194.
215. Hagmann CF, Robertson NJ, Azzopardi D. Artifacts on Electroencephalograms May Influence the Amplitude-Integrated EEG Classification: A Qualitative Analysis in Neonatal Encephalopathy. *Pediatrics.* 2006 Dec 1;118(6):2552–4.
216. Rakshasbhuvankar A, Rao S, Palumbo L, Ghosh S, Nagarajan L. Amplitude Integrated Electroencephalography Compared With Conventional Video EEG for Neonatal Seizure Detection: A Diagnostic Accuracy Study. *J Child Neurol.* 2017 Aug;32(9):815–22.
217. Quigg M, Leiner D. Engineering aspects of the quantified amplitude-integrated electroencephalogram in neonatal cerebral monitoring. *J Clin Neurophysiol Off Publ Am Electroencephalogr Soc.* 2009 Jun;26(3):145–9.
218. Govindan RB, Massaro A, Vezina G, Tsuchida T, Cristante C, du Plessis A. Does relative or absolute EEG power have prognostic value in HIE setting? *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol.* 2017;128(1):14–5.
219. Zhang Q, Hu Y, Dong X, Feng X. Clinical significance of electroencephalography power spectrum density and functional connection analysis in neonates with hypoxicischemic encephalopathy. *Int J Dev Neurosci Off J Int Soc Dev Neurosci.* 2020 Dec 23;

220. Thordstein M, Flisberg A, Löfgren N, Bågenholm R, Lindecrantz K, Wallin BG, et al. Spectral analysis of burst periods in EEG from healthy and post-asphyctic full-term neonates. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2004 Nov;115(11):2461–6.
221. Connor CW. A Forensic Disassembly of the BIS Monitor. *Anesth Analg*. 2020 Dec;131(6):1923–33.
222. Pulgar VM, Zhang J, Massmann GA, Figueroa JP. Mild chronic hypoxia modifies the fetal sheep neural and cardiovascular responses to repeated umbilical cord occlusion. *Brain Res*. 2007 Oct 24;1176:18–26.
223. Lee SJ, Hatran DP, Tomimatsu T, Peña JP, McAuley G, Longo LD. Fetal cerebral blood flow, electrocorticographic activity, and oxygenation: responses to acute hypoxia. *J Physiol*. 2009;587(9):2033–47.
224. Frasch MG, Durosier LD, Gold N, Cao M, Matuszewski B, Keenliside L, et al. Adaptive shut-down of EEG activity predicts critical acidemia in the near-term ovine fetus. *Physiol Rep*. 2015 Jul;3(7).
225. Thaler I, Boldes R, Timor-Tritsch I. Real-time spectral analysis of the fetal EEG: a new approach to monitoring sleep states and fetal condition during labor. *Pediatr Res*. 2000 Sep;48(3):340–5.
226. Wassink G, Bennet L, Davidson JO, Westgate JA, Gunn AJ. Pre-existing hypoxia is associated with greater EEG suppression and early onset of evolving seizure activity during brief repeated asphyxia in near-term fetal sheep. *PLoS One*. 2013;8(8):e73895.
227. Wang X, Durosier LD, Ross MG, Richardson BS, Frasch MG. Online detection of fetal acidemia during labour by testing synchronization of EEG and heart rate: a prospective study in fetal sheep. *PLoS One* 9:e108119. 2014.
228. Lombroso CT. Remarks on the EEG and movement disorder in SSPE. *Neurology*. 1968 Jan;18(1 Pt 2):69–75.
229. Sinclair DB, Campbell M, Byrne P, Prasertsom W, Robertson CM. EEG and long-term outcome of term infants with neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 1999 Apr;110(4):655–9.
230. Les SVM, Support Vector Machine [Internet]. *Analytics & Insights*. 2019 [cited 2021 Jul 15]. Available from: <https://analyticsinsights.io/les-svm-support-vector-machine/>
231. Doyle OM, Temko A, Murray DM, Lightbody G, Marnane W, Boylan GB. Predicting the neurodevelopmental outcome in newborns with hypoxic-ischaemic injury. *Conf Proc Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc IEEE Eng Med Biol Soc Annu Conf*. 2010;2010:1370–3.

232. Ahmed R, Temko A, Marnane W, Boylan G, Lightbody G. Grading brain injury in neonatal EEG using SVM and supervector kernel. In: 2014 IEEE International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing (ICASSP). 2014. p. 5894–8.
233. Malfilâtre G, Mony L, Hasaerts D, Vignolo-Diard P, Lamblin M-D, Bourel-Ponchel E. Technical recommendations and interpretation guidelines for electroencephalography for premature and full-term newborns. *Neurophysiol Clin Clin Neurophysiol*. 2020 Nov 6;
234. Orbach SA, Bonifacio SL, Kuzniewicz M, Glass HC. Lower Incidence of Seizure among Neonates Treated with Therapeutic Hypothermia. *J Child Neurol*. 2014 Nov;29(11):1502–7.
235. van Handel M, Swaab H, de Vries LS, Jongmans MJ. Behavioral Outcome in Children with a History of Neonatal Encephalopathy following Perinatal Asphyxia. *J Pediatr Psychol*. 2010 Apr 1;35(3):286–95.
236. Murray DM, O'Connor CM, Ryan CA, Korotchikova I, Boylan GB. Early EEG Grade and Outcome at 5 Years After Mild Neonatal Hypoxic Ischemic Encephalopathy. *Pediatrics*. 2016;138(4).
237. Chalak LF, Nguyen K-A, Prempunpong C, Heyne R, Thayyil S, Shankaran S, et al. Prospective research in infants with mild encephalopathy identified in the first six hours of life: neurodevelopmental outcomes at 18-22 months. *Pediatr Res*. 2018 Dec;84(6):861–8.
238. Conway JM, Walsh BH, Boylan GB, Murray DM. Mild hypoxic ischaemic encephalopathy and long term neurodevelopmental outcome - A systematic review. *Early Hum Dev*. 2018 May;120:80–7.
239. Montaldo P, Lally PJ, Oliveira V, Swamy R, Mendoza J, Atreja G, et al. Therapeutic hypothermia initiated within 6 hours of birth is associated with reduced brain injury on MR biomarkers in mild hypoxic-ischaemic encephalopathy: a non-randomised cohort study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2019 Sep;104(5):F515–20.
240. Rao R, Trivedi S, Distler A, Liao S, Vesoulis Z, Smyser C, et al. Neurodevelopmental Outcomes in Neonates with Mild Hypoxic Ischemic Encephalopathy Treated with Therapeutic Hypothermia. *Am J Perinatol*. 2019 Nov;36(13):1337–43.
241. Jacobs SE, Berg M, Hunt R, Tarnow-Mordi WO, Inder TE, Davis PG. Cooling for newborns with hypoxic ischaemic encephalopathy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013 Jan 31;(1):CD003311.
242. Chalak L, Latremouille S, Mir I, Sánchez PJ, Sant'Anna G. A review of the conundrum of mild hypoxic-ischemic encephalopathy: Current challenges and moving forward. *Early Hum Dev*. 2018 May 1;120:88–94.

243. Osredkar D, Toet MC, van Rooij LGM, van Huffelen AC, Groenendaal F, de Vries LS. Sleep-wake cycling on amplitude-integrated electroencephalography in term newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics*. 2005 Feb;115(2):327–32.
244. Massaro AN, Tsuchida T, Kadom N, El-Dib M, Glass P, Baumgart S, et al. aEEG evolution during therapeutic hypothermia and prediction of NICU outcome in encephalopathic neonates. *Neonatology*. 2012;102(3):197–202.
245. Kharoshankaya L, Stevenson NJ, Livingstone V, Murray DM, Murphy BP, Ahearne CE, et al. Seizure burden and neurodevelopmental outcome in neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Dev Med Child Neurol*. 2016 Dec;58(12):1242–8.
246. Lin Y-K, Hwang-Bo S, Seo Y-M, Youn Y-A. Clinical seizures and unfavorable brain MRI patterns in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy. *Medicine (Baltimore)*. 2021 Mar 26;100(12):e25118.
247. van Putten MJAM. The revised brain symmetry index. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2007 Nov;118(11):2362–7.
248. Temko A, Boylan G, Marnane W, Lightbody G. Robust neonatal EEG seizure detection through adaptive background modeling. *Int J Neural Syst*. 2013 Aug;23(4):1350018.
249. Eklund JM, Fontana N, Pugh JE, McGregor C, Yelder P, James A, et al. Automated Sleep-Wake Detection in Neonates from Cerebral Function Monitor Signals. 2014 IEEE 27th Int Symp Comput-Based Med Syst. 2014;
250. Ansari AH, Wel OD, Pillay K, Dereymaeker A, Jansen K, Huffel SV, et al. A convolutional neural network outperforming state-of-the-art sleep staging algorithms for both preterm and term infants. *J Neural Eng*. 2020 Jan;17(1):016028.
251. Ryu S, Back S, Lee S, Seo H, Park C, Lee K, et al. Pilot study of a single-channel EEG seizure detection algorithm using machine learning. *Childs Nerv Syst ChNS Off J Int Soc Pediatr Neurosurg*. 2021 May 3;
252. Nolan H, Whelan R, Reilly RB. FASTER: Fully Automated Statistical Thresholding for EEG artifact Rejection. *J Neurosci Methods*. 2010 Sep 30;192(1):152–62.
253. Mognon A, Jovicich J, Bruzzone L, Buiatti M. ADJUST: An automatic EEG artifact detector based on the joint use of spatial and temporal features. *Psychophysiology*. 2011;48(2):229–40.
254. Goeral K, Urlesberger B, Giordano V, Kasprian G, Wagner M, Schmidt L, et al. Prediction of Outcome in Neonates with Hypoxic-Ischemic Encephalopathy II: Role of Amplitude-Integrated Electroencephalography and Cerebral Oxygen Saturation Measured by Near-Infrared Spectroscopy. *Neonatology*. 2017;112(3):193–202.
255. Jacobs SE, Morley CJ, Inder TE, Stewart MJ, Smith KR, McNamara PJ, et al. Whole-body hypothermia for term and near-term newborns with hypoxic-ischemic

- encephalopathy: a randomized controlled trial. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2011 Aug;165(8):692–700.
256. d'Allest A, André M, Radvanyi-Bouvet M. Apport de l'électroencéphalogramme pour le diagnostic et le pronostic de l'asphyxie périnatale du nouveau-né à terme. *Arch Pédiatrie*. 1996 Jan 1;3:S254–6.
257. Prout AP, Frasch MG, Veldhuizen RAW, Hammond R, Ross MG, Richardson BS. Systemic and cerebral inflammatory response to umbilical cord occlusions with worsening acidosis in the ovine fetus. *Am J Obstet Gynecol*. 2010 Jan;202(1):82.e1-9.
258. Biagioni E, Mercuri E, Rutherford M, Cowan F, Azzopardi D, Frisone MF, et al. Combined use of electroencephalogram and magnetic resonance imaging in full-term neonates with acute encephalopathy. *Pediatrics*. 2001 Mar;107(3):461–8.
259. Shah DK, Lavery S, Doyle LW, Wong C, McDougall P, Inder TE. Use of 2-channel bedside electroencephalogram monitoring in term-born encephalopathic infants related to cerebral injury defined by magnetic resonance imaging. *Pediatrics*. 2006 Jul;118(1):47–55.
260. Leijser LM, Vein AA, Liauw L, Strauss T, Veen S, Wezel-Meijler G van. Prediction of short-term neurological outcome in full-term neonates with hypoxic-ischaemic encephalopathy based on combined use of electroencephalogram and neuro-imaging. *Neuropediatrics*. 2007 Oct;38(5):219–27.
261. Dunne JM, Wertheim D, Clarke P, Kapellou O, Chisholm P, Boardman JP, et al. Automated electroencephalographic discontinuity in cooled newborns predicts cerebral MRI and neurodevelopmental outcome. *Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed*. 2017 Jan 1;102(1):F58–64.
262. Young GB, da Silva OP. Effects of morphine on the electroencephalograms of neonates: a prospective, observational study. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2000 Nov;111(11):1955–60.
263. van Leuven K, Groenendaal F, Toet MC, Schobben AF a. M, Bos S a. J, de Vries LS, et al. Midazolam and amplitude-integrated EEG in asphyxiated full-term neonates. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. 2004 Sep;93(9):1221–7.
264. Shany E, Benzaquen O, Friger M, Richardson J, Golan A. Influence of antiepileptic drugs on amplitude-integrated electroencephalography. *Pediatr Neurol*. 2008 Dec;39(6):387–91.
265. Murray DM, Ryan CA, Boylan GB, Fitzgerald AP, Connolly S. Prediction of seizures in asphyxiated neonates: correlation with continuous video-electroencephalographic monitoring. *Pediatrics*. 2006 Jul;118(1):41–6.
266. Tsuchida TN, Wusthoff CJ, Shellhaas RA, Abend NS, Hahn CD, Sullivan JE, et al. American clinical neurophysiology society standardized EEG terminology and categorization for the description of continuous EEG monitoring in neonates: report of

- the American Clinical Neurophysiology Society critical care monitoring committee. *J Clin Neurophysiol Off Publ Am Electroencephalogr Soc.* 2013 Apr;30(2):161–73.
267. Lamblin M, Racoussot S, Pierrat V, Duquennoy C, Ouahsine T, Lequien P, et al. Encéphalopathie anoxo-ischémique du nouveau-né à terme. Apport de l'électroencéphalogramme et de l'échographie transfontanellaire à l'évaluation pronostique. À propos de 29 observations. *Neurophysiol Clin Neurophysiol.* 1996 Jan 1;26(6):369–78.
268. Raurale SA, Boylan GB, Lightbody G, O'Toole JM. Grading the severity of hypoxic-ischemic encephalopathy in newborn EEG using a convolutional neural network. *ArXiv200505561 Cs Eess Q-Bio* [Internet]. 2020 May 12 [cited 2021 Jul 25]; Available from: <http://arxiv.org/abs/2005.05561>
269. Petitgand C, Motulsky A, Denis J-L, Régis C. Investigating the Barriers to Physician Adoption of an Artificial Intelligence- Based Decision Support System in Emergency Care: An Interpretative Qualitative Study. *Stud Health Technol Inform.* 2020 Jun 16;270:1001–5.
270. L'Intelligence Artificielle... avec intelligence ! [Internet]. FUN MOOC. [cited 2021 Oct 18]. Available from: <http://www.fun-mooc.fr/fr/cours/lintelligence-artificielle-avec-intelligence/>
271. L'Hôpital, une nouvelle industrie - Tracts - GALLIMARD - Site Gallimard [Internet]. [cited 2021 Oct 18]. Available from: <http://www.gallimard.fr/Catalogue/GALLIMARD/Tracts/L-Hopital-une-nouvelle-industrie#>
272. L'Idolâtrie de la vie - Tracts - GALLIMARD - Site Gallimard [Internet]. [cited 2021 Oct 18]. Available from: <http://www.gallimard.fr/Catalogue/GALLIMARD/Tracts/L-Idolatrie-de-la-vie>
273. Apocalypse cognitive - Gérald Bronner [Internet]. Babelio. [cited 2021 Oct 18]. Available from: <https://www.babelio.com/livres/Bronner-Apocalypse-cognitive/1287138>
274. Le Mythe de la Singularité , Jean-Gabr... [Internet]. [cited 2021 Oct 18]. Available from: <https://www.seuil.com/ouvrage/le-mythe-de-la-singularite-jean-gabriel-ganascia/9782021309997>
275. Gandhi R. Support Vector Machine — Introduction to Machine Learning Algorithms [Internet]. Medium. 2018 [cited 2021 Jul 15]. Available from: <https://towardsdatascience.com/support-vector-machine-introduction-to-machine-learning-algorithms-934a444fca47>
276. Morrison JL, Berry MJ, Botting KJ, Darby JRT, Frasca MG, Gatford KL, et al. Improving pregnancy outcomes in humans through studies in sheep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2018 Dec 1;315(6):R1123–53.

277. Bernhard CG, Kaiser IH, Kolmodin GM. On the development of cortical activity in fetal sheep. *Acta Physiol Scand*. 1959 Dec 12;47:333–49.
278. Jones MD. Energy metabolism in the developing brain. *Semin Perinatol*. 1979 Apr;3(2):121–9.
279. Clewlow F, Dawes GS, Johnston BM, Walker DW. Changes in breathing, electrocortical and muscle activity in unanaesthetized fetal lambs with age. *J Physiol*. 1983 Aug;341:463–76.
280. Barlow RM. The foetal sheep: morphogenesis of the nervous system and histochemical aspects of myelination. *J Comp Neurol*. 1969 Mar;135(3):249–62.
281. McINTOSH GH, Baghurst KI, Potter BJ, Hetzel BS. Foetal Brain Development in the Sheep. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 1979;5(2):103–14.
282. Frasch MG, Grasch MG, Frasch MG, Mansano RZ, McPhaul L, Gagnon R, et al. Measures of acidosis with repetitive umbilical cord occlusions leading to fetal asphyxia in the near-term ovine fetus. *Am J Obstet Gynecol*. 2009 Feb;200(2):200.e1-7.
283. Garabedian C, Champion C, Servan-Schreiber E, Butruille L, Aubry E, Sharma D, et al. A new analysis of heart rate variability in the assessment of fetal parasympathetic activity: An experimental study in a fetal sheep model. *PloS One*. 2017;12(7):e0180653.
284. Garabedian C, Clermont-Hama Y, Sharma D, Aubry E, Butruille L, Deruelle P, et al. Correlation of a new index reflecting the fluctuation of parasympathetic tone and fetal acidosis in an experimental study in a sheep model. *PloS One*. 2018;13(1):e0190463.
285. Garabedian C, Aubry E, Sharma D, Bleu G, Clermont-Hama Y, Ghesquière L, et al. Exploring fetal response to acidosis in ewes: Choosing an adequate experimental model. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2018 Oct 1;47(8):397–403.
286. Ghesquière L, De Jonckheere J, Drumez E, Sharma D, Aubry E, Deruelle P, et al. Parasympathetic nervous system response to acidosis: Evaluation in an experimental fetal sheep model. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2019 Apr;98(4):433–9.
287. East CE, Leader LR, Sheehan P, Henshall NE, Colditz PB, Lau R. Intrapartum fetal scalp lactate sampling for fetal assessment in the presence of a non-reassuring fetal heart rate trace. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 May 1;5(5):CD006174.
288. Mann LI, Prichard JW, Symmes D. EEG, ECG, and acid-base observations during acute fetal hypoxia. *Am J Obstet Gynecol*. 1970 Jan 1;106(1):39–51.
289. Symmes D, Prichard JW, Mann LI. Spectral analysis of fetal sheep EEG during hypoxia. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1970 Nov;29(5):511–5.
290. Dawes GS, Fox HE, Leduc BM, Liggins GC, Richards RT. Respiratory movements and rapid eye movement sleep in the foetal lamb. *J Physiol*. 1972 Jan;220(1):119–43.

291. Ruckebusch Y. Development of sleep and wakefulness in the foetal lamb. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1972 Feb 1;32(2):119–28.
292. Lacan L, Hamoud Y, Nguyen S, De Jonckheere J, Storme L, Houfflin-Debargue V, et al. Fetal sheep cerebral electrical activity: A new technique to record EEG. *J Neurosci Methods.* 2020 Aug 2;108888.
293. Bernhard CG, Kolmodin GM, Meyerson BA. On the prenatal development of function and structure in the somesthetic cortex of the sheep. *Prog Brain Res.* 1967;26:60–77.
294. Åarström K-E. On the Early Development of the Isocortex in Fetal Sheep. In: Bernhard CG, Schadé JP, editors. *Progress in Brain Research* [Internet]. Elsevier; 1967 [cited 2021 Sep 14]. p. 1–59. (Developmental Neurology; vol. 26). Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079612308614181>
295. Szeto HH, Vo TDH, Dwyer G, Dogramajian ME, Cox MJ, Senger G. The ontogeny of fetal lamb electrocortical activity: A power spectral analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 1985 Oct 15;153(4):462–6.
296. Jost RG, Quilligan EJ, Yeh SY, Anderson GG. Intrauterine electroencephalogram of the sheep fetus. *Am J Obstet Gynecol.* 1972 Oct 15;114(4):535–9.
297. Mann LI, Duchin S, Weiss RR. Fetal EEG sleep stages and physiologic variability. *Am J Obstet Gynecol.* 1974 Jun 15;119(4):533–8.
298. Ioffe S, Jansen AH, Russell BJ, Chernick V. Sleep, wakefulness and the monosynaptic reflex in fetal and newborn lambs. *Pflugers Arch.* 1980 Nov;388(2):149–57.
299. Szeto HH, Hinman DJ. Prenatal development of sleep-wake patterns in sheep. *Sleep.* 1985 Dec;8(4):347–55.
300. Ruckebusch Y, Gaujoux M, Eghbali B. Sleep cycles and kinesis in the foetal lamb. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1977 Feb 1;42(2):226–37.
301. Rao N, Keen A, Czikk M, Frasch M, Richardson BS. Behavioural state linkage in the ovine fetus near term. *Brain Res.* 2009 Jan 23;1250:149–56.
302. Keen AE, Frasch MG, Sheehan MA, Matuszewski BJ, Richardson BS. Electrocortical activity in the near-term ovine fetus: Automated analysis using amplitude frequency components. *Brain Res.* 2011 Jul 21;1402:30–7.
303. Pulgar VM, Zhang J, Massmann GA, Figueroa JP. Prolonged Mild Hypoxia Alters Fetal Sheep Electrocorticogram Activity. *J Soc Gynecol Investig JSGL.* 2006 Sep 1;13(6):404–11.
304. Bartelds B, van Bel F, Teitel DF, Rudolph AM. Carotid, not aortic, chemoreceptors mediate the fetal cardiovascular response to acute hypoxemia in lambs. *Pediatr Res.* 1993 Jul;34(1):51–5.

305. Giussani DA, Unno N, Jenkins SL, Wentworth RA, Derks JB, Collins JH, et al. Dynamics of cardiovascular responses to repeated partial umbilical cord compression in late-gestation sheep fetus. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol*. 1997 Nov 1;273(5):H2351–60.
306. Kawagoe Y, Green L, White S, Richardson B. Intermittent umbilical cord occlusion in the ovine fetus near term: effects on behavioral state activity. *Am J Obstet Gynecol*. 1999 Dec;181(6):1520–9.
307. Bennet L, Roelfsema V, George S, Dean JM, Emerald BS, Gunn AJ. The effect of cerebral hypothermia on white and grey matter injury induced by severe hypoxia in preterm fetal sheep. *J Physiol*. 2007 Jan 15;578(Pt 2):491–506.
308. Mallard EC, Gunn AJ, Williams CE, Johnston BM, Gluckman PD. Transient umbilical cord occlusion causes hippocampal damage in the fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol*. 1992 Nov 1;167(5):1423–30.
309. Williams CE, Gunn AJ, Mallard C, Gluckman PD. Outcome after ischemia in the developing sheep brain: An electroencephalographic and histological study. *Ann Neurol*. 1992;31(1):14–21.
310. Reddy K, Mallard C, Guan J, Marks K, Bennet L, Gunning M, et al. Maturation change in the cortical response to hypoperfusion injury in the fetal sheep. *Pediatr Res*. 1998 May;43(5):674–82.
311. George S, Gunn AJ, Westgate JA, Brabyn C, Guan J, Bennet L. Fetal heart rate variability and brain stem injury after asphyxia in preterm fetal sheep. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol*. 2004 Oct 1;287(4):R925–33.
312. Abbasi H, Drury PP, Lear CA, Gunn AJ, Davidson JO, Bennet L, et al. EEG sharp waves are a biomarker of striatal neuronal survival after hypoxia-ischemia in preterm fetal sheep. *Sci Rep [Internet]*. 2018 [cited 2020 Oct 14];8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6218488/>
313. Gunn AJ, Parer JT, Mallard EC, Williams CE, Gluckman PD. Cerebral Histologic and Electrocorticographic Changes after Asphyxia in Fetal Sheep. *Pediatr Res*. 1992 May;31(5):486–91.
314. Wilson PC, Philpott RH, Spies S, Ahmed Y, Kadichza M. The Effect of Fetal Head Compression and Fetal Acidaemia During Labour on Human Fetal Cerebral Function as Measured by the Fetal Electroencephalogram. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 1979;86(4):269–77.
315. Pospelov AS, Puskarjov M, Kaila K, Voipio J. Endogenous brain-sparing responses in brain pH and PO₂ in a rodent model of birth asphyxia. *Acta Physiol Oxf Engl*. 2020 Jul;229(3):e13467.
316. Ala-Kurikka T, Pospelov A, Summanen M, Alafuzoff A, Kurki S, Voipio J, et al. A physiologically validated rat model of term birth asphyxia with seizure generation after, not during, brain hypoxia. *Epilepsia*. 2021 Apr;62(4):908–19.

317. Gailus B, Naundorf H, Welzel L, John M, Römermann K, Kaila K, et al. Long-term outcome in a noninvasive rat model of birth asphyxia with neonatal seizures: Cognitive impairment, anxiety, epilepsy, and structural brain alterations. *Epilepsia*. 2021 Aug 29;
318. Gold N, Herry CL, Wang X, Frasch MG. Fetal Cardiovascular Decompensation During Labor Predicted From the Individual Heart Rate Tracing: A Machine Learning Approach in Near-Term Fetal Sheep Model. *Front Pediatr*. 2021;9:593889.
319. Castel A, Frank YS, Feltner J, Karp FB, Albright CM, Frasch MG. Monitoring Fetal Electroencephalogram Intrapartum: A Systematic Literature Review. *Front Pediatr*. 2020;8:584.
320. Bernstine RL, Borkowski WJ, Price AH. Prenatal fetal electroencephalography. *Am J Obstet Gynecol*. 1955 Sep;70(3):623–30.
321. Rosen MG, Scibetta JJ. The human fetal electroencephalogram. I. An electrode for continuous recording during labor. *Am J Obstet Gynecol*. 1969 Aug 1;104(7):1057–60.
322. Chachava KV, Devdariani MG, Loladze AS. [Several variants in the electroencephalogram of the fetus in normal and pathologic states]. *Akush Ginekol (Sofia)*. 1969 Jun;45(6):18–21.
323. Peltzman P, Goldstein PJ, Battagin R. Quantitative analysis of fetal electrophysiologic data. *Am J Obstet Gynecol*. 1973 Apr 15;115(8):1117–24.
324. Borgstedt AD, Rosen MG, Chik L, Sokol RJ, Bachelder L, Leo P. Fetal electroencephalography. Relationship to neonatal and one-year developmental neurological examinations in high-risk infants. *Am J Dis Child* 1960. 1975 Jan;129(1):35–8.
325. Chik L, Sokol RJ, Rosen MG, Borgstedt AD. Computer interpreted fetal electroencephalogram. I. Relative frequency of patterns. *Am J Obstet Gynecol*. 1976 Jun 15;125(4):537–40.
326. Sokol RJ, Rosen MG, Chik L. Fetal electroencephalographic monitoring related to infant outcome. *Am J Obstet Gynecol*. 1977 Feb 1;127(3):329–30.
327. Weller C, Dyson RJ, McFadyen IR, Green HL, Arias E. Fetal Electroencephalography Using a New, Flexible Electrode. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 1981;88(10):983–6.
328. Qureshi AI, Miran MS, Li S, Jiang M. Ultrasound-Guided Second Trimester Fetal Electroencephalography in Two Pregnant Volunteers: A Technical Note. *J Vasc Interv Neurol*. 2016 Jun;9(1):60–5.
329. Rosen MG, Scibetta J, Chik L, Borgstedt AD. An approach to the study of brain damage: The principles of fetal electroencephalography. *Am J Obstet Gynecol*. 1973 Jan 1;115(1):37–47.

330. Djelmis J, Drazancić A, Dürrigl V, Djelmis J, Ivansenić M. The effect of fetal hypoxia and acidosis on the changes in fetal electroencephalogram during labor. *Am J Perinatol*. 1988 Apr;5(2):177–85.
331. Blum T, Saling E, Bauer R. First magnetoencephalographic recordings of the brain activity of a human fetus. *Br J Obstet Gynaecol*. 1985 Dec;92(12):1224–9.
332. Preissl H, Lowery CL, Eswaran H. Fetal magnetoencephalography: current progress and trends. *Exp Neurol*. 2004 Nov 1;190:28–36.
333. Eswaran H, Haddad NI, Shihabuddin BS, Preissl H, Siegel ER, Murphy P, et al. Non-invasive detection and identification of brain activity patterns in the developing fetus. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2007 Sep;118(9):1940–6.
334. Haddad N, Govindan RB, Vairavan S, Siegel E, Temple J, Preissl H, et al. Correlation between fetal brain activity patterns and behavioral states: An exploratory fetal magnetoencephalography study. *Exp Neurol*. 2011 Apr 1;228(2):200–5.
335. Gatellier M-A, De Jonckheere J, Storme L, Houfflin-Debarge V, Ghesquiere L, Garabedian C. Fetal heart rate variability analysis for neonatal acidosis prediction. *J Clin Monit Comput*. 2021 Aug;35(4):771–7.
336. Butruille L, De Jonckheere J, Flocteil M, Garabedian C, Houfflin-Debarge V, Storme L, et al. Parasympathetic tone variations according to umbilical cord pH at birth: a computerized fetal heart rate variability analysis. *J Clin Monit Comput*. 2017 Dec;31(6):1197–202.
337. Richardson BS, Patrick JE, Abduljabbar H. Cerebral oxidative metabolism in the fetal lamb: relationship to electrocortical state. *Am J Obstet Gynecol*. 1985 Oct 15;153(4):426–31.
338. Szeto HH. Spectral edge frequency as a simple quantitative measure of the maturation of electrocortical activity. *Pediatr Res*. 1990 Mar;27(3):289–92.
339. Abbasi H, Bennet L, Gunn AJ, Unsworth CP. Robust Wavelet Stabilized “Footprints of Uncertainty” for Fuzzy System Classifiers to Automatically Detect Sharp Waves in the EEG after Hypoxia Ischemia. *Int J Neural Syst*. 2017 May;27(3):1650051.
340. Yamaguchi K, Lear CA, Beacom MJ, Ikeda T, Gunn AJ, Bennet L. Evolving changes in fetal heart rate variability and brain injury after hypoxia-ischaemia in preterm fetal sheep. *J Physiol*. 2018;596(23):6093–104.
341. Garabedian C, Champion C, Servan-Schreiber E, Butruille L, Aubry E, Sharma D, et al. A new analysis of heart rate variability in the assessment of fetal parasympathetic activity: An experimental study in a fetal sheep model. *PLOS ONE*. 2017 juil;12(7):e0180653.
342. Garabedian C, Clermont-Hama Y, Sharma D, Aubry E, Butruille L, Deruelle P, et al. Correlation of a new index reflecting the fluctuation of parasympathetic tone and fetal

- acidosis in an experimental study in a sheep model. *PLOS ONE*. 2018 Jan 10;13(1):e0190463.
343. Ghesquière L, De Jonckheere J, Drumez E, Sharma D, Aubry E, Deruelle P, et al. Parasympathetic nervous system response to acidosis: evaluation in an experimental fetal sheep model. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2018 Dec 19;
 344. Garabedian C, Aubry E, Sharma D, Bleu G, Clermont-Hama Y, Ghesquière L, et al. Exploring fetal response to acidosis in ewes: Choosing an adequate experimental model. *J Gynecol Obstet Hum Reprod [Internet]*. 2018 Apr 11; Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2468784718300576>
 345. Prout AP, Frasch MG, Veldhuizen RAW, Hammond R, Ross MG, Richardson BS. Systemic and cerebral inflammatory response to umbilical cord occlusions with worsening acidosis in the ovine fetus. *Am J Obstet Gynecol*. 2010 Jan;202(1):82.e1-9.
 346. Back SA, Riddle A, Dean J, Hohimer AR. The Instrumented Fetal Sheep as a Model of Cerebral White Matter Injury in the Premature Infant. *Neurotherapeutics*. 2012 Apr;9(2):359–70.
 347. Bernhard CG, Kolmodin GM, Meyerson BA. On the Prenatal Development of Function and Structure in the Somesthetic Cortex of the Sheep. In: Bernhard CG, Schadé JP, editors. *Progress in Brain Research [Internet]*. Elsevier; 1967 [cited 2020 Jan 26]. p. 60–77. (Developmental Neurology; vol. 26). Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079612308614193>
 348. Frasch MG, Durosier LD, Gold N, Cao M, Matuszewski B, Keenlside L, et al. Adaptive shut-down of EEG activity predicts critical acidemia in the near-term ovine fetus. *Physiol Rep*. 2015 Jul;3(7).
 349. Kurinczuk JJ, White-Koning M, Badawi N. Epidemiology of neonatal encephalopathy and hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Early Hum Dev*. 2010 Jun;86(6):329–38.
 350. Pin TW, Eldridge B, Galea MP. A review of developmental outcomes of term infants with post-asphyxia neonatal encephalopathy. *Eur J Paediatr Neurol [Internet]*. 2009 [cited 2020 Apr 17];13(3). Available from: </scholarlywork/316468-a-review-of-developmental-outcomes-of-term-infants-with-post-asphyxia-neonatal-encephalopathy>
 351. Volpe's Neurology of the Newborn - 6th Edition [Internet]. [cited 2020 Apr 17]. Available from: <https://www.elsevier.com/books/volpes-neurology-of-the-newborn/volpe/978-0-323-42876-7>
 352. Azzopardi D, TOBY study group. Predictive value of the amplitude integrated EEG in infants with hypoxic ischaemic encephalopathy: data from a randomised trial of therapeutic hypothermia. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2014 Jan;99(1):F80-82.

Appendix – Supplementary data

Table A.1: French classification of HIE cEEG grades after perinatal asphyxia [26].

HIE grade	EEG	Description
0	Normal for gestational age	“Activité moyenne” (continuous background pattern) or “tracé alternant” (during quiet sleep) with physiological figures (“encoches frontales”, “dysrythmie lente antérieure”), temporo-spatial organisation with sleep-wake cycling (SWC) and reactivity.
1	Mild abnormalities	Frequent spikes or mild amplitude depression (30–50 μV) or transitory discontinuity with conserved organisation, SWC and reactivity.
2	Moderate abnormalities	<p>Discontinuous trace type A: burst (physiological amplitude and morphology) for 10–30 sec, IBI (< 10 μV) for < 10 sec, with conserved spatial organisation, lability and reactivity but no identifiable SWC.</p> <p>Discontinuous trace type B: burst (30–50 μV) for 10–30 sec, IBI (< 10 μV) for < 10 sec, no physiological element or organisation, lack of lability.</p> <p>Hyperactive rapid trace: continuous background activity with physiological features intermingled with abundant ample and diffuse waves of 4–12 Hz. Lack of lability and reactivity, no SWC.</p> <p>Slow EEG: continuous background activity with diffuse delta waves of 0.5–1.5 Hz in wakefulness and sleep, amplitude < 50 μV. Lack of lability and reactivity, no SWC.</p>
3	Severe abnormalities	<p>Paroxysmal trace: burst (spikes with theta and delta waves) for 1–10 sec, IBI (< 5 μV) for 10–60 sec without physiological figures. No temporo-spatial organisation, no lability, no SWC.</p> <p>Low voltage plus theta trace: bursts of theta frequencies (5–15 μV) of varying length, background activity with very low amplitude of < 15 μV, without physiological activity. No temporo-spatial organisation, no lability, no SWC.</p> <p>Inactive trace: very depressed continuous background activity with amplitude of < 5 μV or IBI (< 5 μV) for > 60 sec, without physiological activity. No temporo-spatial organisation, no lability, no SWC.</p>

cEEG: conventional EEG; IBI: interburst interval; SWC: sleep-wake cycles

Table A.2: ICF score – This clinical score (0–4) is adapted from the International Classification of Functioning, Disability and Health (World Health Organization Geneva, 2002) by Jill C. Heathcock, physiotherapist.

1 point is assigned for each category of impairment across the ICF.

Scoring	Category of impairment	Example
1 point	Body structure or function impairment*	Axial hypotonia or hypertonia, paresis, spasticity, ataxia, sensory loss, etc.
1 point	Activity limitation	At 1 year: lack of head control, sitting posture not acquired At 2 years: inability to walk, no language
1 point	Participation restriction	Impact on family life

*If several body structures or functions are impaired, the sum of impairment is listed in the “amount” category. If the amount is ≥ 4 , 1 point is added to the final score.

Table A.3

a) Al Naqeeb classification of aEEG background activity [32].

1.	Normal amplitude, the upper margin of band of aEEG activity $>10 \mu\text{V}$ and the lower margin $>5 \mu\text{V}$
2.	Moderately abnormal amplitude, the upper margin of band of aEEG activity $>10 \mu\text{V}$ and the lower margin $\leq 5 \mu\text{V}$
3.	Suppressed amplitude, the upper margin of the band of aEEG activity $<10 \text{mV}$ and lower margin $<5 \text{mV}$, usually accompanied by bursts of high-voltage activity (“burst suppression”).

b) Hellström-Westas suggested classification of aEEG background patterns [19], describing the dominant type of electrocortical activity in the aEEG trace.

Continuous (C)	Continuous activity with lower (minimum) amplitude around (5 to) 7 to 10 μV and maximum amplitude of 10 to 25 (to 50) μV
Discontinuous (DC)	Discontinuous background with minimum amplitude variable, but below 5 μV , and maximum amplitude above 10 μV
Burst-Suppression (BSA)	Discontinuous background with minimum amplitude without variability at 0 to 1 (2) μV and bursts with amplitude $>25 \mu\text{V}$. BS+ denotes burst density >100 bursts/h, and BS- means burst density <100 bursts/h.
Low-Voltage (LV)	Continuous background pattern of very low voltage (around or below 5 μV).
Inactive, flat (FT)	Primarily inactive (isoelectric trace) background below 5 μV .



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Neuroscience Methods

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jneumeth

Fetal sheep cerebral electrical activity: A new technique to record EEG



Laure Lacan^{a,c,*}, Yasmine Hamoud^{a,b}, Sylvie Nguyen^{a,c}, Julien De Jonckheere^{a,d},
Laurent Storme^{a,c}, Véronique Houfflin-Debarge^{a,b}, Stéphane Auvin^e, Dyuti Sharma^{a,f},
Charles Garabedian^{a,b}, Louise Ghesquière^{a,b}

^aUniv. Lille, CHU Lille, ULR 2694 - METRICS, F-59000, Lille, France

^bCHU Lille, Departments of Obstetrics, F-59000, Lille, France

^cCHU Lille, Departments of Pediatric Neurology, F-59000, Lille, France

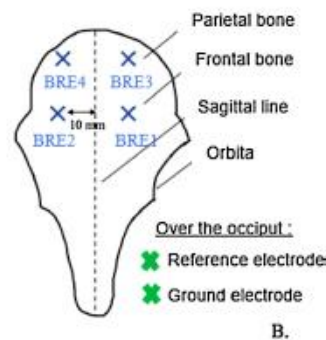
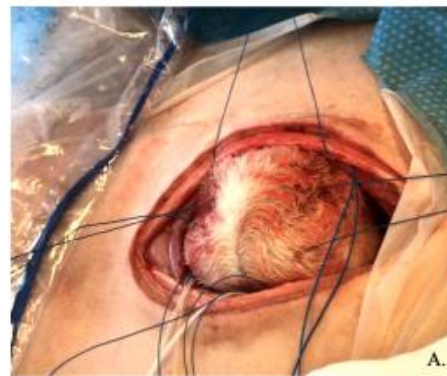
^dCHU Lille, CIC-IT 1403, F-59000, Lille, France

^eCHU Lille, Departments of Neonatology, F-59000, Lille, France

^fCHU Lille, Departments of Pediatric Surgery, F-59000, Lille, France

^gAPHP, Hôpital Robert Debré, Departments of Pediatric Neurology, F-75019, Paris, France

GRAPHICAL ABSTRACT



ARTICLE INFO

Keywords:
EEG technique
Fetal sheep
Perinatal hypoxia

ABSTRACT

Background: Sheep models are commonly used to study fetal cortical activity, including response to hypoxia. The standard technique consists of recording electrocorticogram (ECoG) *in utero* using electrodes placed on the dura mater.

Abbreviations: CFM, Cerebral Function Monitor; ECG, Electrocardiogram; ECoG, Electrocoorticogram; EEG, Electroencephalogram; FSI, Fetal Stress Index; HIE, Hypoxic-ischemic encephalopathy; HRV, Heart Rate Variability; Max Amp, Maximal Amplitude Index; Min Amp, Minimal Amplitude Index; 95 % SEP, Spectral Edge Frequency 95 %; UCO, Umbilical Cord Occlusion

* Corresponding author at: CHU Lille, Hôpital Roger Salengro, Department of Pediatric Neurology, Avenue du Professeur Emile Lainé, 59037, Lille Cedex, France.
E-mail address: laurelacan@yahoo.fr (L. Lacan).

<https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2020.108888>

Received 2 May 2020; Received in revised form 21 July 2020; Accepted 27 July 2020

Available online 02 August 2020

0165-0270/ © 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

Abstract

Background: Sheep models are commonly used to study fetal cortical activity, including response to hypoxia. The standard technique consists of recording electrocorticogram (ECOG) *in utero* using electrodes placed on the dura mater.

New Method: We propose a new method for recording the electroencephalogram (EEG) of fetal sheep, using electrodes placed above the skull bone and fixed to the cranial periosteum.

Results: Twelve animals were instrumented with this new technique. The EEG signal recorded *in utero* was of sufficient quality for visual and quantitative analysis of the fetal cortical activity.

Comparison with Existing Method: This new method is less invasive than the standard method commonly used to record cerebral activity in fetal sheep, because it avoids drilling the skull by hand. The EEG signal recorded *in utero* had visual and quantitative characteristics comparable to ECOG.

Conclusions: We present a new method of EEG recording that appears to be an acceptable alternative to the standard ECOG recording method. Fetal sheep EEG can be used to better understand the physiological mechanisms involved in the cerebral response to hypoxia.

Key words: EEG technique; fetal sheep; perinatal hypoxia

Abbreviations

CFM	Cerebral Function Monitor
ECG	Electrocardiogram
ECOG	Electrocorticogram
EEG	Electroencephalogram
FSI	Fetal Stress Index
HIE	Hypoxic-ischemic encephalopathy
HRV	Heart Rate Variability
Max Amp	Maximal Amplitude Index
Min Amp	Minimal Amplitude Index
95% SEF	Spectral Edge Frequency 95%
UCO	Umbilical Cord Occlusion

1. Introduction:

First recordings of *in utero* fetal sheep cortical activity were reported in the early 1970s (288–291). Brain maturation in the fetal sheep is faster than fetal human brain but follows the same model with comparable patterns of electrocortical activity (277–279,281). Access to cerebral activity *in utero* is of particular interest for studying the normal evolution of fetal electrocortical activity during gestation or the response to events such as perinatal anoxia. Since then, the standard technique is the recording of an electrocorticogram (ECOG) using electrodes placed directly on the dura mater of the fetal sheep (224,339,340): after a laparotomy with exposure of the fetal head, a midline scalp incision is made, the periosteum is removed from the calvarium and stainless steel electrodes screws are inserted through burr-holes into the bone, their ends rested on the dura mater. A mold is formed from dental acrylic cement over the electrodes providing both mechanical stability and insulation from the scalp and the amniotic fluid. However, this technique requires drilling the skull by hand for electrode placement, which is quite invasive and can, in our experience, result in complications such as extradural hematomas and even fetal loss.

We propose herewith a new technique of *in utero* electroencephalogram (EEG) recording using electrodes fixed above the cranial bone, which avoids drilling burr-holes.

2. Methods:

2.1. Ethics

The anesthesia, surgery and experimental protocols followed the recommendations of the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and the ARRIVE guidelines. The study was approved by the local Animal Experimentation Ethics Committee (Approval No. 2016121312148878).

2.2. Surgical procedure

Pregnant ewes (breed 'Ile de France', coming from Tours'INRA, Orfrasière animal physiology experimental Unit, Val de Loire Center) were housed at least 7 days prior to intervention in metabolic cages with unlimited access to water, hay and a 400g portion of granules was administered twice a day. A 24-hour fast was imposed before the operation. Near term fetal sheep (124+/-1 days gestational age, term: 145 days) were surgically instrumented to record cortical activity *in utero*, during and after hypoxic insults.

Surgery was performed under general anesthesia: premedication with Xylazine 0.3 ml/kg (Sedaxylan® 20mg/ml, Dechra, Netherlands), ventilation with halogen gas before intubation and mechanical ventilation, sedation maintained by inhaled Isoflurane during the operation (Isoflurane, Aerrane®, Baxter, Maurepas, France). Maternal analgesia was provided by an intramuscular injection of Buprenorphine 0.6ml/10kg (Bupaq®, Virbac, France) at the beginning of the operation. Intramuscular antibiotic prophylaxis of 1ml/10kg Amoxicillin (Clamoxyl LA® 150mg/ml, Zoetis, France) was administered intra-operatively to the mother.

We followed our usual protocol (341–344): the right anterior forelimb of the fetus was delivered through maternal midline laparotomy and hysterotomy under surgical asepsis conditions. Axilla skin incision was made after local anesthesia, provided by subcutaneous injection of 1mL

lidocaine hydrochloride 10mg/mL (Xylocaine® Astrazeneca, Reuil-malmaison, France), combined with fetal analgesia by intramuscular injection of 0.3 mL Buprenorphine (Bupaq®, Virbac, France). 4Fr diameter catheter (Arrow, USA) was inserted into the right axillary artery until reaching the fetal aorta for hemodynamic parameters recording and fetal blood sampling. The same procedure was repeated on the left. Four precordial electrodes (MYWIRE 10, MAQUET, Germany) were placed in axillary intercostal muscles for ECG signal recording.

An occluder (OC VO-16HD - DOCXS Biomedical Products - Ukiah, California) was placed around the umbilical cord of the fetus to induce cord compression by injection of saline.

For EEG electrodes placement, the fetal head was exposed through the hysterotomy. Two pairs of pre-prepared needle electrodes (MYWIRE 10, MAQUET, Germany Figure 2B) were set up on both sides over the frontal and parietal cortex, 10 mm lateral to the sagittal suture, and about 5 mm anterior and 10 mm posterior respectively to the fronto-parietal suture (Figure 1). A reference electrode and a ground electrode were placed over the occiput. Skin incision of 5 mm was made for each electrode, ensuring good control of hemostasis at the level of the scalp. The electrode was placed so that the bared portion was under the periosteum, in contact with the bone thus completely isolated from amniotic fluid (Figure 2). The scalp was then sutured, the electrode was tied around the suture and fixed.

Placental circulation was maintained intact and the fetus was placed back into the uterus. An additional 5Fr diameter catheter (Arrow, USA) was placed into the amniotic cavity for measuring baseline pressure. Uterus and abdominal wall were closed after instillation of 500 mg of amoxicillin-clavulanic acid (Amoxicillin-clavulanic acid SANDOZ®, Sandoz, Levallois-Perret, France) into the amniotic fluid. The occluder, EEG and ECG wires, fetal and intra-amniotic catheters connected to extenders, were externalized on the right lateral flank of the sheep by subcutaneous tunneling.

After the operation, the sheep were allowed to eat and drink. The permeability of the fetal catheters was maintained by daily injection of 10 IU/mL isotonic heparinized saline (Heparin CHOAY®5000UI, Sanofi-aventis France, Paris). Postoperative analgesia was provided by a maternal intramuscular injection of 0.3mL/10kg Buprenorphine (Bupaq®, Virbac, France) 24 and 48 hours postoperatively.

2.3. Experimental procedure

After three days of post-operative rest, animals were subjected to a labor-like acidosis using repetitive umbilical cord occlusion (UCO) with increasing severity as described by Prout and al (257). Total UCO was induced by injecting an isotonic solution into the occluder (the required volume was calculated during surgery). After a one-hour stability control period, three phases of successively mild, moderate and severe repetitive UCOs were performed for one hour each. One-minute UCOs were repeated every 5 minutes during the phase A (mild UCOs), every 3 minutes during the phase B (moderate UCOs) and every 2 minutes during the phase C (severe UCOs). The protocol was interrupted if the arterial pH obtained reached 6.90 or less.

After the occlusion phases, fetuses were monitored continuously for a 6-hour recuperation phase and were allowed to recover for 48 hours. After the experiment, animals were sacrificed by an intravenous injection of a veterinary anesthetic: 6ml/50kg of T61® (Embutramide 20g, Mebezonium iodide 5g, Tetracaine hydrochloride 0.5g, Dimethylformamide 60ml).

Fig. 1 – Electrode placement on the head of the fetal lamb

- A. Fetal head exposed through the hysterotomy during the surgical procedure (anterior up, posterior down on this picture)
- B. Front view of a fetal sheep skull. Placement of EEG electrodes.

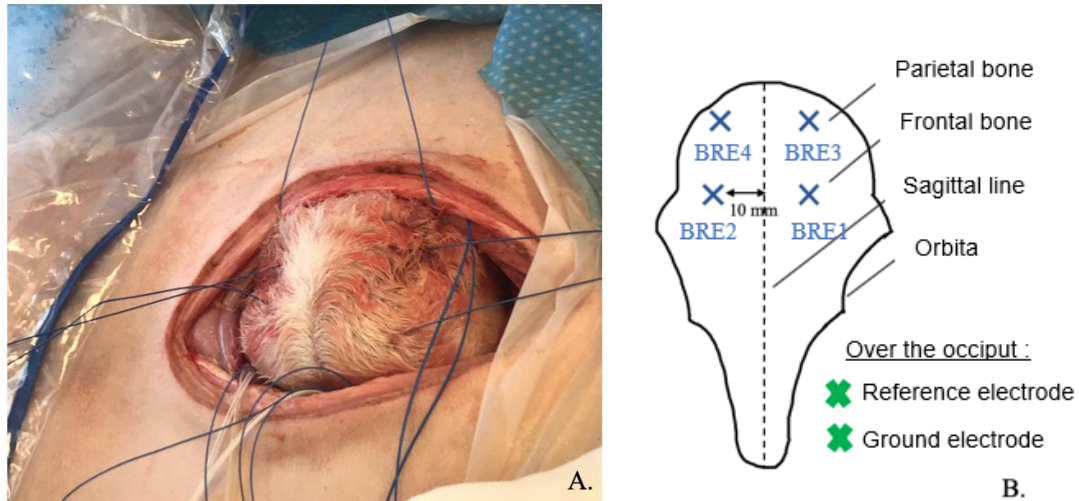
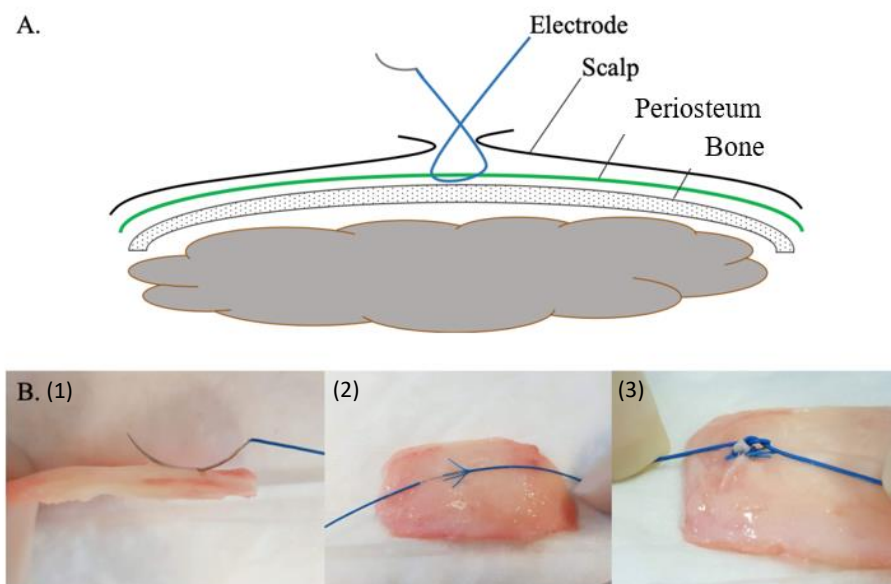


Fig. 2 – Positioning of the EEG electrodes

- A. Pattern of pose
- B. Step by step illustration of the technique on post-mortem fetal sheep skull. The needle electrode is placed underneath the periosteum (1) so that the barred portion of the wire is directly in contact with the bone (2), then tied with a knot (3).



2.4. EEG recording and data analysis

EEG was continuously recorded during the one-hour stability phase, the occlusion phase, up to 6 hours (H6) post-occlusion during the recovery phase and one hour at 24 hours (H24) and 48 hours (H48). The four channels (BRE1, 2, 3, 4) were monopolar recorded against a reference electrode using Micromed EEG System®. The signal was filtered with high-pass and low-pass filters at 0.5 and 70 Hz respectively and digitalized at a sampling rate of 256 Hz.

Recordings were analysed offline on the System Plus Evolution Software® unit (Micromed SAS, Macon, France) at specific time points. Each record was visually analysed by a neurophysiologist using a bipolar montage. Quantitative analysis was performed using the program “EEG Analyser” (Micromed®) and the EEG parameters were calculated every two seconds over the analysed periods. The amplitude was measured by the minimal and maximal Amplitude Index (min and max Amp), defined as the minimal and maximal peak of amplitude (μV), measured using CFM after filtering the signal at 2–20 Hz. The Spectral Edge Frequency was defined as the frequency (Hz) below which 95% of the power in EEG exists (95% SEF).

3. Results:

Twelve animals were instrumented with the EEG technique. Two manipulations were unsuccessful (rupture of the umbilical cord occluder and a fetal death during the protocol). The time required to fix the electrodes was not measured precisely for all manipulations but estimated at about 5 minutes per electrode, i.e. a total of 15 to 30 minutes' maximum for 6 electrodes depending on the number of operators (1 or 2).

The recorded EEG signal was of sufficient quality for visual and quantitative analysis. The signal artefacts were intermittent and consisted mainly of large waves related to movements of the ewe or the fetal lamb but did not interfere with the EEG visual analysis (Figure 3).

Considering the qualitative visual analysis, the EEG signal was continuous and labile in stability phase. Two kinds of electrical activities could be visually distinguished: high-voltage slow activity and low-voltage fast activity (Figure 4A and B). Concurrently with UCOs, we could visually observe a decrease in the signal amplitude, frequently followed by large amplitude artefacts (Figure 4C). At the beginning of the recovery phase, the signal amplitude was generally depressed with slower frequencies. During the six hours of recovering, we observed a progressive enrichment of the signal with reappearance of the lability. Spikes and periods of rhythmic activity were observed in some tracings during this phase, which could correspond to seizures (Figure 4D). After the maternal sacrifice, the amplitude of the EEG signal was decreasing to an inactive tracing in less than 20 minutes (7.50 min in average \pm 5.32 [1.2-19.0]) (Figure 4E).

The EEG quantitative measures are presented in Table 1 and Figure 5 but are not subject to statistical analysis as this is not the objective of this paper.

Fig. 3 – Example of EEG tracing with signal artefact

Transverse (black) and longitudinal (blue) bipolar montage with Bre1 to 4 corresponding to the EEG electrodes shown in Figure 1B).

The artefact (framed in red) was recorded during the stability period and was concomitant with ewe movements. It is representative of intermittent artefacts we usually recorded with a large amplitude averaging $250\ \mu\text{V}$ here and a slow frequency (peak frequency at 1 Hz).

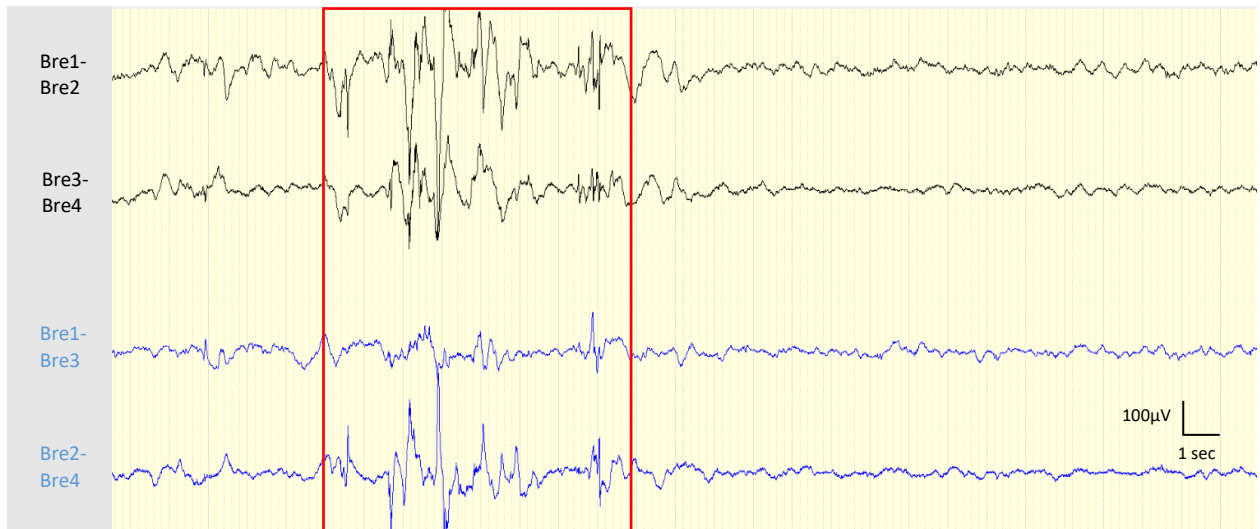
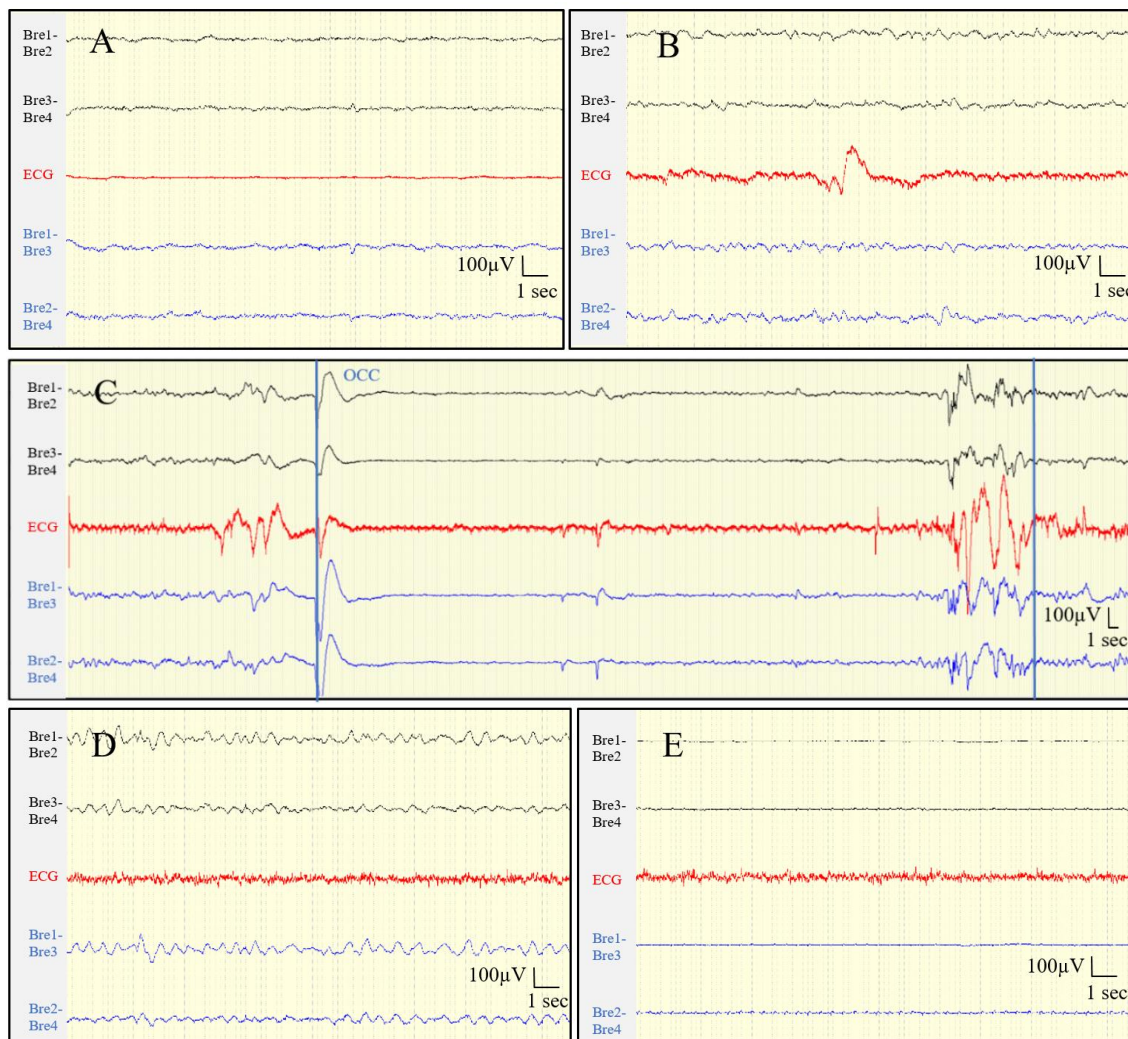


Fig. 4 – Examples of EEG tracings at the different phases of the protocol

Transverse (black) and longitudinal (blue) bipolar montage with Bre1 to 4 corresponding to the EEG electrodes shown in Figure 1B). ECG in red.

- A. Stability phase (20 sec epoch): low-voltage fast activity with maximum signal amplitude around 20 μV , frequency 10-13 Hz.
- B. Stability phase (20 sec epoch): high voltage slow activity with maximum signal amplitude around 60 μV , frequency 2-5 Hz.
- C. Moderate umbilical cord occlusion (1 minute of occlusion every 3 minutes; the beginning and the end of the occlusion (occ) are marked by the blue bars): diminution of the signal amplitude; artefacts at the beginning and the end of the umbilical cord occlusion (90 sec epoch).
- D. Recovery phase / H2 post-occlusions (20 sec epoch): rhythmic activity, recorded on all derivations.
- E. Inactive tracing (20 sec epoch): 7 minutes after the maternal sacrifice.

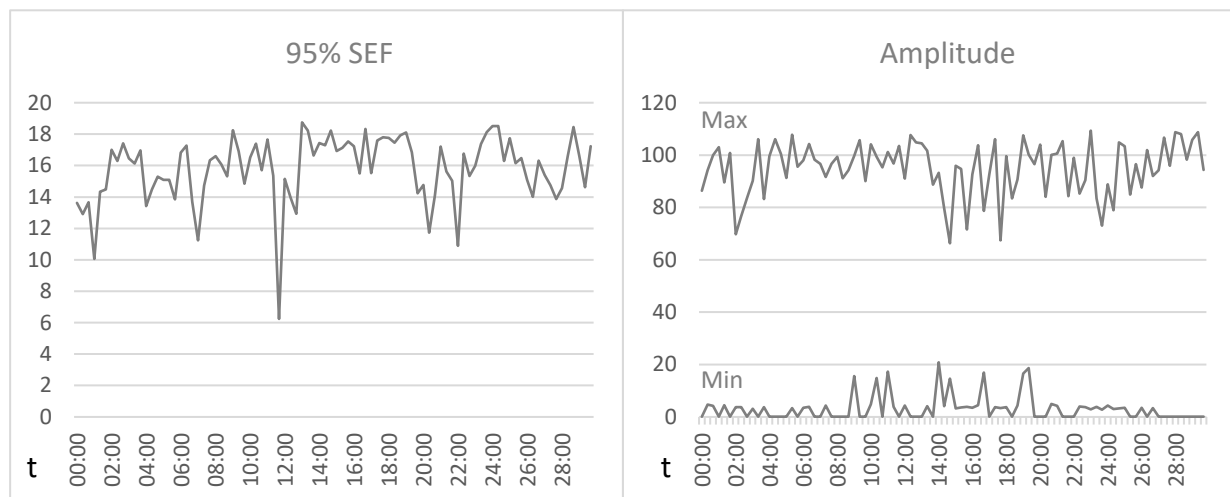


**Fig.
4 –**

Table 1 – Fetal EEG measurements

	Baseline	Mild UCO		Moderate UCO		Severe UCO	
		Phase	Per-UCO	Phase	Per-UCO	Phase	Per-UCO
Min Amp (μv)	3.5 ± 1.6	2.7 ± 1.4	3.4 ± 2.8	2.0 ± 1.2	4.2 ± 10.3	1.7 ± 1.3	1.4 ± 1.6
Max Amp (μv)	79 ± 17	78 ± 16	76 ± 20	78 ± 15	77 ± 20	80 ± 12	76 ± 21
95% SEF (Hz)	8.7 ± 3.8	7.6 ± 2.8	7.9 ± 3.3	7.2 ± 3.0	7.5 ± 3.6	6.3 ± 2.1	6.0 ± 2.8

Values are means \pm standard error. N=10. UCO = umbilical cord occlusion; Min Amp = minimal amplitude; Max Amp = maximal amplitude; 95% SEF = 95% Spectral Edge Frequency.

Fig. 5 – Example of quantitative EEG measurements in stability phase

95% SEF = Spectral Edge Frequency 95% (Hz); Max = maximal amplitude over 20 sec (μV); Min = minimal amplitude over 20 sec (μV); t = time (mm:ss)

4. Discussion:

Fetal sheep preparation requires substantial cost and infrastructure thus models have to be reproducible with low mortality and morbidity rates in order to reduce the number of animals needed (346). We propose an *in utero* EEG recording technique in the fetal sheep that avoids drilling the skull by hand for electrode placement. This allows a quite simple and less invasive procedure. The learning curve of this technique is short, making it easy and quick to implement in a team which does not include neurosurgeons.

The EEG signal recorded using this technique appears to be of sufficient quality for visual and quantitative analysis of fetal sheep cortical activity. Recording the signal using electrodes placed above the skull bone is likely to produce more signal artefacts than when the electrodes are fixed in the bone. Nevertheless, the recorded artefacts were intermittent and easily visually detectable, which did not interfere with the signal visual analysis.

When comparing to the raw ECOG tracings presented in previous studies (Figure 6), the obtained EEG signal was continuous and labile in stability phase, as described at this gestational age in the fetal lamb (279,288,291,347). Visually, it was possible to distinguish the two types of activity described in the literature as associated with the sleep-wake stages in the fetal lamb (279,290,291,296–298,301) but to be certain, further analysis with recording of eyes movements, EMG and respiration movements during these activities would be required, which could be the subject of future studies.

Our quantitative EEG measures in stability phase were comparable with ECOG data at the same gestational age in previous studies (42,223,224,302). The EEG signal amplitude appeared to be somewhat lower, which was expected since the cortical activity is recorded above the bone. Experimental data obtained during the occlusion phases were not compared with previous studies as the occlusion protocols differ between studies.

To our knowledge only one team succeeded in recording fetal sheep brain activity without drilling holes in the skull, using a modified double spiral fetal heart rate electrode placed directly on the scalp (348). Their findings confirm that ECOG activity acquired from supra-dural electrodes and EEG activity acquired from scalp electrodes are similar despite a reduced amplitude and more technical artefacts in the latter. Our technique using periosteum to secure EEG electrodes seems to be a good compromise between a more invasive technique and a more artefacted signal. Although, the scalp receives a rich blood supply and the placement of electrodes requires great hemostasis, as the occurrence of subcutaneous hematoma can attenuate the signal.

This study therefore proposes the EEG technique as an acceptable alternative to ECOG. However, the comparison with the standard technique is limited because we did not record ECOG tracings at the same time and the duration of the procedure was not measured exactly.

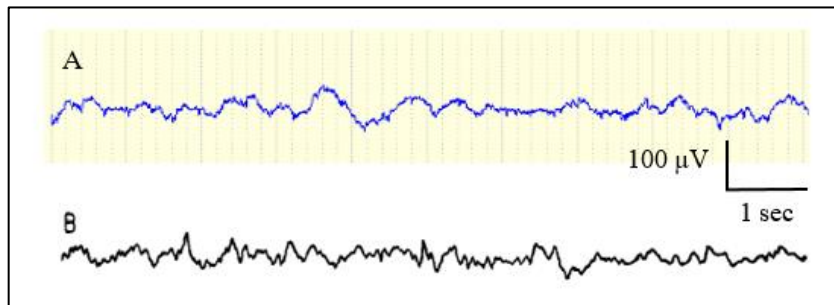
In utero recording of fetal cortical activity is of particular interest to study the physiological mechanisms involved in the cerebral response to perinatal hypoxia and predict hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE). Indeed, an estimated 30% of cases of neonatal encephalopathy in developed countries are still associated with evidence of intrapartum hypoxic-ischemia (349) and HIE is responsible for significant neonatal mortality and morbidity (8,350,351). However, reliable biomarkers of perinatal asphyxia are still missing : fetal heart rate monitoring during labor is commonly used to evaluate the fetal well-being but lack at predicting HIE (87). Severe fetal metabolic acidosis during labor, measured by scalp or cord pH and lactate, is one of the most sensitive signs of fetal anoxia. Arterial pH below 7.00 at birth is associated with abnormal outcome but the positive predictive value for HIE is low (89). Lactate has also been shown to be a poor predictor of perinatal brain injury (287). As early post-natal EEG is known to be highly predictive of clinical prognosis (352), the identification of relevant prenatal EEG markers in the fetal lamb could potentially be used in humans to predict the onset of HIE, e.g. through the use of per partum scalp electrodes, which however is not yet available in clinical practice.

Furthermore, our team has recently developed a new index of fetal surveillance during labor (Fetal Stress Index, FSI), using an original method of Heart Rate Variability (HRV) analysis. Previous experimental studies showed that FSI was specific for the parasympathetic tone and correlated to pH and lactate in labour-like acidosis models (341–343). Frasch et al. showed a synchronization of cardiac and cerebral activity prior to the onset of severe acidosis in fetal sheep (348), it could be therefore interesting to correlate FSI with cerebral activity markers.

Fig. 6 – Comparison of tracings: EEG technique vs ECOG technique

A. Example of EEG tracing recorded *in utero* in a fetal sheep using the EEG technique (gestational age 128 days, stability phase).

B. ECOG tracing presented in “EEG, ECG, and acid-base observations during acute fetal hypoxia”, Mann 1970 (gestational age 130 days, stability phase) (288)

**5. Conclusion**

We propose a method of *in utero* EEG recording in the fetal sheep using electrodes fixed above the cranial bone. This method is less invasive and the recorded EEG signal is of sufficient quality with visual and quantitative characteristics comparable to ECOG.

This appears to be an acceptable alternative to the standard ECOG recording method and can be used for future studies.

6. Acknowledgements

We thank Capucine Besengez, Thomas Hubert and all the staff of the Research Experimental Department of University Lille for their veterinary care and their expert assistance with sheep surgery.

Declarations of interest: none.

7. References

1. Rainaldi MA, Perlman JM. Pathophysiology of Birth Asphyxia. *Clin Perinatol*. 2016 Sep;43(3):409–22.
2. Stevenson DK, Benitz WE, Sunshine P, Hintz SR, Druzin ML. *Fetal and Neonatal Brain Injury*. Cambridge University Press; 2017. 855 p.
3. Thornberg E, Thiringer K, Odeback A, Milsom I. Birth asphyxia: incidence, clinical course and outcome in a Swedish population. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. 1995 Aug;84(8):927–32.
4. Wu YW, Backstrand K, Zhao S, Fullerton H, Johnston S. Declining Diagnosis of Birth Asphyxia in California: 1991–2000. *Pediatrics*. 2004;
5. Pierrat V, Haouari N, Liska A, Thomas D, Subtil D, Truffert P, et al. Prevalence, causes, and outcome at 2 years of age of newborn encephalopathy: population based study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2005 May;90(3):F257–61.
6. Dzakpasu S, Joseph KS, Huang L, Allen A, Sauve R, Young D, et al. Decreasing diagnoses of birth asphyxia in Canada: fact or artifact. *Pediatrics*. 2009 Apr;123(4):e668–672.
7. Garne E, Vain-Nielsen N, Hansen AV, Fenger-Grøn J. Birth asphyxia in a Danish hospital uptake area was reduced after centralisation of deliveries. *Dan Med J*. 2018 Feb;65(2):A5443.
8. Lawn JE, Cousens S, Zupan J. 4 million neonatal deaths: When? Where? Why? *The Lancet*. 2005 Mar 5;365(9462):891–900.
9. Rebeille-Borgella B. Étude LyTONEPAL : cohorte nationale de nouveau-nés à terme ou proche du terme présentant une encéphalopathie anoxo-ischémique : évaluation de la prévalence et description de la population d'étude. 2018 Apr 6;63.
10. Volpe JJ. *Neurology of the Newborn E-Book*. Elsevier Health Sciences; 2008. 1109 p.
11. Volpe JJ. Neonatal encephalopathy: an inadequate term for hypoxic-ischemic encephalopathy. *Ann Neurol*. 2012 Aug;72(2):156–66.
12. Perlman M, Shah PS. Hypoxic-Ischemic Encephalopathy: Challenges in Outcome and Prediction. *J Pediatr*. 2011 Feb 1;158(2, Supplement):e51–4.
13. Thoresen M, Satas S, Puka-Sundvall M, Whitelaw A, Hallström Å, Løberg E-M, et al. Post-hypoxic hypothermia reduces cerebrocortical release of NO and excitotoxins. *NeuroReport*. 1997 Oct;8(15):3359.
14. Inder TE, Volpe JJ. Mechanisms of perinatal brain injury. *Semin Neonatol*. 2000 Feb 1;5(1):3–16.

15. Roth SC, Baudin J, Cady E, Johal K, Townsend JP, Wyatt JS, et al. Relation of deranged neonatal cerebral oxidative metabolism with neurodevelopmental outcome and head circumference at 4 years. *Dev Med Child Neurol*. 1997 Nov;39(11):718–25.
16. Hanrahan JD, Cox IJ, Azzopardi D, Cowan FM, Sargentoni J, Bell JD, et al. Relation between proton magnetic resonance spectroscopy within 18 hours of birth asphyxia and neurodevelopment at 1 year of age. *Dev Med Child Neurol*. 1999 Feb;41(2):76–82.
17. Itskovitz J, LaGamma EF, Rudolph AM. Heart rate and blood pressure responses to umbilical cord compression in fetal lambs with special reference to the mechanism of variable deceleration. *Am J Obstet Gynecol*. 1983 Oct 15;147(4):451–7.
18. Giussani DA, Spencer JA, Hanson MA. Fetal cardiovascular reflex responses to hypoxaemia. *Fetal Matern Med Rev*. 1994 Feb;6(1):17–37.
19. Bennet L, Westgate JA, Liu Y-C (“Jack”), Wassink G, Gunn AJ. Fetal acidosis and hypotension during repeated umbilical cord occlusions are associated with enhanced chemoreflex responses in near-term fetal sheep. *J Appl Physiol*. 2005 Oct 1;99(4):1477–82.
20. Lear CA, Galinsky R, Wassink G, Yamaguchi K, Davidson JO, Westgate JA, et al. The myths and physiology surrounding intrapartum decelerations: the critical role of the peripheral chemoreflex. *J Physiol*. 2016 Sep 1;594(17):4711–25.
21. Recher M, Prevost ALD, Sharma D, De Jonckheere J, Garabedian C, Storme L. Roles of parasympathetic outflow and sympathetic outflow in the cardiovascular response to brief umbilical cord occlusion in fetal sheep. *PLoS ONE*. 2021 Jul 6;16(7):e0254155.
22. Jensen A, Garnier Y, Berger R. Dynamics of fetal circulatory responses to hypoxia and asphyxia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1999 Jun;84(2):155–72.
23. Wassink G, Bennet L, Booth LC, Jensen EC, Wibbens B, Dean JM, et al. The ontogeny of hemodynamic responses to prolonged umbilical cord occlusion in fetal sheep. *J Appl Physiol Bethesda Md 1985*. 2007 Oct;103(4):1311–7.
24. Garabedian C, De Jonckheere J, Butruille L, Deruelle P, Storme L, Houfflin-Debarge V. Understanding fetal physiology and second line monitoring during labor. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2017 Feb;46(2):113–7.
25. Koehler RC, Jones MD, Traystman RJ. Cerebral circulatory response to carbon monoxide and hypoxic hypoxia in the lamb. *Am J Physiol*. 1982 Jul;243(1):H27–32.
26. Kaneko M, White S, Homan J, Richardson B. Cerebral blood flow and metabolism in relation to electrocortical activity with severe umbilical cord occlusion in the near-term ovine fetus. *Am J Obstet Gynecol*. 2003 Apr 1;188(4):961–72.
27. Richardson BS, Carmichael L, Homan J, Johnston L, Gagnon R. Fetal cerebral, circulatory, and metabolic responses during heart rate decelerations with umbilical cord compression. *Am J Obstet Gynecol*. 1996 Oct;175(4 Pt 1):929–36.

28. Newman JP, Peebles DM, Hanson MA. Adenosine Produces Changes in Cerebral Hemodynamics and Metabolism as Assessed by Near-Infrared Spectroscopy in Late-Gestation Fetal Sheep in Utero. *Pediatr Res*. 2001 Aug;50(2):217–21.
29. Hunter CJ, Bennet L, Power GG, Roelfsema V, Blood AB, Quaedackers JS, et al. Key neuroprotective role for endogenous adenosine A1 receptor activation during asphyxia in the fetal sheep. *Stroke*. 2003 Sep;34(9):2240–5.
30. Nguyen PN, Yan EB, Castillo-Melendez M, Walker DW, Hirst JJ. Increased allopregnanolone levels in the fetal sheep brain following umbilical cord occlusion. *J Physiol*. 2004 Oct 15;560(Pt 2):593–602.
31. Bennet L, Roelfsema V, Dean JM, Wassink G, Power GG, Jensen EC, et al. Regulation of cytochrome oxidase redox state during umbilical cord occlusion in preterm fetal sheep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2007 Apr;292(4):R1569-1576.
32. Yawno T, Yan EB, Hirst JJ, Walker DW. Neuroactive steroids induce changes in fetal sheep behavior during normoxic and asphyxic states. *Stress*. 2011 Jan 1;14(1):13–22.
33. Xu A, Durosier LD, Ross MG, Hammond R, Richardson BS, Frasch MG. Adaptive brain shut-down counteracts neuroinflammation in the near-term ovine fetus. *Front Neurol*. 2014;5:110.
34. Astrup J. Energy-requiring cell functions in the ischemic brain. Their critical supply and possible inhibition in protective therapy. *J Neurosurg*. 1982 Apr;56(4):482–97.
35. Chao CR, Hohimer AR, Bissonnette JM. The effect of elevated blood glucose on the electroencephalogram and cerebral metabolism during short-term brain ischemia in fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol*. 1989 Jul 1;161(1):221–8.
36. Fisher DJ. Acidaemia reduces cardiac output and left ventricular contractility in conscious lambs. *J Dev Physiol*. 1986 Feb;8(1):23–31.
37. Lewinsky RM. Cardiac systolic time intervals and other parameters of myocardial contractility as indices of fetal acid-base status. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol*. 1994 Sep;8(3):663–81.
38. Bennet L, Rossenrode S, Gunning MI, Gluckman PD, Gunn AJ. The cardiovascular and cerebrovascular responses of the immature fetal sheep to acute umbilical cord occlusion. *J Physiol*. 1999 May 15;517(Pt 1):247.
39. Gunn AJ, Maxwell L, de Haan HH, Bennet L, Williams CE, Gluckman PD, et al. Delayed hypotension and subendocardial injury after repeated umbilical cord occlusion in near-term fetal lambs. *Am J Obstet Gynecol*. 2000 Dec 1;183(6):1564–72.
40. Yumoto Y, Satoh S, Fujita Y, Koga T, Kinukawa N, Nakano H. Noninvasive measurement of isovolumetric contraction time during hypoxemia and acidemia: Fetal lamb validation as an index of cardiac contractility. *Early Hum Dev*. 2005 Jul 1;81(7):635–42.

41. Gunn AJ, Bennet L. Fetal Hypoxia Insults and Patterns of Brain Injury: Insights from Animal Models. *Clin Perinatol*. 2009 Sep 1;36(3):579–93.
42. Frasch MG, Keen AE, Gagnon R, Ross MG, Richardson BS. Monitoring fetal electrocortical activity during labour for predicting worsening acidemia: a prospective study in the ovine fetus near term. *PLoS One*. 2011;6(7):e22100.
43. Astrup J, Symon L, Branston NM, Lassen NA. Cortical evoked potential and extracellular K⁺ and H⁺ at critical levels of brain ischemia. *Stroke*. 1977 Feb;8(1):51–7.
44. Wassink G, Gunn ER, Drury PP, Bennet L, Gunn AJ. The mechanisms and treatment of asphyxial encephalopathy. *Front Neurosci*. 2014;8:40.
45. Lotgering FK, Bishai JM, Struijk PC, Blood AB, Hunter CJ, Power GG, et al. Ten-minute umbilical cord occlusion markedly reduces cerebral blood flow and heat production in fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol*. 2003 Jul;189(1):233–8.
46. Tan WKM, Williams CE, During MJ, Mallard CE, Gunning MI, Gunn AJ, et al. Accumulation of Cytotoxins During the Development of Seizures and Edema after Hypoxic-Ischemic Injury in Late Gestation Fetal Sheep. *Pediatr Res*. 1996 May;39(5):791–7.
47. Northington FJ, Chavez-Valdez R, Martin LJ. Neuronal cell death in neonatal hypoxia-ischemia. *Ann Neurol*. 2011 May;69(5):743–58.
48. Hossmann K-A. Pathophysiology and Therapy of Experimental Stroke. *Cell Mol Neurobiol*. 2006 Nov 1;26(7):1055–81.
49. El-Dib M, Inder TE, Chalak LF, Massaro AN, Thoresen M, Gunn AJ. Should therapeutic hypothermia be offered to babies with mild neonatal encephalopathy in the first 6 h after birth? *Pediatr Res*. 2019 Mar;85(4):442–8.
50. Iwata O, Iwata S, Bainbridge A, De Vita E, Matsuishi T, Cady EB, et al. Supra- and sub-baseline phosphocreatine recovery in developing brain after transient hypoxia-ischaemia: relation to baseline energetics, insult severity and outcome. *Brain J Neurol*. 2008 Aug;131(Pt 8):2220–6.
51. Gunn AJ, Gunn TR, Haan HH de, Williams CE, Gluckman PD. Dramatic neuronal rescue with prolonged selective head cooling after ischemia in fetal lambs. *J Clin Invest*. 1997 Jan 15;99(2):248–56.
52. Bennet L, Roelfsema V, Pathipati P, Quaedackers JS, Gunn AJ. Relationship between evolving epileptiform activity and delayed loss of mitochondrial activity after asphyxia measured by near-infrared spectroscopy in preterm fetal sheep. *J Physiol*. 2006 Apr 1;572(Pt 1):141–54.
53. Jensen EC, Bennet L, Hunter CJ, Power GC, Gunn AJ. Post-hypoxic hypoperfusion is associated with suppression of cerebral metabolism and increased tissue oxygenation in near-term fetal sheep. *J Physiol*. 2006 Apr 1;572(Pt 1):131–9.

54. Gunn AJ, Laptook AR, Robertson NJ, Barks JD, Thoresen M, Wassink G, et al. Therapeutic hypothermia translates from ancient history in to practice. *Pediatr Res*. 2017 Jan;81(1–2):202–9.
55. Zhu C, Wang X, Xu F, Bahr BA, Shibata M, Uchiyama Y, et al. The influence of age on apoptotic and other mechanisms of cell death after cerebral hypoxia-ischemia. *Cell Death Differ*. 2005 Feb;12(2):162–76.
56. Mallard C, Davidson JO, Tan S, Green CR, Bennet L, Robertson NJ, et al. Astrocytes and microglia in acute cerebral injury underlying cerebral palsy associated with preterm birth. *Pediatr Res*. 2014 Jan;75(1–2):234–40.
57. Keogh MJ, Drury PP, Bennet L, Davidson JO, Mathai S, Gunn ER, et al. Limited predictive value of early changes in EEG spectral power for neural injury after asphyxia in preterm fetal sheep. *Pediatr Res*. 2012 Apr;71(1):345–53.
58. Davidson JO, Wassink G, Yuill CA, Zhang FG, Bennet L, Gunn AJ. How long is too long for cerebral cooling after ischemia in fetal sheep? *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. 2015 May;35(5):751–8.
59. de Vries LS, Groenendaal F. Patterns of neonatal hypoxic–ischaemic brain injury. *Neuroradiology*. 2010 Jun;52(6):555–66.
60. Laptook AR, Corbett RJ, Sterett R, Garcia D, Tollefsbol G. Quantitative relationship between brain temperature and energy utilization rate measured in vivo using ³¹P and ¹H magnetic resonance spectroscopy. *Pediatr Res*. 1995 Dec;38(6):919–25.
61. Nakashima K, Todd MM, Warner DS. The Relation between Cerebral Metabolic Rate and Ischemic Depolarization : A Comparison of the Effects of Hypothermia, Pentobarbital, and Isoflurane. *Anesthesiology*. 1995 May 1;82(5):1199–208.
62. Xu R-X, Nakamura T, Nagao S, Miyamoto O, Jin L, Toyoshima T, et al. Specific Inhibition of Apoptosis after Cold-induced Brain Injury by Moderate Postinjury Hypothermia. *Neurosurgery*. 1998 Jul 1;43(1):107–14.
63. Ooboshi H, Ibayashi S, Takano K, Sadoshima S, Kondo A, Uchimura H, et al. Hypothermia inhibits ischemia-induced efflux of amino acids and neuronal damage in the hippocampus of aged rats. *Brain Res*. 2000 Nov 24;884(1):23–30.
64. Tooley JR, Satas S, Porter H, Silver IA, Thoresen M. Head cooling with mild systemic hypothermia in anesthetized piglets is neuroprotective. *Ann Neurol*. 2003 Jan;53(1):65–72.
65. Roelfsema V, Bennet L, George S, Wu D, Guan J, Veerman M, et al. Window of opportunity of cerebral hypothermia for postischemic white matter injury in the near-term fetal sheep. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. 2004 Aug;24(8):877–86.

66. Baumann E, Preston E, Slinn J, Stanimirovic D. Post-ischemic hypothermia attenuates loss of the vascular basement membrane proteins, agrin and SPARC, and the blood–brain barrier disruption after global cerebral ischemia. *Brain Res.* 2009 May 7;1269:185–97.
67. Zhou KQ, Draghi V, Lear CA, Dean JM, Ashton JL, Hou Y, et al. Protection of axonal integrity with 48 or 72 h of cerebral hypothermia in near-term fetal sheep. *Pediatr Res.* 2020 Jul;88(1):48–56.
68. Dean JM, George SA, Wassink G, Gunn AJ, Bennet L. Suppression of post-hypoxic-ischemic EEG transients with dizocilpine is associated with partial striatal protection in the preterm fetal sheep. *Neuropharmacology.* 2006 Mar 1;50(4):491–503.
69. Bennet L, Dean JM, Wassink G, Gunn AJ. Differential effects of hypothermia on early and late epileptiform events after severe hypoxia in preterm fetal sheep. *J Neurophysiol.* 2007 Jan;97(1):572–8.
70. Srinivasakumar P, Zempel J, Wallendorf M, Lawrence R, Inder T, Mathur A. Therapeutic hypothermia in neonatal hypoxic ischemic encephalopathy: electrographic seizures and magnetic resonance imaging evidence of injury. *J Pediatr.* 2013 Aug;163(2):465–70.
71. Gunn AJ, Gunn TR, Gunning MI, Williams CE, Gluckman PD. Neuroprotection With Prolonged Head Cooling Started Before Postischemic Seizures in Fetal Sheep. *Pediatrics.* 1998 Nov 1;102(5):1098–106.
72. Gunn AJ, Bennet L, Gunning MI, Gluckman PD, Gunn TR. Cerebral hypothermia is not neuroprotective when started after postischemic seizures in fetal sheep. *Pediatr Res.* 1999 Sep;46(3):274–80.
73. Davidson JO, Yuill CA, Zhang FG, Wassink G, Bennet L, Gunn AJ. Extending the duration of hypothermia does not further improve white matter protection after ischemia in term-equivalent fetal sheep. *Sci Rep.* 2016 Apr 28;6(1):25178.
74. Azzopardi D, Brocklehurst P, Edwards D, Halliday H, Levene M, Thoresen M, et al. The TOBY Study. Whole body hypothermia for the treatment of perinatal asphyxial encephalopathy: a randomised controlled trial. *BMC Pediatr.* 2008 Apr 30;8:17.
75. Shankaran S, Pappas A, McDonald SA, Vohr BR, Hintz SR, Yolton K, et al. Childhood Outcomes after Hypothermia for Neonatal Encephalopathy. *N Engl J Med.* 2012 May 31;366(22):2085–92.
76. Jacobs SE, Berg M, Hunt R, Tarnow-Mordi WO, Inder TE, Davis PG. Cooling for newborns with hypoxic ischaemic encephalopathy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013 Jan 31;(1):CD003311.
77. Shankaran S, Laptook AR, Ehrenkranz RA, Tyson JE, McDonald SA, Donovan EF, et al. Whole-Body Hypothermia for Neonates with Hypoxic–Ischemic Encephalopathy. *N Engl J Med.* 2005 Oct 13;353(15):1574–84.

78. Azzopardi D, Strohm B, Marlow N, Brocklehurst P, Deierl A, Eddama O, et al. Effects of hypothermia for perinatal asphyxia on childhood outcomes. *N Engl J Med*. 2014 Jul 10;371(2):140–9.
79. Thoresen M, Tooley J, Liu X, Jary S, Fleming P, Luyt K, et al. Time is brain: starting therapeutic hypothermia within three hours after birth improves motor outcome in asphyxiated newborns. *Neonatology*. 2013;104(3):228–33.
80. Thoresen M, Whitelaw A. Cardiovascular changes during mild therapeutic hypothermia and rewarming in infants with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics*. 2000 Jul;106(1 Pt 1):92–9.
81. Gluckman PD, Wyatt JS, Azzopardi D, Ballard R, Edwards AD, Ferriero DM, et al. Selective head cooling with mild systemic hypothermia after neonatal encephalopathy: multicentre randomised trial. *The Lancet*. 2005 Feb 19;365(9460):663–70.
82. Saliba E, Debillon T. Neuroprotection par hypothermie contrôlée dans l'encéphalopathie hypoxique-ischémique du nouveau-né à terme. /data/revues/0929693X/v17sS3/S0929693X10709040/ [Internet]. 2010 Aug 21 [cited 2019 Apr 6]; Available from: <https://www.em-consulte.com/en/article/263302>
83. Bednarek N, Loron G, Venot P. [Perinatal neuroprotection in 2015]. *Arch Pediatr Organe Off Soc Francaise Pediatr*. 2015 Oct;22(10):1005–7.
84. Chevallier M, Ego A, Cans C, Debillon T, French Society of Neonatology. Adherence to hypothermia guidelines: a French multicenter study of fullterm neonates. *PloS One*. 2013;8(12):e83742.
85. Tian N, Zhang W. A Comprehensive Evaluation of the Predictive Abilities of Fetal Electrocardiogram-Derived Parameters during Labor in Newborn Acidemia: Our Institutional Experience. *BioMed Res Int*. 2018 May 17;2018:3478925.
86. Nelson KB, Dambrosia JM, Ting TY, Grether JK. Uncertain value of electronic fetal monitoring in predicting cerebral palsy. *N Engl J Med*. 1996 Mar 7;334(10):613–8.
87. GRAHAM EM, ADAMI RR, MCKENNEY SL, JENNINGS JM, BURD I, WITTER FR. Diagnostic Accuracy of Fetal Heart Rate Monitoring in the Identification of Neonatal Encephalopathy. *Obstet Gynecol*. 2014 Sep;124(3):507–13.
88. Murray DM, O'Riordan MN, Horgan R, Boylan G, Higgins JR, Ryan CA. Fetal heart rate patterns in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy: relationship with early cerebral activity and neurodevelopmental outcome. *Am J Perinatol*. 2009 Sep;26(8):605–12.
89. Ruth VJ, Raivio KO. Perinatal brain damage: predictive value of metabolic acidosis and the Apgar score. *Br Med J*. 1988 Jul 2;297(6640):24–7.

90. Low JA, Lindsay BG, Derrick EJ. Threshold of metabolic acidosis associated with newborn complications. *Am J Obstet Gynecol*. 1997 Dec;177(6):1391–4.
91. King TA, Jackson GL, Josey AS, Vedro DA, Hawkins H, Burton KM, et al. The effect of profound umbilical artery acidemia in term neonates admitted to a newborn nursery. *J Pediatr*. 1998 Apr 1;132(4):624–9.
92. Casey BM, McIntire DD, Leveno KJ. The Continuing Value of the Apgar Score for the Assessment of Newborn Infants. *N Engl J Med*. 2001 Feb 15;344(7):467–71.
93. Murray DM, Boylan GB, Fitzgerald AP, Ryan CA, Murphy BP, Connolly S. Persistent lactic acidosis in neonatal hypoxic–ischaemic encephalopathy correlates with EEG grade and electrographic seizure burden. *Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed*. 2008 May 1;93(3):F183–6.
94. Tokuhisa T, Ibara S, Minakami H, Maede Y, Ishihara C, Matsui T. Outcome of infants with hypoxic ischemic encephalopathy treated with brain hypothermia. *J Obstet Gynaecol Res*. 2015;41(2):229–37.
95. Ross MG. Threshold of metabolic acidosis associated with newborn cerebral palsy: medical legal implications. *Am J Obstet Gynecol*. 2019 Apr;220(4):348–53.
96. Peeples ES, Rao R, Dizon MLV, Johnson YR, Joe P, Flibotte J, et al. Predictive Models of Neurodevelopmental Outcomes After Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy. *Pediatrics*. 2021 Feb;147(2).
97. Perlman JM, Risser R. Severe fetal acidemia: Neonatal neurologic features and short-term outcome. *Pediatr Neurol*. 1993 Jul 1;9(4):277–82.
98. Apgar V. A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant. *Curr Res Anesth Analg*. 1953 Aug;32(4):260–7.
99. Moster D, Lie RT, Irgens LM, Bjerkedal T, Markestad T. The association of Apgar score with subsequent death and cerebral palsy: A population-based study in term infants. *J Pediatr*. 2001 Jun;138(6):798–803.
100. Laptook AR, Shankaran S, Ambalavanan N, Carlo WA, McDonald SA, Higgins RD, et al. Outcome of term infants using apgar scores at 10 minutes following hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics*. 2009 Dec;124(6):1619.
101. Ehrenstein V. Association of Apgar scores with death and neurologic disability. *Clin Epidemiol*. 2009 Aug 9;1:45–53.
102. Natarajan G, Shankaran S, Laptook AR, Pappas A, Bann CM, McDonald SA, et al. Apgar scores at 10 min and outcomes at 6-7 years following hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2013 Nov;98(6):F473-479.
103. Sarnat HB, Sarnat MS. Neonatal encephalopathy following fetal distress. A clinical and electroencephalographic study. *Arch Neurol*. 1976 Oct;33(10):696–705.

104. Leviton A, Nelson KB. Problems with definitions and classifications of newborn encephalopathy. *Pediatr Neurol*. 1992 Apr;8(2):85–90.
105. Thompson CM, Puterman AS, Linley LL, Hann FM, van der Elst CW, Molteno CD, et al. The value of a scoring system for hypoxic ischaemic encephalopathy in predicting neurodevelopmental outcome. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. 1997 Jul;86(7):757–61.
106. Walsh BH, Neil J, Morey J, Yang E, Silvera MV, Inder TE, et al. The Frequency and Severity of Magnetic Resonance Imaging Abnormalities in Infants with Mild Neonatal Encephalopathy. *J Pediatr*. 2017 Aug;187:26-33.e1.
107. DuPont TL, Chalak LF, Morriss MC, Burchfield PJ, Christie L, Sánchez PJ. Short-Term Outcomes of Newborns with Perinatal Acidemia Who are Not Eligible for Systemic Hypothermia Therapy. *J Pediatr*. 2013 Jan 1;162(1):35–41.
108. Lamblin M-D, Walls Esquivel E, André M. The electroencephalogram of the full-term newborn: review of normal features and hypoxic-ischemic encephalopathy patterns. *Neurophysiol Clin Clin Neurophysiol*. 2013 Dec;43(5–6):267–87.
109. Boylan GB, Kharoshankaya L, Mathieson SR. Diagnosis of seizures and encephalopathy using conventional EEG and amplitude integrated EEG. *Handb Clin Neurol*. 2019;162:363–400.
110. Bourel-Ponchel E, Gueden S, Hasaerts D, Héberlé C, Malfilâtre G, Mony L, et al. Normal EEG during the neonatal period: maturational aspects from premature to full-term newborns. *Neurophysiol Clin Clin Neurophysiol*. 2021 Jan;51(1):61–88.
111. Boylan GB, Murray DM, Rennie JM. The normal EEG and aEEG. In: *Neonatal Cerebral Investigation* [Internet]. 2008 [cited 2018 Feb 10]. p. 83–91. Available from: <http://discovery.ucl.ac.uk/1495196/>
112. Murray DM, Boylan GB, Ryan CA, Connolly S. Early EEG findings in hypoxic-ischemic encephalopathy predict outcomes at 2 years. *Pediatrics*. 2009 Sep;124(3):e459-467.
113. Walsh BH, Murray DM, Boylan GB. The use of conventional EEG for the assessment of hypoxic ischaemic encephalopathy in the newborn: a review. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2011 Jul;122(7):1284–94.
114. Leroy-Terquem E, Vermersch AI, Dean P, Assaf Z, Boddaert N, Lapillonne A, et al. Abnormal Interhemispheric Synchrony in Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy: A Retrospective Pilot Study. *Neonatology*. 2017;112(4):359–64.
115. Scavone C, Radvanyi-Bouvet MF, Morel-Kahn F, Dreyfus-Brisac C. Coma apres souffrance foetale aigue chez le nouveau-ne a terme: Evolution electro-clinique. *Rev Electroencéphalographie Neurophysiol Clin*. 1985 Dec 1;15(3):279–88.
116. Pezzani C, Radvanyi-Bouvet MF, Relier JP, Monod N. Neonatal electroencephalography during the first twenty-four hours of life in full-term newborn infants. *Neuropediatrics*. 1986 Feb;17(1):11–8.

117. Lamblin M, Racoussot S, Pierrat V, Duquennoy C, Ouahsine T, Lequien P, et al. Encéphalopathie anoxo-ischémique du nouveau-né à terme. Apport de l'électroencéphalogramme et de l'échographie transfontanellaire à l'évaluation pronostique. À propos de 29 observations. *Neurophysiol Clin Neurophysiol*. 1996 Jan 1;26(6):369–78.
118. Pressler RM, Boylan GB, Morton M, Binnie CD, Rennie JM. Early serial EEG in hypoxic ischaemic encephalopathy. *Clin Neurophysiol*. 2001 Jan 1;112(1):31–7.
119. Nash KB, Bonifacio SL, Glass HC, Sullivan JE, Barkovich AJ, Ferriero DM, et al. Video-EEG monitoring in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy treated with hypothermia. *Neurology*. 2011 Feb 8;76(6):556–62.
120. Hamelin S, Delnard N, Cneude F, Debillon T, Vercueil L. Influence of hypothermia on the prognostic value of early EEG in full-term neonates with hypoxic ischemic encephalopathy. /data/revues/09877053/v41i1/S0987705310001097/ [Internet]. 2011 Feb 10 [cited 2020 May 13]; Available from: <https://www.em-consulte.com/en/article/281025>
121. De Haan HH, Gunn AJ, Williams CE, Gluckman PD. Brief Repeated Umbilical Cord Occlusions Cause Sustained Cytotoxic Cerebral Edema and Focal Infarcts in Near-Term Fetal Lambs. *Pediatr Res*. 1997 Jan;41(1):96–104.
122. Fraser M, Bennet L, Gunning M, Williams C, Gluckman PD, George S, et al. Cortical electroencephalogram suppression is associated with post-ischemic cortical injury in 0.65 gestation fetal sheep. *Dev Brain Res*. 2005 Jan 1;154(1):45–55.
123. Bednarek N, Delebarre G, Saad S, Loron G, Mezguiche F, Morville P. L'EEG d'amplitude : description, applications, avantages et inconvénients. *Arch Pédiatrie*. 2008 Aug 1;15(8):1326–31.
124. Hellström-Westas L. Monitoring brain function with aEEG in term asphyxiated infants before and during cooling. *Acta Paediatr Oslo Nor 1992*. 2013 Jul;102(7):678–9.
125. Shellhaas RA, Gallagher PR, Clancy RR. Assessment of neonatal electroencephalography (EEG) background by conventional and two amplitude-integrated EEG classification systems. *J Pediatr*. 2008 Sep;153(3):369–74.
126. al Naqeeb N, Edwards AD, Cowan FM, Azzopardi D. Assessment of neonatal encephalopathy by amplitude-integrated electroencephalography. *Pediatrics*. 1999 Jun;103(6 Pt 1):1263–71.
127. Hellström-Westas L, Rosén I, Vries LS de, Greisen G. Amplitude-integrated EEG Classification and Interpretation in Preterm and Term Infants. *NeoReviews*. 2006 Feb 1;7(2):e76–87.
128. Toet MC, van der Meij W, de Vries LS, Uiterwaal CSPM, van Huffelen KC. Comparison between simultaneously recorded amplitude integrated electroencephalogram

- (cerebral function monitor) and standard electroencephalogram in neonates. *Pediatrics*. 2002 May;109(5):772–9.
129. Hellström-Westas L, Rosén I, Svenningsen NW. Predictive value of early continuous amplitude integrated EEG recordings on outcome after severe birth asphyxia in full term infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1995 Jan;72(1):F34-38.
 130. Toet M, Hellstrom-Westas L, Groenendaal F, Eken P, de Vries LS. Amplitude integrated EEG 3 and 6 hours after birth in full term neonates with hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1999 Jul;81(1):F19–23.
 131. Chandrasekaran M, Chaban B, Montaldo P, Thayyil S. Predictive value of amplitude-integrated EEG (aEEG) after rescue hypothermic neuroprotection for hypoxic ischemic encephalopathy: a meta-analysis. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc*. 2017;37(6):684–9.
 132. Rennie JM, Chorley G, Boylan GB, Pressler R, Nguyen Y, Hooper R. Non-expert use of the cerebral function monitor for neonatal seizure detection. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2004 Jan;89(1):F37-40.
 133. Hellström-Westas L, Rosén I, Vries LS de, Greisen G. Amplitude-integrated EEG Classification and Interpretation in Preterm and Term Infants. *NeoReviews*. 2006 Feb 1;7(2):e76–87.
 134. Bernet V, Latal B, Natalucci G, Doell C, Ziegler A, Wohlrab G. Effect of Sedation and Analgesia on Postoperative Amplitude-Integrated EEG in Newborn Cardiac Patients. *Pediatr Res*. 2010 Jun;67(6):650–5.
 135. Evans E, Koh S, Lerner J, Sankar R, Garg M. Accuracy of amplitude integrated EEG in a neonatal cohort. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2010 May;95(3):F169-173.
 136. Hallberg B, Grossmann K, Bartocci M, Blennow M. The prognostic value of early aEEG in asphyxiated infants undergoing systemic hypothermia treatment. *Acta Paediatr Oslo Nor 1992*. 2010 Apr;99(4):531–6.
 137. Thoresen M, Hellström-Westas L, Liu X, de Vries LS. Effect of hypothermia on amplitude-integrated electroencephalogram in infants with asphyxia. *Pediatrics*. 2010 Jul;126(1):e131-139.
 138. Rakshasbhuvankar A, Paul S, Nagarajan L, Ghosh S, Rao S. Amplitude-integrated EEG for detection of neonatal seizures: a systematic review. *Seizure*. 2015 Dec;33:90–8.
 139. Shah NA, Van Meurs KP, Davis AS. Amplitude-integrated electroencephalography: a survey of practices in the United States. *Am J Perinatol*. 2015 Jul;32(8):755–60.
 140. Ramaswamy V, Horton J, Vandermeer B, Buscemi N, Miller S, Yager J. Systematic review of biomarkers of brain injury in term neonatal encephalopathy. *Pediatr Neurol*. 2009 Mar;40(3):215–26.

141. Bennet L, Booth L, Gunn AJ. Potential biomarkers for hypoxic-ischemic encephalopathy. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2010 Oct;15(5):253–60.
142. Satriano A, Pluchinotta F, Gazzolo F, Serpero L, Gazzolo D. The potentials and limitations of neuro-biomarkers as predictors of outcome in neonates with birth asphyxia. *Early Hum Dev.* 2017 Feb 1;105:63–7.
143. O’Boyle DS, Dunn WB, O’Neill D, Kirwan JA, Broadhurst DI, Hallberg B, et al. Improvement in the Prediction of Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy with the Integration of Umbilical Cord Metabolites and Current Clinical Makers. *J Pediatr.* 2021 Feb;229:175-181.e1.
144. Ruhfus M, Giannakis S, Markus M, Stein A, Hoehn T, Felderhoff-Mueser U, et al. Association of Routinely Measured Proinflammatory Biomarkers With Abnormal MRI Findings in Asphyxiated Neonates Undergoing Therapeutic Hypothermia. *Front Pediatr.* 2021;9:624652.
145. Liu J, Cao H-Y, Huang X-H, Wang Q. The pattern and early diagnostic value of Doppler ultrasound for neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Trop Pediatr.* 2007 Oct;53(5):351–4.
146. Vasiljević B, Maglajlić-Djukić S, Stanković S, Lutovacs D, Gojnić M. [Predictive value of color Doppler neuro-sonography for the development of neurological sequels in newborn infants with hypoxic ischemic encephalopathy]. *Vojnosanit Pregl.* 2011 Oct;68(10):825–31.
147. Elstad M, Whitelaw A, Thoresen M. Cerebral Resistance Index is less predictive in hypothermic encephalopathic newborns. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. 2011 Oct;100(10):1344–9.
148. Natique KR, Das Y, Maxey MN, Sepulveda P, Brown LS, Chalak LF. Early Use of Transcranial Doppler Ultrasonography to Stratify Neonatal Encephalopathy. *Pediatr Neurol.* 2021 Nov 1;124:33–9.
149. Dean JM, Gunn AJ, Wassink G, George S, Bennet L. Endogenous alpha2-adrenergic receptor-mediated neuroprotection after severe hypoxia in preterm fetal sheep. *Neuroscience.* 2006 Oct 27;142(3):615–28.
150. Keogh MJ, Bennet L, Drury PP, Booth LC, Mathai S, Naylor AS, et al. Subclinical exposure to low-dose endotoxin impairs EEG maturation in preterm fetal sheep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2012 Aug 1;303(3):R270-278.
151. Pressler RM, Boylan GB, Morton M, Binnie CD, Rennie JM. Early serial EEG in hypoxic ischaemic encephalopathy. *Clin Neurophysiol.* 2001 Jan 1;112(1):31–7.
152. Murray DM, Boylan GB, Ryan CA, Connolly S. Early EEG findings in hypoxic-ischemic encephalopathy predict outcomes at 2 years. *Pediatrics.* 2009 Sep;124(3):e459-467.

153. Hamelin S, Delnard N, Cneude F, Debillon T, Vercueil L. Influence of hypothermia on the prognostic value of early EEG in full-term neonates with hypoxic ischemic encephalopathy. *Neurophysiol Clin Clin Neurophysiol*. 2011 Feb;41(1):19–27.
154. Tsuchida TN. EEG background patterns and prognostication of neonatal encephalopathy in the era of hypothermia. *J Clin Neurophysiol Off Publ Am Electroencephalogr Soc*. 2013 Apr;30(2):122–5.
155. Awal MA, Lai MM, Azemi G, Boashash B, Colditz PB. EEG background features that predict outcome in term neonates with hypoxic ischaemic encephalopathy: A structured review. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2016 Jan;127(1):285–96.
156. Weeke LC, Boylan GB, Pressler RM, Hallberg B, Blennow M, Toet MC, et al. Role of EEG background activity, seizure burden and MRI in predicting neurodevelopmental outcome in full-term infants with hypoxic-ischaemic encephalopathy in the era of therapeutic hypothermia. *Eur J Paediatr Neurol EJPJN Off J Eur Paediatr Neurol Soc*. 2016 Nov;20(6):855–64.
157. De Wispelaere LA, Ouwehand S, Olsthoorn M, Govaert P, Smit LS, de Jonge RC, et al. Electroencephalography and brain magnetic resonance imaging in asphyxia comparing cooled and non-cooled infants. *Eur J Paediatr Neurol EJPJN Off J Eur Paediatr Neurol Soc*. 2019 Jan;23(1):181–90.
158. Thoresen M, Hellström-Westas L, Liu X, de Vries LS. Effect of hypothermia on amplitude-integrated electroencephalogram in infants with asphyxia. *Pediatrics*. 2010 Jul;126(1):e131-139.
159. Csekő AJ, Bangó M, Lakatos P, Kárdási J, Pusztai L, Szabó M. Accuracy of amplitude-integrated electroencephalography in the prediction of neurodevelopmental outcome in asphyxiated infants receiving hypothermia treatment. *Acta Paediatr Oslo Nor 1992*. 2013 Jul;102(7):707–11.
160. Del Río R, Ochoa C, Alarcon A, Arnáez J, Blanco D, García-Alix A. Amplitude Integrated Electroencephalogram as a Prognostic Tool in Neonates with Hypoxic-Ischemic Encephalopathy: A Systematic Review. *PloS One*. 2016;11(11):e0165744.
161. Sewell EK, Vezina G, Chang T, Tsuchida T, Harris K, Ridore M, et al. Evolution of Amplitude-Integrated Electroencephalogram as a Predictor of Outcome in Term Encephalopathic Neonates Receiving Therapeutic Hypothermia. *Am J Perinatol*. 2018 Feb;35(3):277–85.
162. Garfinkle J, Sant'Anna GM, Rosenblatt B, Majnemer A, Wintermark P, Shevell MI. Somatosensory evoked potentials in neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy treated with hypothermia. *Eur J Paediatr Neurol EJPJN Off J Eur Paediatr Neurol Soc*. 2015 Jul;19(4):423–8.

163. Nevalainen P, Lauronen L, Metsäranta M, Lönnqvist T, Ahtola E, Vanhatalo S. Neonatal somatosensory evoked potentials persist during hypothermia. *Acta Paediatr.* 2017;106(6):912–7.
164. Cainelli E, Trevisanuto D, Cavallin F, Manara R, Suppiej A. Evoked potentials predict psychomotor development in neonates with normal MRI after hypothermia for hypoxic-ischemic encephalopathy. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol.* 2018;129(6):1300–6.
165. Kamino D, Almazrooei A, Pang EW, Widjaja E, Moore AM, Chau V, et al. Abnormalities in evoked potentials associated with abnormal glycemia and brain injury in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol.* 2021 Jan;132(1):307–13.
166. Rutherford MA, Pennock JM, Counsell SJ, Mercuri E, Cowan FM, Dubowitz LMS, et al. Abnormal Magnetic Resonance Signal in the Internal Capsule Predicts Poor Neurodevelopmental Outcome in Infants With Hypoxic-Ischemic Encephalopathy. *Pediatrics.* 1998 Aug 1;102(2):323–8.
167. Li J, Funato M, Tamai H, Wada H, Nishihara M, Iwamoto H, et al. Predictors of neurological outcome in cooled neonates. *Pediatr Int.* 2013;55(2):169–76.
168. Jain SV, Zempel JM, Srinivasakumar P, Wallendorf M, Mathur A. Early EEG power predicts MRI injury in infants with hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Perinatol Off J Calif Perinat Assoc.* 2017;37(5):541–6.
169. McDonough TL, Paolicchi JM, Heier LA, Das N, Engel M, Perlman JM, et al. Prediction of Future Epilepsy in Neonates With Hypoxic-Ischemic Encephalopathy Who Received Selective Head Cooling. *J Child Neurol.* 2017;32(7):630–7.
170. Nevalainen P, Metsäranta M, Toiviainen-Salo S, Marchi V, Mikkonen K, Vanhatalo S, et al. Neonatal neuroimaging and neurophysiology predict infantile onset epilepsy after perinatal hypoxic ischemic encephalopathy. *Seizure.* 2020 Aug;80:249–56.
171. Ouwehand S, Smidt LCA, Dudink J, Benders MJNL, de Vries LS, Groenendaal F, et al. Predictors of Outcomes in Hypoxic-Ischemic Encephalopathy following Hypothermia: A Meta-Analysis. *Neonatology.* 2020;117(4):411–27.
172. Thoresen M, Jary S, Walløe L, Karlsson M, Martinez-Biarge M, Chakkarapani E, et al. MRI combined with early clinical variables are excellent outcome predictors for newborn infants undergoing therapeutic hypothermia after perinatal asphyxia. *EClinicalMedicine.* 2021 Jun;36:100885.
173. Thayyil S, Chandrasekaran M, Taylor A, Bainbridge A, Cady EB, Chong WKK, et al. Cerebral Magnetic Resonance Biomarkers in Neonatal Encephalopathy: A Meta-analysis. *Pediatrics.* 2010 Feb 1;125(2):e382–95.

174. Roelants-Van Rijn AM, van der Grond J, de Vries LS, Groenendaal F. Value of 1H-MRS Using Different Echo Times in Neonates with Cerebral Hypoxia-Ischemia. *Pediatr Res.* 2001 Mar;49(3):356–62.
175. Vergales BD, Zanelli SA, Matsumoto JA, Goodkin HP, Lake DE, Moorman JR, et al. Depressed heart rate variability is associated with abnormal EEG, MRI, and death in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy. *Am J Perinatol.* 2014 Nov;31(10):855–62.
176. Goulding RM, Stevenson NJ, Murray DM, Livingstone V, Filan PM, Boylan GB. Heart rate variability in hypoxic ischemic encephalopathy during therapeutic hypothermia. *Pediatr Res.* 2017 Apr;81(4):609–15.
177. Metzler M, Govindan R, Al-Shargabi T, Vezina G, Andescavage N, Wang Y, et al. Pattern of brain injury and depressed heart rate variability in newborns with hypoxic ischemic encephalopathy. *Pediatr Res.* 2017 Sep;82(3):438–43.
178. Bell AH, McClure BG, Hicks EM. Power spectral analysis of the EEG of term infants following birth asphyxia. *Dev Med Child Neurol.* 1990 Nov;32(11):990–8.
179. Victor S, Appleton RE, Beirne M, Marson AG, Weindling AM. Spectral analysis of electroencephalography in premature newborn infants: normal ranges. *Pediatr Res.* 2005 Mar;57(3):336–41.
180. Wikström S, Ley D, Hansen-Pupp I, Rosén I, Hellström-Westas L. Early amplitude-integrated EEG correlates with cord TNF-alpha and brain injury in very preterm infants. *Acta Paediatr Oslo Nor 1992.* 2008 Jul;97(7):915–9.
181. Niemarkt HJ, Andriessen P, Peters CHL, Pasma JW, Zimmermann LJ, Bambang Oetomo S. Quantitative analysis of maturational changes in EEG background activity in very preterm infants with a normal neurodevelopment at 1 year of age. *Early Hum Dev.* 2010 Apr;86(4):219–24.
182. Middel RG, Brandenburg N, Van Braeckel KNJA, Bos AF, Ter Horst HJ. The Predictive Value of Amplitude-Integrated Electroencephalography in Preterm Infants for IQ and Other Neuropsychological Outcomes at Early School Age. *Neonatology.* 2018;113(4):287–95.
183. Burger C, Biermayr M, Posod A, Neubauer V, Pupp Peglow U, Kuenz K, et al. Amplitude-integrated electroencephalography shows alterations in children born preterm displaying poor literacy precursor skills. *Acta Paediatr Oslo Nor 1992.* 2019 Sep;108(9):1661–8.
184. Bell AH, McClure BG, McCullagh PJ, McClelland RJ. Spectral Edge Frequency of the EEG in Healthy Neonates and Variation with Behavioural State. *Neonatology.* 1991;60(2):69–74.

185. Inder TE, Buckland L, Williams CE, Spencer C, Gunning MI, Darlow BA, et al. Lowered electroencephalographic spectral edge frequency predicts the presence of cerebral white matter injury in premature infants. *Pediatrics*. 2003 Jan;111(1):27–33.
186. West CR, Harding JE, Williams CE, Gunning MI, Battin MR. Quantitative electroencephalographic patterns in normal preterm infants over the first week after birth. *Early Hum Dev*. 2006 Jan 1;82(1):43–51.
187. Pezzani C, Radvanyi-Bouvet MF, Relier JP, Monod N. Neonatal electroencephalography during the first twenty-four hours of life in full-term newborn infants. *Neuropediatrics*. 1986 Feb;17(1):11–8.
188. Biagioni E, Bartalena L, Boldrini A, Pieri R, Cioni G. Constantly discontinuous EEG patterns in full-term neonates with hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 1999 Sep;110(9):1510–5.
189. Menache CC, Bourgeois BFD, Volpe JJ. Prognostic value of neonatal discontinuous EEG. *Pediatr Neurol*. 2002 Aug 1;27(2):93–101.
190. Iyer KK, Roberts JA, Metsäranta M, Finnigan S, Breakspear M, Vanhatalo S. Novel features of early burst suppression predict outcome after birth asphyxia. *Ann Clin Transl Neurol*. 2014;1(3):209–14.
191. Flisberg A, Kjellmer I, Löfhede J, Lindecrantz K, Thordstein M. Prognostic capacity of automated quantification of suppression time in the EEG of post-asphyctic full-term neonates. *Acta Paediatr Oslo Nor 1992*. 2011 Oct;100(10):1338–43.
192. Matic V, Cherian PJ, Jansen K, Koolen N, Naulaers G, Swarte RM, et al. Automated EEG inter-burst interval detection in neonates with mild to moderate postasphyxial encephalopathy. In: 2012 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. 2012. p. 17–20.
193. Matic V, Cherian PJ, Jansen K, Koolen N, Naulaers G, Swarte RM, et al. Improving Reliability of Monitoring Background EEG Dynamics in Asphyxiated Infants. *IEEE Trans Biomed Eng*. 2016;63(5):973–83.
194. Koolen N, Jansen K, Vervisch J, Matic V, De Vos M, Naulaers G, et al. Line length as a robust method to detect high-activity events: automated burst detection in premature EEG recordings. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2014 Oct;125(10):1985–94.
195. Dunne JM, Wertheim D, Clarke P, Kapellou O, Chisholm P, Boardman JP, et al. Automated electroencephalographic discontinuity in cooled newborns predicts cerebral MRI and neurodevelopmental outcome. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2017 Jan;102(1):F58–64.
196. Dereymaeker A, Matic V, Vervisch J, Cherian PJ, Ansari AH, De Wel O, et al. Automated EEG background analysis to identify neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy

- treated with hypothermia at risk for adverse outcome: A pilot study. *Pediatr Neonatol*. 2019;60(1):50–8.
197. Raurale SA, Nalband S, Boylan GB, Lightbody G, O’Toole JM. Suitability of an inter-burst detection method for grading hypoxic-ischemic encephalopathy in newborn EEG. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc IEEE Eng Med Biol Soc Annu Int Conf*. 2019 Jul;2019:4125–8.
 198. Kamitaki BK, Tu B, Wong S, Mendiratta A, Choi H. Quantitative EEG Changes Correlate With Post-Clamp Ischemia During Carotid Endarterectomy. *J Clin Neurophysiol Off Publ Am Electroencephalogr Soc*. 2020 Feb 10;
 199. Doyle OM, Greene BR, Murray DM, Marnane L, Lightbody G, Boylan GB. The effect of frequency band on quantitative EEG measures in neonates with hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Conf Proc Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc IEEE Eng Med Biol Soc Annu Int Conf*. 2007;2007:717–21.
 200. Wong FY, Barfield CP, Walker AM. Power spectral analysis of two-channel EEG in hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Early Hum Dev*. 2007 Jun;83(6):379–83.
 201. Korotchikova I, Stevenson NJ, Walsh BH, Murray DM, Boylan GB. Quantitative EEG analysis in neonatal hypoxic ischaemic encephalopathy. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2011 Aug;122(8):1671–8.
 202. Stevenson NJ, Korotchikova I, Temko A, Lightbody G, Marnane WP, Boylan GB. An automated system for grading EEG abnormality in term neonates with hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Ann Biomed Eng*. 2013 Apr;41(4):775–85.
 203. Matic V, Cherian PJ, Koolen N, Naulaers G, Swarte RM, Govaert P, et al. Holistic approach for automated background EEG assessment in asphyxiated full-term infants. *J Neural Eng*. 2014 Dec;11(6):066007.
 204. Temko A, Doyle O, Murray D, Lightbody G, Boylan G, Marnane W. Multimodal predictor of neurodevelopmental outcome in newborns with hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Comput Biol Med*. 2015 Aug;63:169–77.
 205. Ahmed R, Temko A, Marnane W, Lightbody G, Boylan G. Grading hypoxic-ischemic encephalopathy severity in neonatal EEG using GMM supervectors and the support vector machine. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2016 Jan;127(1):297–309.
 206. Guo J, Cheng X, Wu D. Grading Method for Hypoxic-Ischemic Encephalopathy Based on Neonatal EEG. *Comput Model Eng Sci*. 2020 Jan 1;122:721–41.
 207. Moghadam SM, Pinchefsky E, Tse I, Marchi V, Kohonen J, Kauppila M, et al. Building an Open Source Classifier for the Neonatal EEG Background: A Systematic Feature-Based Approach From Expert Scoring to Clinical Visualization. *Front Hum Neurosci*. 2021 May 31;15:675154.

208. Raurale SA, Boylan GB, Mathieson S, Marnane WP, Lightbody G, O'Toole JM. Grading hypoxic-ischemic encephalopathy in neonatal EEG with convolutional neural networks and quadratic time-frequency distributions. *J Neural Eng.* 2021 Feb 22;
209. Azzopardi DV, Strohm B, Edwards AD, Dyet L, Halliday HL, Juszczak E, et al. Moderate hypothermia to treat perinatal asphyxial encephalopathy. *N Engl J Med.* 2009 Oct 1;361(14):1349–58.
210. Sarnat HB, Sarnat MS. Neonatal encephalopathy following fetal distress. A clinical and electroencephalographic study. *Arch Neurol.* 1976 Oct;33(10):696–705.
211. Clancy RR, Legido A. The Exact Ictal and Interictal Duration of Electroencephalographic Neonatal Seizures. *Epilepsia.* 1987;28(5):537–41.
212. Lacan L, Betrouni N, Lamblin M-D, Chaton L, Delval A, Bourriez J-L, et al. Quantitative approach to early neonatal EEG visual analysis in hypoxic-ischemic encephalopathy severity: Bridging the gap between eyes and machine. *Neurophysiol Clin [Internet].* 2021 Jan 2 [cited 2021 Jan 18]; Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0987705320301477>
213. al Naqeeb N, Edwards AD, Cowan FM, Azzopardi D. Assessment of neonatal encephalopathy by amplitude-integrated electroencephalography. *Pediatrics.* 1999 Jun;103(6 Pt 1):1263–71.
214. Marics G, Csekő A, Vásárhelyi B, Zakariás D, Schuster G, Szabó M. Prevalence and etiology of false normal aEEG recordings in neonatal hypoxic-ischaemic encephalopathy. *BMC Pediatr.* 2013 Nov 22;13:194.
215. Hagmann CF, Robertson NJ, Azzopardi D. Artifacts on Electroencephalograms May Influence the Amplitude-Integrated EEG Classification: A Qualitative Analysis in Neonatal Encephalopathy. *Pediatrics.* 2006 Dec 1;118(6):2552–4.
216. Rakshasbhuvankar A, Rao S, Palumbo L, Ghosh S, Nagarajan L. Amplitude Integrated Electroencephalography Compared With Conventional Video EEG for Neonatal Seizure Detection: A Diagnostic Accuracy Study. *J Child Neurol.* 2017 Aug;32(9):815–22.
217. Quigg M, Leiner D. Engineering aspects of the quantified amplitude-integrated electroencephalogram in neonatal cerebral monitoring. *J Clin Neurophysiol Off Publ Am Electroencephalogr Soc.* 2009 Jun;26(3):145–9.
218. Govindan RB, Massaro A, Vezina G, Tsuchida T, Cristante C, du Plessis A. Does relative or absolute EEG power have prognostic value in HIE setting? *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol.* 2017;128(1):14–5.
219. Zhang Q, Hu Y, Dong X, Feng X. Clinical significance of electroencephalography power spectrum density and functional connection analysis in neonates with hypoxicischemic encephalopathy. *Int J Dev Neurosci Off J Int Soc Dev Neurosci.* 2020 Dec 23;

220. Thordstein M, Flisberg A, Löfgren N, Bågenholm R, Lindecrantz K, Wallin BG, et al. Spectral analysis of burst periods in EEG from healthy and post-asphyctic full-term neonates. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2004 Nov;115(11):2461–6.
221. Connor CW. A Forensic Disassembly of the BIS Monitor. *Anesth Analg*. 2020 Dec;131(6):1923–33.
222. Pulgar VM, Zhang J, Massmann GA, Figueroa JP. Mild chronic hypoxia modifies the fetal sheep neural and cardiovascular responses to repeated umbilical cord occlusion. *Brain Res*. 2007 Oct 24;1176:18–26.
223. Lee SJ, Hatran DP, Tomimatsu T, Peña JP, McAuley G, Longo LD. Fetal cerebral blood flow, electrocorticographic activity, and oxygenation: responses to acute hypoxia. *J Physiol*. 2009;587(9):2033–47.
224. Frasch MG, Durosier LD, Gold N, Cao M, Matuszewski B, Keenliside L, et al. Adaptive shut-down of EEG activity predicts critical acidemia in the near-term ovine fetus. *Physiol Rep*. 2015 Jul;3(7).
225. Thaler I, Boldes R, Timor-Tritsch I. Real-time spectral analysis of the fetal EEG: a new approach to monitoring sleep states and fetal condition during labor. *Pediatr Res*. 2000 Sep;48(3):340–5.
226. Wassink G, Bennet L, Davidson JO, Westgate JA, Gunn AJ. Pre-existing hypoxia is associated with greater EEG suppression and early onset of evolving seizure activity during brief repeated asphyxia in near-term fetal sheep. *PLoS One*. 2013;8(8):e73895.
227. Wang X, Durosier LD, Ross MG, Richardson BS, Frasch MG. Online detection of fetal acidemia during labour by testing synchronization of EEG and heart rate: a prospective study in fetal sheep. *PLoS One* 9:e108119. 2014.
228. Lombroso CT. Remarks on the EEG and movement disorder in SSPE. *Neurology*. 1968 Jan;18(1 Pt 2):69–75.
229. Sinclair DB, Campbell M, Byrne P, Prasertsom W, Robertson CM. EEG and long-term outcome of term infants with neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 1999 Apr;110(4):655–9.
230. Les SVM, Support Vector Machine [Internet]. *Analytics & Insights*. 2019 [cited 2021 Jul 15]. Available from: <https://analyticsinsights.io/les-svm-support-vector-machine/>
231. Doyle OM, Temko A, Murray DM, Lightbody G, Marnane W, Boylan GB. Predicting the neurodevelopmental outcome in newborns with hypoxic-ischaemic injury. *Conf Proc Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc IEEE Eng Med Biol Soc Annu Conf*. 2010;2010:1370–3.

232. Ahmed R, Temko A, Marnane W, Boylan G, Lightbody G. Grading brain injury in neonatal EEG using SVM and supervector kernel. In: 2014 IEEE International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing (ICASSP). 2014. p. 5894–8.
233. Malfilâtre G, Mony L, Hasaerts D, Vignolo-Diard P, Lamblin M-D, Bourel-Ponchel E. Technical recommendations and interpretation guidelines for electroencephalography for premature and full-term newborns. *Neurophysiol Clin Clin Neurophysiol*. 2020 Nov 6;
234. Orbach SA, Bonifacio SL, Kuzniewicz M, Glass HC. Lower Incidence of Seizure among Neonates Treated with Therapeutic Hypothermia. *J Child Neurol*. 2014 Nov;29(11):1502–7.
235. van Handel M, Swaab H, de Vries LS, Jongmans MJ. Behavioral Outcome in Children with a History of Neonatal Encephalopathy following Perinatal Asphyxia. *J Pediatr Psychol*. 2010 Apr 1;35(3):286–95.
236. Murray DM, O'Connor CM, Ryan CA, Korotchikova I, Boylan GB. Early EEG Grade and Outcome at 5 Years After Mild Neonatal Hypoxic Ischemic Encephalopathy. *Pediatrics*. 2016;138(4).
237. Chalak LF, Nguyen K-A, Prempunpong C, Heyne R, Thayyil S, Shankaran S, et al. Prospective research in infants with mild encephalopathy identified in the first six hours of life: neurodevelopmental outcomes at 18-22 months. *Pediatr Res*. 2018 Dec;84(6):861–8.
238. Conway JM, Walsh BH, Boylan GB, Murray DM. Mild hypoxic ischaemic encephalopathy and long term neurodevelopmental outcome - A systematic review. *Early Hum Dev*. 2018 May;120:80–7.
239. Montaldo P, Lally PJ, Oliveira V, Swamy R, Mendoza J, Atreja G, et al. Therapeutic hypothermia initiated within 6 hours of birth is associated with reduced brain injury on MR biomarkers in mild hypoxic-ischaemic encephalopathy: a non-randomised cohort study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2019 Sep;104(5):F515–20.
240. Rao R, Trivedi S, Distler A, Liao S, Vesoulis Z, Smyser C, et al. Neurodevelopmental Outcomes in Neonates with Mild Hypoxic Ischemic Encephalopathy Treated with Therapeutic Hypothermia. *Am J Perinatol*. 2019 Nov;36(13):1337–43.
241. Jacobs SE, Berg M, Hunt R, Tarnow-Mordi WO, Inder TE, Davis PG. Cooling for newborns with hypoxic ischaemic encephalopathy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013 Jan 31;(1):CD003311.
242. Chalak L, Latremouille S, Mir I, Sánchez PJ, Sant'Anna G. A review of the conundrum of mild hypoxic-ischemic encephalopathy: Current challenges and moving forward. *Early Hum Dev*. 2018 May 1;120:88–94.

243. Osredkar D, Toet MC, van Rooij LGM, van Huffelen AC, Groenendaal F, de Vries LS. Sleep-wake cycling on amplitude-integrated electroencephalography in term newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics*. 2005 Feb;115(2):327–32.
244. Massaro AN, Tsuchida T, Kadom N, El-Dib M, Glass P, Baumgart S, et al. aEEG evolution during therapeutic hypothermia and prediction of NICU outcome in encephalopathic neonates. *Neonatology*. 2012;102(3):197–202.
245. Kharoshankaya L, Stevenson NJ, Livingstone V, Murray DM, Murphy BP, Ahearne CE, et al. Seizure burden and neurodevelopmental outcome in neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Dev Med Child Neurol*. 2016 Dec;58(12):1242–8.
246. Lin Y-K, Hwang-Bo S, Seo Y-M, Youn Y-A. Clinical seizures and unfavorable brain MRI patterns in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy. *Medicine (Baltimore)*. 2021 Mar 26;100(12):e25118.
247. van Putten MJAM. The revised brain symmetry index. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2007 Nov;118(11):2362–7.
248. Temko A, Boylan G, Marnane W, Lightbody G. Robust neonatal EEG seizure detection through adaptive background modeling. *Int J Neural Syst*. 2013 Aug;23(4):1350018.
249. Eklund JM, Fontana N, Pugh JE, McGregor C, Yelder P, James A, et al. Automated Sleep-Wake Detection in Neonates from Cerebral Function Monitor Signals. 2014 IEEE 27th Int Symp Comput-Based Med Syst. 2014;
250. Ansari AH, Wel OD, Pillay K, Dereymaeker A, Jansen K, Huffel SV, et al. A convolutional neural network outperforming state-of-the-art sleep staging algorithms for both preterm and term infants. *J Neural Eng*. 2020 Jan;17(1):016028.
251. Ryu S, Back S, Lee S, Seo H, Park C, Lee K, et al. Pilot study of a single-channel EEG seizure detection algorithm using machine learning. *Childs Nerv Syst ChNS Off J Int Soc Pediatr Neurosurg*. 2021 May 3;
252. Nolan H, Whelan R, Reilly RB. FASTER: Fully Automated Statistical Thresholding for EEG artifact Rejection. *J Neurosci Methods*. 2010 Sep 30;192(1):152–62.
253. Mognon A, Jovicich J, Bruzzone L, Buiatti M. ADJUST: An automatic EEG artifact detector based on the joint use of spatial and temporal features. *Psychophysiology*. 2011;48(2):229–40.
254. Goeral K, Urlesberger B, Giordano V, Kasprian G, Wagner M, Schmidt L, et al. Prediction of Outcome in Neonates with Hypoxic-Ischemic Encephalopathy II: Role of Amplitude-Integrated Electroencephalography and Cerebral Oxygen Saturation Measured by Near-Infrared Spectroscopy. *Neonatology*. 2017;112(3):193–202.
255. Jacobs SE, Morley CJ, Inder TE, Stewart MJ, Smith KR, McNamara PJ, et al. Whole-body hypothermia for term and near-term newborns with hypoxic-ischemic

- encephalopathy: a randomized controlled trial. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2011 Aug;165(8):692–700.
256. d'Allest A, André M, Radvanyi-Bouvet M. Apport de l'électroencéphalogramme pour le diagnostic et le pronostic de l'asphyxie périnatale du nouveau-né à terme. *Arch Pédiatrie*. 1996 Jan 1;3:S254–6.
257. Prout AP, Frasch MG, Veldhuizen RAW, Hammond R, Ross MG, Richardson BS. Systemic and cerebral inflammatory response to umbilical cord occlusions with worsening acidosis in the ovine fetus. *Am J Obstet Gynecol*. 2010 Jan;202(1):82.e1-9.
258. Biagioni E, Mercuri E, Rutherford M, Cowan F, Azzopardi D, Frisone MF, et al. Combined use of electroencephalogram and magnetic resonance imaging in full-term neonates with acute encephalopathy. *Pediatrics*. 2001 Mar;107(3):461–8.
259. Shah DK, Lavery S, Doyle LW, Wong C, McDougall P, Inder TE. Use of 2-channel bedside electroencephalogram monitoring in term-born encephalopathic infants related to cerebral injury defined by magnetic resonance imaging. *Pediatrics*. 2006 Jul;118(1):47–55.
260. Leijser LM, Vein AA, Liauw L, Strauss T, Veen S, Wezel-Meijler G van. Prediction of short-term neurological outcome in full-term neonates with hypoxic-ischaemic encephalopathy based on combined use of electroencephalogram and neuro-imaging. *Neuropediatrics*. 2007 Oct;38(5):219–27.
261. Dunne JM, Wertheim D, Clarke P, Kapellou O, Chisholm P, Boardman JP, et al. Automated electroencephalographic discontinuity in cooled newborns predicts cerebral MRI and neurodevelopmental outcome. *Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed*. 2017 Jan 1;102(1):F58–64.
262. Young GB, da Silva OP. Effects of morphine on the electroencephalograms of neonates: a prospective, observational study. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2000 Nov;111(11):1955–60.
263. van Leuven K, Groenendaal F, Toet MC, Schobben AF a. M, Bos S a. J, de Vries LS, et al. Midazolam and amplitude-integrated EEG in asphyxiated full-term neonates. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. 2004 Sep;93(9):1221–7.
264. Shany E, Benzaquen O, Friger M, Richardson J, Golan A. Influence of antiepileptic drugs on amplitude-integrated electroencephalography. *Pediatr Neurol*. 2008 Dec;39(6):387–91.
265. Murray DM, Ryan CA, Boylan GB, Fitzgerald AP, Connolly S. Prediction of seizures in asphyxiated neonates: correlation with continuous video-electroencephalographic monitoring. *Pediatrics*. 2006 Jul;118(1):41–6.
266. Tsuchida TN, Wusthoff CJ, Shellhaas RA, Abend NS, Hahn CD, Sullivan JE, et al. American clinical neurophysiology society standardized EEG terminology and categorization for the description of continuous EEG monitoring in neonates: report of

- the American Clinical Neurophysiology Society critical care monitoring committee. *J Clin Neurophysiol Off Publ Am Electroencephalogr Soc.* 2013 Apr;30(2):161–73.
267. Lamblin M, Racoussot S, Pierrat V, Duquennoy C, Ouahsine T, Lequien P, et al. Encéphalopathie anoxo-ischémique du nouveau-né à terme. Apport de l'électroencéphalogramme et de l'échographie transfontanellaire à l'évaluation pronostique. À propos de 29 observations. *Neurophysiol Clin Neurophysiol.* 1996 Jan 1;26(6):369–78.
268. Raurale SA, Boylan GB, Lightbody G, O'Toole JM. Grading the severity of hypoxic-ischemic encephalopathy in newborn EEG using a convolutional neural network. *ArXiv200505561 Cs Eess Q-Bio* [Internet]. 2020 May 12 [cited 2021 Jul 25]; Available from: <http://arxiv.org/abs/2005.05561>
269. Petitgand C, Motulsky A, Denis J-L, Régis C. Investigating the Barriers to Physician Adoption of an Artificial Intelligence- Based Decision Support System in Emergency Care: An Interpretative Qualitative Study. *Stud Health Technol Inform.* 2020 Jun 16;270:1001–5.
270. L'Intelligence Artificielle... avec intelligence ! [Internet]. FUN MOOC. [cited 2021 Oct 18]. Available from: <http://www.fun-mooc.fr/fr/cours/lintelligence-artificielle-avec-intelligence/>
271. L'Hôpital, une nouvelle industrie - Tracts - GALLIMARD - Site Gallimard [Internet]. [cited 2021 Oct 18]. Available from: <http://www.gallimard.fr/Catalogue/GALLIMARD/Tracts/L-Hopital-une-nouvelle-industrie#>
272. L'Idolâtrie de la vie - Tracts - GALLIMARD - Site Gallimard [Internet]. [cited 2021 Oct 18]. Available from: <http://www.gallimard.fr/Catalogue/GALLIMARD/Tracts/L-Idolatrie-de-la-vie>
273. Apocalypse cognitive - Gérald Bronner [Internet]. Babelio. [cited 2021 Oct 18]. Available from: <https://www.babelio.com/livres/Bronner-Apocalypse-cognitive/1287138>
274. Le Mythe de la Singularité , Jean-Gabr... [Internet]. [cited 2021 Oct 18]. Available from: <https://www.seuil.com/ouvrage/le-mythe-de-la-singularite-jean-gabriel-ganascia/9782021309997>
275. Gandhi R. Support Vector Machine — Introduction to Machine Learning Algorithms [Internet]. Medium. 2018 [cited 2021 Jul 15]. Available from: <https://towardsdatascience.com/support-vector-machine-introduction-to-machine-learning-algorithms-934a444fca47>
276. Morrison JL, Berry MJ, Botting KJ, Darby JRT, Frasca MG, Gatford KL, et al. Improving pregnancy outcomes in humans through studies in sheep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2018 Dec 1;315(6):R1123–53.

277. Bernhard CG, Kaiser IH, Kolmodin GM. On the development of cortical activity in fetal sheep. *Acta Physiol Scand*. 1959 Dec 12;47:333–49.
278. Jones MD. Energy metabolism in the developing brain. *Semin Perinatol*. 1979 Apr;3(2):121–9.
279. Clewlow F, Dawes GS, Johnston BM, Walker DW. Changes in breathing, electrocortical and muscle activity in unanaesthetized fetal lambs with age. *J Physiol*. 1983 Aug;341:463–76.
280. Barlow RM. The foetal sheep: morphogenesis of the nervous system and histochemical aspects of myelination. *J Comp Neurol*. 1969 Mar;135(3):249–62.
281. McINTOSH GH, Baghurst KI, Potter BJ, Hetzel BS. Foetal Brain Development in the Sheep. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 1979;5(2):103–14.
282. Frasch MG, Grasch MG, Frasch MG, Mansano RZ, McPhaul L, Gagnon R, et al. Measures of acidosis with repetitive umbilical cord occlusions leading to fetal asphyxia in the near-term ovine fetus. *Am J Obstet Gynecol*. 2009 Feb;200(2):200.e1-7.
283. Garabedian C, Champion C, Servan-Schreiber E, Butruille L, Aubry E, Sharma D, et al. A new analysis of heart rate variability in the assessment of fetal parasympathetic activity: An experimental study in a fetal sheep model. *PloS One*. 2017;12(7):e0180653.
284. Garabedian C, Clermont-Hama Y, Sharma D, Aubry E, Butruille L, Deruelle P, et al. Correlation of a new index reflecting the fluctuation of parasympathetic tone and fetal acidosis in an experimental study in a sheep model. *PloS One*. 2018;13(1):e0190463.
285. Garabedian C, Aubry E, Sharma D, Bleu G, Clermont-Hama Y, Ghesquière L, et al. Exploring fetal response to acidosis in ewes: Choosing an adequate experimental model. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2018 Oct 1;47(8):397–403.
286. Ghesquière L, De Jonckheere J, Drumez E, Sharma D, Aubry E, Deruelle P, et al. Parasympathetic nervous system response to acidosis: Evaluation in an experimental fetal sheep model. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2019 Apr;98(4):433–9.
287. East CE, Leader LR, Sheehan P, Henshall NE, Colditz PB, Lau R. Intrapartum fetal scalp lactate sampling for fetal assessment in the presence of a non-reassuring fetal heart rate trace. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 May 1;(5):CD006174.
288. Mann LI, Prichard JW, Symmes D. EEG, ECG, and acid-base observations during acute fetal hypoxia. *Am J Obstet Gynecol*. 1970 Jan 1;106(1):39–51.
289. Symmes D, Prichard JW, Mann LI. Spectral analysis of fetal sheep EEG during hypoxia. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1970 Nov;29(5):511–5.
290. Dawes GS, Fox HE, Leduc BM, Liggins GC, Richards RT. Respiratory movements and rapid eye movement sleep in the foetal lamb. *J Physiol*. 1972 Jan;220(1):119–43.

291. Ruckebusch Y. Development of sleep and wakefulness in the foetal lamb. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1972 Feb 1;32(2):119–28.
292. Lacan L, Hamoud Y, Nguyen S, De Jonckheere J, Storme L, Houfflin-Debargue V, et al. Fetal sheep cerebral electrical activity: A new technique to record EEG. *J Neurosci Methods.* 2020 Aug 2;108888.
293. Bernhard CG, Kolmodin GM, Meyerson BA. On the prenatal development of function and structure in the somesthetic cortex of the sheep. *Prog Brain Res.* 1967;26:60–77.
294. Åarström K-E. On the Early Development of the Isocortex in Fetal Sheep. In: Bernhard CG, Schadé JP, editors. *Progress in Brain Research* [Internet]. Elsevier; 1967 [cited 2021 Sep 14]. p. 1–59. (Developmental Neurology; vol. 26). Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079612308614181>
295. Szeto HH, Vo TDH, Dwyer G, Dogramajian ME, Cox MJ, Senger G. The ontogeny of fetal lamb electrocortical activity: A power spectral analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 1985 Oct 15;153(4):462–6.
296. Jost RG, Quilligan EJ, Yeh SY, Anderson GG. Intrauterine electroencephalogram of the sheep fetus. *Am J Obstet Gynecol.* 1972 Oct 15;114(4):535–9.
297. Mann LI, Duchin S, Weiss RR. Fetal EEG sleep stages and physiologic variability. *Am J Obstet Gynecol.* 1974 Jun 15;119(4):533–8.
298. Ioffe S, Jansen AH, Russell BJ, Chernick V. Sleep, wakefulness and the monosynaptic reflex in fetal and newborn lambs. *Pflugers Arch.* 1980 Nov;388(2):149–57.
299. Szeto HH, Hinman DJ. Prenatal development of sleep-wake patterns in sheep. *Sleep.* 1985 Dec;8(4):347–55.
300. Ruckebusch Y, Gaujoux M, Eghbali B. Sleep cycles and kinesis in the foetal lamb. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1977 Feb 1;42(2):226–37.
301. Rao N, Keen A, Czikk M, Frasch M, Richardson BS. Behavioural state linkage in the ovine fetus near term. *Brain Res.* 2009 Jan 23;1250:149–56.
302. Keen AE, Frasch MG, Sheehan MA, Matuszewski BJ, Richardson BS. Electrocortical activity in the near-term ovine fetus: Automated analysis using amplitude frequency components. *Brain Res.* 2011 Jul 21;1402:30–7.
303. Pulgar VM, Zhang J, Massmann GA, Figueroa JP. Prolonged Mild Hypoxia Alters Fetal Sheep Electrocorticogram Activity. *J Soc Gynecol Investig JSGL.* 2006 Sep 1;13(6):404–11.
304. Bartelds B, van Bel F, Teitel DF, Rudolph AM. Carotid, not aortic, chemoreceptors mediate the fetal cardiovascular response to acute hypoxemia in lambs. *Pediatr Res.* 1993 Jul;34(1):51–5.

305. Giussani DA, Unno N, Jenkins SL, Wentworth RA, Derks JB, Collins JH, et al. Dynamics of cardiovascular responses to repeated partial umbilical cord compression in late-gestation sheep fetus. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol*. 1997 Nov 1;273(5):H2351–60.
306. Kawagoe Y, Green L, White S, Richardson B. Intermittent umbilical cord occlusion in the ovine fetus near term: effects on behavioral state activity. *Am J Obstet Gynecol*. 1999 Dec;181(6):1520–9.
307. Bennet L, Roelfsema V, George S, Dean JM, Emerald BS, Gunn AJ. The effect of cerebral hypothermia on white and grey matter injury induced by severe hypoxia in preterm fetal sheep. *J Physiol*. 2007 Jan 15;578(Pt 2):491–506.
308. Mallard EC, Gunn AJ, Williams CE, Johnston BM, Gluckman PD. Transient umbilical cord occlusion causes hippocampal damage in the fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol*. 1992 Nov 1;167(5):1423–30.
309. Williams CE, Gunn AJ, Mallard C, Gluckman PD. Outcome after ischemia in the developing sheep brain: An electroencephalographic and histological study. *Ann Neurol*. 1992;31(1):14–21.
310. Reddy K, Mallard C, Guan J, Marks K, Bennet L, Gunning M, et al. Maturation change in the cortical response to hypoperfusion injury in the fetal sheep. *Pediatr Res*. 1998 May;43(5):674–82.
311. George S, Gunn AJ, Westgate JA, Brabyn C, Guan J, Bennet L. Fetal heart rate variability and brain stem injury after asphyxia in preterm fetal sheep. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol*. 2004 Oct 1;287(4):R925–33.
312. Abbasi H, Drury PP, Lear CA, Gunn AJ, Davidson JO, Bennet L, et al. EEG sharp waves are a biomarker of striatal neuronal survival after hypoxia-ischemia in preterm fetal sheep. *Sci Rep [Internet]*. 2018 [cited 2020 Oct 14];8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6218488/>
313. Gunn AJ, Parer JT, Mallard EC, Williams CE, Gluckman PD. Cerebral Histologic and Electrocorticographic Changes after Asphyxia in Fetal Sheep. *Pediatr Res*. 1992 May;31(5):486–91.
314. Wilson PC, Philpott RH, Spies S, Ahmed Y, Kadichza M. The Effect of Fetal Head Compression and Fetal Acidaemia During Labour on Human Fetal Cerebral Function as Measured by the Fetal Electroencephalogram. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 1979;86(4):269–77.
315. Pospelov AS, Puskarjov M, Kaila K, Voipio J. Endogenous brain-sparing responses in brain pH and PO₂ in a rodent model of birth asphyxia. *Acta Physiol Oxf Engl*. 2020 Jul;229(3):e13467.
316. Ala-Kurikka T, Pospelov A, Summanen M, Alafuzoff A, Kurki S, Voipio J, et al. A physiologically validated rat model of term birth asphyxia with seizure generation after, not during, brain hypoxia. *Epilepsia*. 2021 Apr;62(4):908–19.

317. Gailus B, Naundorf H, Welzel L, John M, Römermann K, Kaila K, et al. Long-term outcome in a noninvasive rat model of birth asphyxia with neonatal seizures: Cognitive impairment, anxiety, epilepsy, and structural brain alterations. *Epilepsia*. 2021 Aug 29;
318. Gold N, Herry CL, Wang X, Frasch MG. Fetal Cardiovascular Decompensation During Labor Predicted From the Individual Heart Rate Tracing: A Machine Learning Approach in Near-Term Fetal Sheep Model. *Front Pediatr*. 2021;9:593889.
319. Castel A, Frank YS, Feltner J, Karp FB, Albright CM, Frasch MG. Monitoring Fetal Electroencephalogram Intrapartum: A Systematic Literature Review. *Front Pediatr*. 2020;8:584.
320. Bernstine RL, Borkowski WJ, Price AH. Prenatal fetal electroencephalography. *Am J Obstet Gynecol*. 1955 Sep;70(3):623–30.
321. Rosen MG, Scibetta JJ. The human fetal electroencephalogram. I. An electrode for continuous recording during labor. *Am J Obstet Gynecol*. 1969 Aug 1;104(7):1057–60.
322. Chachava KV, Devdariani MG, Loladze AS. [Several variants in the electroencephalogram of the fetus in normal and pathologic states]. *Akush Ginekol (Sofia)*. 1969 Jun;45(6):18–21.
323. Peltzman P, Goldstein PJ, Battagin R. Quantitative analysis of fetal electrophysiologic data. *Am J Obstet Gynecol*. 1973 Apr 15;115(8):1117–24.
324. Borgstedt AD, Rosen MG, Chik L, Sokol RJ, Bachelder L, Leo P. Fetal electroencephalography. Relationship to neonatal and one-year developmental neurological examinations in high-risk infants. *Am J Dis Child* 1960. 1975 Jan;129(1):35–8.
325. Chik L, Sokol RJ, Rosen MG, Borgstedt AD. Computer interpreted fetal electroencephalogram. I. Relative frequency of patterns. *Am J Obstet Gynecol*. 1976 Jun 15;125(4):537–40.
326. Sokol RJ, Rosen MG, Chik L. Fetal electroencephalographic monitoring related to infant outcome. *Am J Obstet Gynecol*. 1977 Feb 1;127(3):329–30.
327. Weller C, Dyson RJ, McFadyen IR, Green HL, Arias E. Fetal Electroencephalography Using a New, Flexible Electrode. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 1981;88(10):983–6.
328. Qureshi AI, Miran MS, Li S, Jiang M. Ultrasound-Guided Second Trimester Fetal Electroencephalography in Two Pregnant Volunteers: A Technical Note. *J Vasc Interv Neurol*. 2016 Jun;9(1):60–5.
329. Rosen MG, Scibetta J, Chik L, Borgstedt AD. An approach to the study of brain damage: The principles of fetal electroencephalography. *Am J Obstet Gynecol*. 1973 Jan 1;115(1):37–47.

330. Djelmis J, Drazancić A, Dürrigl V, Djelmis J, Ivansenić M. The effect of fetal hypoxia and acidosis on the changes in fetal electroencephalogram during labor. *Am J Perinatol*. 1988 Apr;5(2):177–85.
331. Blum T, Saling E, Bauer R. First magnetoencephalographic recordings of the brain activity of a human fetus. *Br J Obstet Gynaecol*. 1985 Dec;92(12):1224–9.
332. Preissl H, Lowery CL, Eswaran H. Fetal magnetoencephalography: current progress and trends. *Exp Neurol*. 2004 Nov 1;190:28–36.
333. Eswaran H, Haddad NI, Shihabuddin BS, Preissl H, Siegel ER, Murphy P, et al. Non-invasive detection and identification of brain activity patterns in the developing fetus. *Clin Neurophysiol Off J Int Fed Clin Neurophysiol*. 2007 Sep;118(9):1940–6.
334. Haddad N, Govindan RB, Vairavan S, Siegel E, Temple J, Preissl H, et al. Correlation between fetal brain activity patterns and behavioral states: An exploratory fetal magnetoencephalography study. *Exp Neurol*. 2011 Apr 1;228(2):200–5.
335. Gatellier M-A, De Jonckheere J, Storme L, Houfflin-Debarge V, Ghesquiere L, Garabedian C. Fetal heart rate variability analysis for neonatal acidosis prediction. *J Clin Monit Comput*. 2021 Aug;35(4):771–7.
336. Butruille L, De Jonckheere J, Flocteil M, Garabedian C, Houfflin-Debarge V, Storme L, et al. Parasympathetic tone variations according to umbilical cord pH at birth: a computerized fetal heart rate variability analysis. *J Clin Monit Comput*. 2017 Dec;31(6):1197–202.
337. Richardson BS, Patrick JE, Abduljabbar H. Cerebral oxidative metabolism in the fetal lamb: relationship to electrocortical state. *Am J Obstet Gynecol*. 1985 Oct 15;153(4):426–31.
338. Szeto HH. Spectral edge frequency as a simple quantitative measure of the maturation of electrocortical activity. *Pediatr Res*. 1990 Mar;27(3):289–92.
339. Abbasi H, Bennet L, Gunn AJ, Unsworth CP. Robust Wavelet Stabilized “Footprints of Uncertainty” for Fuzzy System Classifiers to Automatically Detect Sharp Waves in the EEG after Hypoxia Ischemia. *Int J Neural Syst*. 2017 May;27(3):1650051.
340. Yamaguchi K, Lear CA, Beacom MJ, Ikeda T, Gunn AJ, Bennet L. Evolving changes in fetal heart rate variability and brain injury after hypoxia-ischaemia in preterm fetal sheep. *J Physiol*. 2018;596(23):6093–104.
341. Garabedian C, Champion C, Servan-Schreiber E, Butruille L, Aubry E, Sharma D, et al. A new analysis of heart rate variability in the assessment of fetal parasympathetic activity: An experimental study in a fetal sheep model. *PLOS ONE*. 2017 juil;12(7):e0180653.
342. Garabedian C, Clermont-Hama Y, Sharma D, Aubry E, Butruille L, Deruelle P, et al. Correlation of a new index reflecting the fluctuation of parasympathetic tone and fetal

- acidosis in an experimental study in a sheep model. *PLOS ONE*. 2018 Jan 10;13(1):e0190463.
343. Ghesquière L, De Jonckheere J, Drumez E, Sharma D, Aubry E, Deruelle P, et al. Parasympathetic nervous system response to acidosis: evaluation in an experimental fetal sheep model. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2018 Dec 19;
 344. Garabedian C, Aubry E, Sharma D, Bleu G, Clermont-Hama Y, Ghesquière L, et al. Exploring fetal response to acidosis in ewes: Choosing an adequate experimental model. *J Gynecol Obstet Hum Reprod [Internet]*. 2018 Apr 11; Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2468784718300576>
 345. Prout AP, Frasch MG, Veldhuizen RAW, Hammond R, Ross MG, Richardson BS. Systemic and cerebral inflammatory response to umbilical cord occlusions with worsening acidosis in the ovine fetus. *Am J Obstet Gynecol*. 2010 Jan;202(1):82.e1-9.
 346. Back SA, Riddle A, Dean J, Hohimer AR. The Instrumented Fetal Sheep as a Model of Cerebral White Matter Injury in the Premature Infant. *Neurotherapeutics*. 2012 Apr;9(2):359–70.
 347. Bernhard CG, Kolmodin GM, Meyerson BA. On the Prenatal Development of Function and Structure in the Somesthetic Cortex of the Sheep. In: Bernhard CG, Schadé JP, editors. *Progress in Brain Research [Internet]*. Elsevier; 1967 [cited 2020 Jan 26]. p. 60–77. (Developmental Neurology; vol. 26). Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079612308614193>
 348. Frasch MG, Durosier LD, Gold N, Cao M, Matuszewski B, Keenlside L, et al. Adaptive shut-down of EEG activity predicts critical acidemia in the near-term ovine fetus. *Physiol Rep*. 2015 Jul;3(7).
 349. Kurinczuk JJ, White-Koning M, Badawi N. Epidemiology of neonatal encephalopathy and hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Early Hum Dev*. 2010 Jun;86(6):329–38.
 350. Pin TW, Eldridge B, Galea MP. A review of developmental outcomes of term infants with post-asphyxia neonatal encephalopathy. *Eur J Paediatr Neurol [Internet]*. 2009 [cited 2020 Apr 17];13(3). Available from: </scholarlywork/316468-a-review-of-developmental-outcomes-of-term-infants-with-post-asphyxia-neonatal-encephalopathy>
 351. Volpe's Neurology of the Newborn - 6th Edition [Internet]. [cited 2020 Apr 17]. Available from: <https://www.elsevier.com/books/volpes-neurology-of-the-newborn/volpe/978-0-323-42876-7>
 352. Azzopardi D, TOBY study group. Predictive value of the amplitude integrated EEG in infants with hypoxic ischaemic encephalopathy: data from a randomised trial of therapeutic hypothermia. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2014 Jan;99(1):F80-82.

