

# Contribución Original

Luna-Guevara Gerardo Ramiro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Psiquiatría y Salud Mental, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.

## La utilidad del electroencefalograma clínico para evaluar al paciente con depresión

The usefulness of clinical electroencephalography to evaluate the patient with depression

## Resumen

**Introducción:** La depresión es una enfermedad de las más frecuentes, sea aisladamente o en comorbilidad con otras entidades clínicas. Es una enfermedad que generalmente pasa desapercibida tanto para los profesionales como para las familias, perjudicando los resultados en la atención al paciente y para el año 2020 será la segunda causa de incapacidad a nivel mundial.

**Objetivo:** En registros de electroencefalograma de pacientes con algún tipo de depresión, aplicar técnicas para extraer información pertinente y por medio de un análisis discriminante generar un pronóstico y clasificación de la sintomatología.

**Métodos:** Realizamos un análisis estadístico sobre el registro de electroencefalograma con 19 canales en 23 pacientes. Se realizó una extracción de características por medio de un análisis de componentes principales para cada uno de los sujetos, validando las pruebas y posteriormente por medio de un clasificador lineal obtener un pronóstico en función de los resultados obtenidos.

**Resultados:** Se obtuvieron los estadísticos de clasificación, funciones discriminantes lineales de Fisher, observando que existen diferencias significativas entre las dos poblaciones estudiadas y que las variables seleccionadas tienen impacto en esas diferencias, se construyó una función discriminante, para las poblaciones (sano y con depresión). La correlación canónica de 0.635 indica que de cada 100 sujetos que son clasificados, entre 67 y 68 lo son correctamente, lo cual es una tasa aceptable y confiable.

**Conclusiones:** Un clasificador en base a estadísticos puede ser confiable y existe un panorama abierto en cuanto a mejorar la precisión, exactitud del diagnóstico. Considerando el dominio espectral de bandas de interés.

### Palabras clave

*Análisis de componentes principales, análisis lineal de discriminantes, depresión, diagnóstico, electroencefalograma*

## Abstract

**Introduction:** Depression is the most common disease, either separately or in comorbidity with other clinical entities. It is a disease that generally goes unnoticed for professionals and families, hurting the patient care outcomes, being her second leading cause of disability worldwide, by 2020.

**Objective:** To record electroencephalogram in patients with some type of depression, apply techniques to extract relevant information and by means of a discriminant analysis to generate a prediction and classification of symptoms.

**Methods:** We performed a statistical analysis on the registration of electroencephalogram with 19 channels, variable, for 23 patients. Extractions of features through an analysis of components for each of the subjects was conducted in all variables validating tests and subsequently through a linear classifier obtain a prognosis on the basis of the obtained statistical

**Results:** We collected statistics classification, Fisher linear discriminant functions, noting that there are significant differences between the two populations studied and that the selected variables impact on those differences, was built a discriminant function, for populations (healthy and with depression). 0.635 canonical correlation indicates that on average, every 100 subjects which are classified, between 67 and 68 of these are classified correctly, which is a rate acceptable and reliable.

**Conclusions:** These results allow to conclude that a classifier based on statistics can be reliable and that there is a panorama open as to improve accuracy, accuracy of diagnosis. Considering the spectral bands of interest domain.

### Keywords

*Analysis, depression, diagnosis, electroencephalogram, linear discriminant analysis*

#### Correspondencia:

M.C. Gerardo Luna Guevara.  
Facultad de Medicina, Edificio "F", Avenida Universidad, Universidad Nacional Autónoma de México, C.U., Delegación Coyoacán, el C.P. 04510, Cd de México.  
Tel. 56228222 ext. 43128.  
Correo electrónico: gerlg@unam.mx

# Introducción

El electroencefalograma (EEG) es el registro y la evaluación de los potenciales eléctricos producidos por el cerebro y obtenidos por medio de electrodos. El análisis de la actividad del EEG se ha logrado principalmente en entornos clínicos para identificar patologías y epilepsias desde el estudio por Hans Berger de la actividad eléctrica rítmica en el cuero cabelludo humano.<sup>1</sup> En el pasado, la interpretación del EEG se limita a la inspección visual por un neurofisiólogo, un individuo entrenado para hacer una distinción cualitativa entre la actividad del EEG normal y alteraciones contenidas dentro de los registros del EEG. El avance en las computadoras y las tecnologías relacionadas con ellos ha hecho que sea posible aplicar con éxito una serie de métodos para cuantificar cambios en el EEG.<sup>2</sup>

En comparación con otras señales biomédicas, el EEG es extremadamente difícil para un observador no entrenado entender la asignación espacial de funciones en diferentes regiones del cerebro. Además, el procesamiento de datos puede determinar las características reducidas del conjunto, incluyendo sólo los datos necesarios para la cuantificación, como en estudios de respuesta evocada, o extracción de la característica y reconocimiento posterior, como en la detección de pico automatizado durante el monitoreo para la actividad de ataque epiléptico. En los primeros intentos para mostrar una relación entre el EEG y el comportamiento, analizadores de frecuencia analógica se utilizaron para examinar los datos del EEG.

Entre los desórdenes médicos, la depresión es una de las más frecuentes, sea aisladamente o en comorbilidad con otras entidades clínicas.<sup>3</sup> Es una enfermedad que, generalmente, pasa desapercibida tanto para los profesionales como para las familias, perjudicando los resultados en la atención al paciente, y esta será la segunda principal causa de incapacidad a nivel mundial, para el año 2020, apenas superada por las enfermedades cardíacas.<sup>3-4</sup>

Esta situación, considerada un problema grave de salud pública, es un asunto que, por las proporciones que puede asumir, está llevando a los especialistas, a buscar nuevas estrategias para enfrentarla y lo primero es realizar un diagnóstico preciso.

Este trabajo es un ejercicio de clasificación supervisada de patrones en el dominio del tiempo de un estudio de electroencefalografía donde se tienen dos grupos de pacientes y se conoce el diagnóstico, para el caso se tiene un grupo de control.

Una interesante aplicación de la tecnología de predicción es su potencial para uso en dispositivos que conllevan la intervención para un tratamiento adecuado y en tiempo. Análisis de componentes principales (PCA), análisis de componentes independientes (ICA) y el análisis discriminante lineal (LDA) son métodos bien conocidos para la extracción de la característica.<sup>5-6</sup> La extracción de características consiste en transformar las existentes en un espacio de dimensión reducida que es útil para evitar la redundancia debido a datos multidimensionales. La descomposición en valores singulares (SVD) es una técnica de análisis multivariado de datos y los datos del EEG son muy adecuados para análisis usando SVD y PCA.<sup>7</sup> Un único estudio de EEG puede generar miles de mediciones, o incluso decenas de miles de datos. Los datos del estudio de EEG se presentan con ruido y SVD puede detectar y extraer pequeños segmentos de datos ruidosos.

El objetivo general de este trabajo es aplicar el análisis PCA para realizar una clasificación de señales de EEG por medio de LDA y generar un pronóstico de la sintomatología de depresión. Los objetivos específicos son: **1)** proporcionar un perfil característico con significancia estadística que explique las diferencias y semejanzas entre pacientes con depresión y normales; **2)** construir una regla discriminante que permita realizar un diagnóstico de pacientes potenciales con depresión.

# Materiales y métodos

El registro de las señales de EEG para cada sujeto se realizó con 19 canales a partir de electrodos adheridos con pasta conductora a la superficie de la cabeza. La diferencia de potencial se midió con respecto a una referencia monopolar. La señal se digitalizó con una frecuencia de muestreo de 200 Hz y conversión A/D de 16 bits, filtrada digitalmente entre 0.5 Hz y 30 Hz. Los electrodos fueron colocados de acuerdo al sistema 10-20<sup>8-9</sup> (Fp1, F3, C3, P3, O1, F7, T3, T6, Fp2, F4, C4, P4, O2, F8, T4, T7, Fz, Cz, Pz). Para el análisis, se realizaron registros de 30 minutos de tiempo de actividad en reposo de 9 sujetos sanos, 14 pacientes con depresión para inicio de tratamiento médico. Los pacientes fueron diagnosticados según criterios del DSM-IV<sup>10</sup>, y criterios del CIE-10<sup>11</sup> para un diagnóstico de trastornos del humor. Los registros de EEG se realizaron en la Facultad de Medicina de la UNAM, Ciudad de México.

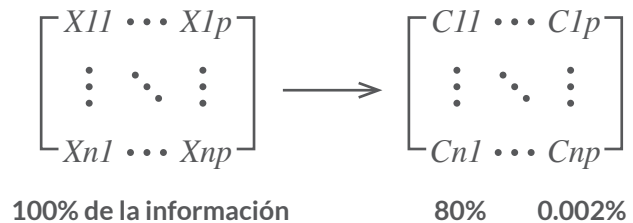
Previo a la fase de clasificación de las señales registradas, es necesario extraer de dichas señales la información relevante para la identificación de los patrones. Las señales de EEG registradas están constituidas por la superposición de una multitud de potenciales individuales de las células nerviosas del cerebro, información relevante más el ruido eléctrico del resto de generadores que existen en el cuerpo, movimientos musculares, electrocardiograma, artefactos, etc., así como el ruido generado por los propios instrumentos de medida. Las señales resultantes son extremadamente pequeñas y complejas con amplitudes, en torno a los 300µV (millonésimas de volt).

El análisis de componentes principales (PCA) es un método para la reducción de dimensionalidad y extracción de características. La característica en el PCA, es transformar los datos de un espacio con dimensión a un espacio de dimensiones inferiores. Esto reducirá los grados de libertad y reducirá la complejidad de espacio y tiempo. El enfoque básico en PCA es el siguiente. Primero, el vector promedio  $\mu$  de dimensión  $d$  y la matriz de

covarianza  $\Sigma$  con dimensión  $d \times d$  son calculados para el conjunto completo de datos. A continuación los vectores propios y valores propios son calculados y posteriormente los valores propios son ordenados en orden decreciente. Sean los vectores propios  $e_1$  con valor propio  $k_1$ , vector propio  $e_2$  con valor propio  $k_2$  y así sucesivamente. Subsecuentemente el valor  $k$  más grande de los vectores propios es elegido. En la práctica, esto se hace al observar el espectro de vectores propios.<sup>12</sup> A menudo la dimensión inherente es la del subespacio de la "señal". Las otras dimensiones son ruido. Forman una matriz de  $k \times k$  cuyas columnas consisten los  $k$  vectores propios. Este análisis PCA minimiza el criterio de error cuadrático.<sup>13</sup> Un esquema de la compactación de la información original por los valores singulares se muestra como sigue (Figura 1): La fórmula general para análisis discriminante lineal (LDA) se expone como sigue:  $g(x) = W^t + w_0(1)$

Tabla de datos

Componentes



Donde  $X$  es el vector de entrada,  $W = [w_1 \dots w_n]^t$  es el vector de peso y  $w_0$  es el valor de umbral. La ecuación (1) indica que un vector  $n$ -dimensional  $X$  se proyecta sobre un vector  $W$  y que la variable,  $y = W^t X$ , es proyectado en  $g$ -espacio unidimensional y clasificado  $c_1$  o  $c_2$ , dependiendo de si  $y < w_0$ ;  $y > w_0$ . El procedimiento de diseño óptimo para un clasificador lineal es seleccionar  $W$  y  $w_0$  que da el error más pequeño en el  $g$ -espacio proyectado. Este clasificador es un clasificador estadístico binario, que se basa en las matrices de dispersión entre y dentro de las clases. La dispersión dentro de la clase,  $S_w$ , se describe como sigue:

$$S_i = \sum (x \in c_i) (\bar{x} - \bar{m}_i)^t \quad (2)$$

$$S_w = S_1 + S_2 \quad (3)$$

Donde  $S_i$  es la matriz de dispersión para la clase  $i$ . La dispersión entre clases,  $S_B$ , se calcula como sigue:

$$S_B = (m_1 - m_2)(m_1 - m_2)^t \quad (4)$$

Donde  $m_1$  y  $m_2$  son la media de la clase  $c_1$  y  $c_2$ . Las ponderaciones de este clasificador se optimizan basadas en el criterio de Fisher. Estas ponderaciones tratan de maximizar la dispersión entre clases y minimizar la dispersión dentro de las clases para hacer una mejor discriminación. Por último, los pesos óptimos se calculan como sigue:

$$W = S_W^{-1} (m_1 - m_2) \quad (5)$$

Donde  $S_W^{-1}$  es el inverso de la dispersión de clase dentro y  $m_1$  y  $m_2$  son la media de la clase  $c_1$  y  $c_2$ .<sup>14-15</sup>

Al final del proceso se espera que cada clase tenga una distribución normal para las puntuaciones discriminantes pero con la diferencia más grande posible en las puntuaciones para las medias de las clases. Por lo que, el grado de traslape entre las puntuaciones discriminantes de las distribuciones puede utilizarse como una medida del éxito de la técnica. Las puntuaciones discriminantes se calculan mediante una función discriminante que tiene la forma:

$$D = w_1 Z_1 + w_2 Z_2 + w_3 Z_3 + \dots + w_p Z_p \quad (6)$$

Como resultado de una calificación discriminante se obtiene una combinación lineal ponderada de los predictores.<sup>16</sup> El paquete estadístico SPSS v20.0 fue usado en todos los cálculos.

## Resultados

En el estudio se tomaron 23 sujetos para realizar un pronóstico del diagnóstico. Se registraron 19 variables clasificadoras, correspondientes a los 19 canales del EEG, existen dos grupos a discriminar (sano y con depresión), se tomaron segmentos para el análisis de 512 puntos (2.56 segundos). Se consideran 14 sujetos que padecen depresión y 9 sujetos sanos para comparar y comprobar el diagnóstico.

**Extracción de características:** Se realizó el análisis de componentes de cada uno de los sujetos para con todas las variables. Las pruebas intermedias del PCA que se ejecutaron son: Kaiser-Meyer-Olkin, Bartlett, comunalidades y varianza total explicada, las cuales resultaron significativas y se muestra la tabla con el resumen de los componentes finales (*Tabla 1*).

**Clasificación:** Se realizó la prueba de igualdad de medias, lambda de Wilks, demuestra que considerando las variables explicativas de forma individual, los valores de significancia son menores al 5% para algunas variables, por lo que, componente 1, componente 2 y número de componentes resultan significativos y muestran un poder discriminante, esto corrobora que es aplicable un análisis discriminante.

**Prueba test M de Box:** Si bien el análisis discriminante es importante (aunque no necesario) que las matrices de covarianza poblacionales sean distintas, hay que tener en cuenta que el no cumplir con la prueba M de box ( $M=1.866$ ,  $p=0.184$ ) es especialmente sensible en muestras grandes y en desviaciones de la normalidad multivariante de alguna variable. Para el caso en cuestión las matrices de varianzas-covarianzas no son diferentes. En un análisis discriminante es importante que las matrices de covarianza poblacionales sean distintas. Conviene, no obstante, contrastar la igualdad de matrices de covarianzas, ya que no necesariamente el no cumplir con lo anterior tenga importancia en la vida práctica y real.<sup>17</sup>

**Funciones canónicas discriminantes:** Dados los valores del autovalor y la correlación canónica se concluye que existe una única función discriminante que permite de forma significativa ( $p=0.002$ ) clasificar los sujetos en los dos grupos, sano y con depresión.

El valor de Wilks (0.597) nos ayuda a concluir que aunque la función discriminante servirá para pronosticar la pertenencia a los grupos, no todas las variables son discriminantes. Y dado que hay una cierta similitud entre los grupos y es importante

n	Comp1	Comp2	Comp3	Comp4	NumComp	Dx
1	9.288	2.053	1.565	1.039	4	1
2	8.634	5.148	1.403	1.063	4	2
3	10.496	3.839	1.557	0.777	3	2
4	8.191	3.841	1.702	1.398	4	2
5	8.326	2.729	1.842	1.274	4	1
6	9.67	3.594	1.951	1.119	4	1
7	10.316	3.093	1.455	1.07	4	1
8	13.471	2.4	0.949	0.545		1
9	9.913	4.296	1.767	0.752	3	2
10	9.505	3.667	1.845	0.843	3	2
11	13.455	2.783	0.645	0.499	4	1
12	9.956	3.972	1.406	0.775	3	2
13	9.29	1.891	1.791	1.082	4	1
14	11.337	2.786	1.537	1.039	4	1
15	9.724	3.679	2.052	0.949	3	2
16	7.315	5.849	1.851	0.714	3	2
17	7.067	4.556	2.129	1.206	4	2
18	9.458	3.007	1.453	1.012	4	2
19	9.571	3.58	1.505	0.986	3	2
20	10.979	3.046	2.024	0.884	3	2
21	8.362	4.439	1.291	0.991	3	2
22	9.093	2.474	1.558	1.179	5	2
23	13.004	2.623	1.467	1.096	4	1

Nomenclatura: Compn = enésimo componente

NumComp = número de componentes

Dx = Diagnóstico

**Tabla 1.** Resumen de los sujetos con sus componentes principales, número de componentes y diagnóstico.

Paso	Tolerancia	Tolerancia min	F para entrar	Lambda de Wilks
Comp1	1	1	5.079	0.797
Comp2	1	1	13.511	0.597
Comp3	1	1	1.104	0.948
Comp4	1	1	0.437	0.979
NumComp	1	1	6.124	0.766
Comp1	0.906	0.906	0.795	0.573
Comp3	0.999	0.999	0.491	0.582
Comp4	0.97	0.97	0	0.597
NumComp	0.923	0.923	1.301	0.559

**Tabla 2.** Variables no incluidas en el análisis.



estudiar la influencia de cada una de las variables en la función discriminante obtenida. En consecuencia se empleó el “método de inclusión por pasos” para, eliminar las no significativas en la función. (Autovalor=0.677, correlación canónica=0.635).

**Construcción de la función discriminante, estadísticos por pasos:** Para nuestro caso, solo se incluye el componente 2, de los comentarios al pie de la tabla de la primera tabla, la cual nos indica que se ha utilizado el valor de  $\lambda$  de Wilks global, el estadístico F para incorporar variables (criterio de entrada) y como estadístico para excluir variables (criterio de salida), y que el nivel de F ha sido insuficiente para continuar los cálculos, de lo que se concluye que no se han incluido todas las variables definidas para el análisis.

El contraste de la lambda de Wilks, si el p-valor es inferior a 0.05, implica aceptar que existen diferencias de comportamiento entre las medias de los grupos. Por ello, el proceso realiza el test con todas las funciones para, a continuación, ir distribuyendo en dos tablas las variables seleccionadas de las que no lo son. Los pasos seguidos para la construcción de la función y consecuentemente que variables independientes son significativas para el modelo componente 2 ( $F=13.511$ ,  $p<0.001$ ).

**Estadísticos de clasificación:** Funciones discriminantes lineales de Fisher. Teniendo en cuenta que sí existen diferencias significativas entre las dos poblaciones estudiadas y que las variables seleccionadas tienen impacto en esas diferencias, se construyó una función discriminante D, para estas poblaciones (sano y con depresión). Analizando los coeficientes de la función, se pueden hacer las siguientes inferencias sobre la relación de las variables utilizadas con las poblaciones estudiadas: el componente 2 se encuentra más relacionado con la población de sujetos sanos y que no hay variable asociada con el grupo de paciente con depresión. Utilizando los valores obtenidos de los coeficientes para la función canónica discriminante, podemos construir la función,  $D = -7.052 + 4.485 \text{ Comp2}$  (Tabla 3). La correlación

Contraste de las funciones	Lambda de Wilks	Chi-cuadrado
Comp2	4.485	6.586
Constante	-7.052	-13.482

Tabla 3. Coeficientes de la función de clasificación.

canónica de 0.635 (Tabla 4), indica que en promedio, de cada 100 sujetos que son clasificados con la función discriminante construida, entre 67 y 68 de estos serán clasificados correctamente, lo cual es aceptable ya que se puede decir que la regla es confiable.

La lambda de Wilks, nos indica de que tanto, nuestra regla discriminante, puede realmente discriminar entre las dos poblaciones de estudio; entre más cercano a cero, más poder de discriminación. Nuestro valor de 0.597 indica que nuestra función discriminante sí es válida. Otro indicador de esto es el p-valor, el cual debe ser menor a 0.05 para que exista evidencia estadística de que nuestra función es válida. Como se observa, nuestra función tiene un p-valor igual a 0.002 (Tabla 4).

	Tx	Grupo de Pertenencia		Total
		1	2	
Recuento	1	7	2	9
	2	3	11	14
Original	1	77.8	22.2	100
	2	21.4	78.6	100

a. Clasificados correctamente el 78.3% de los casos agrupados originales

Tabla 4. Resultados de la clasificación.

## Discusión

Se comprobó el pronóstico del clasificador LDA con el diagnóstico hecho por el médico experto, obteniendo un valor alto de concordancia. Diagnosticar a un paciente con depresión es una tarea conjunta de observar el EEG así como su historia clínica. Un clasificador PCA-LDA determina si presenta depresión o no y proporciona una herramienta valiosa a la hora del diagnóstico realizado por el especialista.

En este trabajo, para las señales de EEG se extraen características estadísticas fundamentales, valores singulares por medio de PCA, que fueron usados para definir el perfil de un paciente. La reducción de dimensión con el PCA mejora el desempeño del LDA. El resultado de la clasificación del EEG es prometedor y una aplicación alterna es un sistema de diagnóstico automático. La técnica de LDA muestra que con una buena caracterización de la señal de EEG y reduciendo los errores externos es una técnica de clasificación comparable en eficiencia con varias técnicas empleadas en el área de inteligencia artificial, que presentan un desempeño similar o ligeramente superior como máquinas con soporte vectorial (SVM), análisis discriminante cuadrático (QDA), k-vecino más cercano (KNN) entre otros. Los resultados obtenidos de una eficiencia aproximada del 80%, *tabla 4*, es alentador y se pretende optimizar el vector característico del EEG para aumentar esta eficiencia.

### Declaración de conflictos de interés

Los autores declaran que en este estudio no existen conflictos de interés relevantes.

### Fuentes de financiamiento

No existieron fuentes de financiamiento para la realización de este estudio científico.



# Referencias

1. Berger H. Über das Elektroenkephalogram des Menschen. Arch f Psychiat 1929; 87: 527-70.
2. Bronzino J.D. Principles of electroencephalography. The biomedical engineering handbook (2nd ed.) CRC Press LLC, Boca Raton, 2000.
3. Kaye J, Morton J, Bowcutt M, Maupin D. Depression: The forgotten diagnosis among hospitalized adults. Journal of Neuroscience Nursing 2000; 32: 9-16.
4. Organização Pan-Americana da Saúde. Organização Mundial da Saúde. Relatório Sobre A Saúde No Mundo 2001: Saúde Mental: Nova Concepção, Nova Esperança. Genebra 2001.
5. Subasi A. Automatic detection of epileptic seizure using dynamic fuzzy neural networks. Expert Systems with Applications 2006; 31: 320-328.
6. Cao LJ, Chua KS, Chong WK, Lee HP, Gu QM. A comparison of PCA, KPCA and ICA for dimensionality reduction in support vector machine. Neurocomputing 2003; 55: 321-336.
7. Subsi A, Gursoy MI. EEG signal classification using PCA, ICA, LDA and support vector machines. Expert Systems with Applications 2010; 37: 8659-8666.
8. AEEGS. American Electroencephalographic Society guidelines for standard electrode position nomenclature. J Clin Neurophysiol 1991; 8: 200-202.
9. Towle VLV, Bolaños J, Suarez D, Tan K, Grzeszczuk R, Levin ND, et al. The spatial location of EEG electrodes: locating the best-fitting sphere relative to cortical anatomy. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology 1993; 86: 1-6.
10. American Psychiatric Association [APA]. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 4th. ed. Washington DC: APA. 1994.
11. Organización Mundial de la Salud. Clasificación estadística internacional de enfermedades y problemas relacionados con la salud. Rev. v.3. Washington, D.C. OPS. 1995.
12. Lotte F, Congedo M, Lécuyer A, Lamarche F, Arnaldi B. A review of classification algorithms for EEG-based brain-computer interfaces. J Neural Eng 2007; 4: R1-R13.
13. Parra LC, Spence CD, Gerson AD, Sajda P. Recipes for the linear analysis of EEG. NeuroImage 2005; 28: 326-341.
14. Acharya UR, Sree SV, Chuan-Alvina AP, Suri JS. Use of principal component analysis for automatic classification of epileptic EEG activities in wavelet framework. Expert Systems with Applications 2012; 39: 9072-9078.
15. Sabeti M, Katebi SD, Boostani R, Price GW. A new approach for EEG signal classification of schizophrenic and control participants. Expert Systems with Applications 2011; 38: 2063-2071.
16. Lehmann C, Koenig T, Jelic V, Prichep L, John RE., Wahlund LO et al. Application and comparison of classification algorithms for recognition of Alzheimer's disease in electrical brain activity (EEG). Journal of Neuroscience Methods 2007; 161: 342-350.
17. Rodriguez-Siek KE, Giddings CW, Doetkott C, Johnson TJ, Fakhr MK, Nolan LK. Comparison of Escherichia coli isolates implicated in human urinary tract infection and avian colibacillosis. Microbiology 2005; 151: 2097-2110.