



Acta Médica Peruana

ISSN: 1018-8800

fosores@cmp.org.pe

Colegio Médico del Perú

Perú

Izaguirre-González, Allan I.; Amalia Rivas, Beatriz; de Azalea Girón, Flor; Henríquez, Diana Theresa

Colitis seudomembranosa como hallazgo posmortem en paciente pediátrico. Reporte de caso

Acta Médica Peruana, vol. 33, núm. 4, octubre-diciembre, 2016, pp. 317-321

Colegio Médico del Perú

Lima, Perú

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=96650072010>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Colitis seudomembranosa como hallazgo posmortem en paciente pediátrico. Reporte de caso

Pseudomembranous colitis as postmortem finding in pediatric patient. Case report

Allan I. Izaguirre-González^{1,4}, Beatriz Amalia Rivas², Flor de Azalea Girón³, Diana Theresa Henríquez⁴

1 Clínicas Médicas Emanuel, Comayagua, Honduras.

2 Postgrado de Anatomía Patológica, Universidad Nacional Autónoma de Honduras. Tegucigalpa, Honduras.

3 Departamento de Patología, Hospital Escuela Universitario. Tegucigalpa, Honduras.

4 Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional Autónoma de Honduras.

Correspondencia

Allan Iván Izaguirre González
a1_izaguirre@hotmail.com

Recibido: 24/08/2016

Aprobado: 23/11/2016

Citar como: Izaguirre-González AI, Rivas BA, Girón FA, Henríquez DT. Colitis seudomembranosa como hallazgo posmortem en paciente pediátrico. Reporte de caso. Acta Med Peru. 2016;33(4):317-21

RESUMEN

La colitis seudomembranosa es una severa y a veces mortal afección que puede ocurrir tras la administración de antibióticos y supresión de la flora intestinal normal, seguida de colonización por *Clostridium difficile*; se caracteriza por la inflamación aguda y presencia de seudomembranas necróticas en la mucosa colónica. Se presenta el caso de un paciente varón de nueve años de edad, proveniente de una zona rural de Honduras, con antecedente de fiebre intermitente de cuatro semanas de evolución, escalofríos, mialgias, náuseas e ictericia de una semana de evolución. Atendido previamente en Centro de Atención Primaria, fue tratado con antipiréticos, sin mejoría. Al examen físico el paciente estaba lúcido, se halló hipotensión, taquicardia, y fiebre; dolor abdominal epigastrio y ambos hipocondrios a la palpación superficial y profunda, hepatomegalia, ictericia, petequias. En los exámenes de laboratorio se encontraron pancitopenia severa, falla renal aguda, trastornos hidroelectrolíticos e hipoalbuminemia. Fue ingresado al servicio de urgencias pediátricas. Luego de una mala evolución clínica, falleció diecinueve después del ingreso. La autopsia reveló seudomembranas necróticas colónicas e imagen histológica de tipo volcán compatibles con colitis seudomembranosa.

Palabras clave: Enterocolitis seudomembranosa; Choque séptico; Pediatría; Autopsia (fuente: DeCS BIREME).

ABSTRACT

Pseudomembranous colitis is a severe and often fatal condition that may occur after the administration of some antimicrobial agents. There is suppression of the normal intestinal flora, followed by colonization by Clostridium difficile; and this condition is characterized by acute inflammation and presence of necrotic tissue pseudomembranes in the colon mucosa. We present the case of a nine-year-old boy from a rural area in Honduras, with a history of intermittent fever lasting four weeks, accompanied by chills, myalgia, nausea, and jaundice in the last week. He was previously seen in a primary care center with antipyretics, without improvement. The physical examination showed a lucid patient with hypotension, tachycardia, and fever; epigastric and bilateral hypochondrial abdominal pain on superficial and deep palpation was evidenced. Hepatomegaly, jaundice, and petechiae were also found. Laboratory tests showed severe pancytopenia, acute renal failure, hydroelectrolytic disturbances, and hypoalbuminemia. The patient was admitted to the Pediatric Urgency service. After a poor progression, he passed away nineteen days after admission. The necropsy showed necrotic pseudomembranes in the colon and a histological image resembling the shape of a volcano, compatible with pseudomembranous colitis.

Keywords: Enterocolitis, pseudomembranous; Shock, septic; Pediatrics; Autopsy (source: MeSH NLM).

INTRODUCCIÓN

La colitis seudomembranosa (CSM) constituye una severa y muchas veces mortal afectación que ocurre tras la administración indiscriminada de antibióticos; se caracteriza por una inflamación aguda de la mucosa del colon y presencia de seudomembranas de tejido necrótico, tras la supresión antibiótica de la flora normal y consecuente la proliferación del bacilo *Clostridium difficile* [1,2].

El *Clostridium difficile* (CD) es un bacilo Gram positivo, formador de esporas, que forma parte de la microbiota intestinal normal en 1-3% de los adultos sanos. El primer caso de CSM se reportó en 1893, y su relación con el uso prolongado de antibióticos fue descrito por primera vez en 1974 en asociación a clindamicina [3].

Estadísticamente, entre el 3 y 29% de los pacientes que reciben un tratamiento antibiótico desarrollan diarrea. El CD es la causa más frecuente de diarrea infecciosa posantibiótica (10-25%), colitis postratamiento antibiótico (50-75%) y de los casos de colitis seudomembranosa (90-100%) en países desarrollados, aumentando así la tasa de morbi-mortalidad [4].

Mundialmente la incidencia de diarrea asociada a *C. difficile* se estima entre el 0,6% - 2,1% de todos los pacientes hospitalizados, independientemente de la edad, y la tasa de mortalidad se estima entre 1 y 5%; aunque en los niños la colonización es superior a los adultos, alcanzando un promedio de hasta 37% (rangos entre 25-80%), estos son considerados como una población de bajo riesgo para desarrollar enfermedad. En el pasado la diarrea asociada a CD usualmente afectaba a pacientes hospitalizados, sin embargo, actualmente han aumentado los casos en pacientes sin factores de riesgo, adultos sanos e incluso algunos que nunca han estado expuestos a servicios prestadores de salud [5,6].

REPORTE DE CASO

Se presenta el caso de un escolar masculino de nueve años de edad, procedente de zona rural del departamento de Choluteca, Honduras, con antecedente de fiebre de cuatro semanas de

evolución, intermitente, acompañado de escalofríos, mialgias, artralgias, náuseas y malestar general. Además de ictericia de una semana de evolución. Cuadro por el cual fue atendido previamente en un Centro de Atención Primaria donde fue tratado con antipirético sin presentar mejoría. Al examen físico se halló: presión arterial: 80/60 mmHg, presión arterial media: 66,6 mmHg, frecuencia cardiaca: 110x', frecuencia respiratoria: 30x', temperatura: 38,5 °C (oral), saturación de oxígeno: 98%. Al examen preferencial, aparato respiratorio: taquipnea moderada; abdomen: presencia de petequias, dolor a la palpación superficial y profunda en región epigástrica e hipocondrios, sin signos de irritación peritoneal, hepatomegalia aproximadamente de cuatro centímetros por debajo de reborde costal derecho; extremidades: pulsos periféricos no palpables; neurológico: lúcido, despierto, fuerza y reflejos osteotendinosos conservados en todas las extremidades. Resto de examen físico sin alteración.

Se realizó biometría hemática que reportó pancitopenia severa (leucopenia, trombocitopenia y anemia). La química sanguínea reportó falla renal aguda, hipertransaminasemia, trastornos hidroelectrolíticos (hiponatremia, hipokalemia), e hipoalbuminemia. A su vez se realizó ecografía abdominal el cual evidenció la presencia de hepatoesplenomegalia y signos de edema (Figura 1).

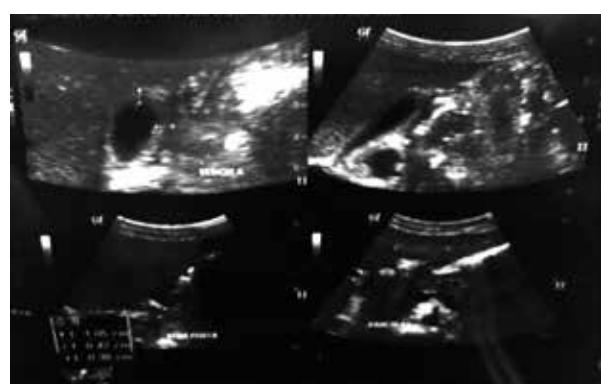


Figura 1. Ultrasonido abdominal que evidencia la presencia de hepatoesplenomegalia y signos de edema.

El paciente ingresó por el servicio de urgencias pediátricas. El tratamiento inicial consistió en antibioticoterapia con cefalosporinas de tercera generación (ceftriaxona), lincosaminas (clindamicina) y antimicótico (fluconazol), aminas vasoactivas (norepinefrina) y reposición hídrica. Luego de 48 horas, el paciente estuvo en mal estado general, presentando alteraciones conductuales, agitación psicomotriz y alucinaciones auditivas; dicho cuadro fue clasificado como encefalopatía hipóxica secundaria a anemia severa, misma que se resolvió con la transfusión de hemoderivados.

Al quinto día del ingreso intrahospitalario, se realizó interconsulta con el servicio de hematooncología debido a la presencia de adenopatías múltiples de predominio axilar e inguinal. Se realizó aspirado de medula ósea que mostró hipoplasia medular, sin presencia de blastos, cuadro secundario a probable etiología infecciosa. Se realizaron exámenes adicionales (gota gruesa, serología por VIH, hepatitis A, B, C, virus Epstein Barr, citomegalovirus, antígenos febres,) los cuales no evidenciaron alteraciones contribuyentes. Diecinueve días posteriores al ingreso, el paciente presentó muy mala progresión clínica, con datos de hipoxia e insuficiencia respiratoria, por lo que fue trasladado a la unidad de cuidados intensivos pediátricos. Veinticuatro horas posteriores a su traslado, el paciente progresó a falla ventilatoria y finalmente falleció. Los diagnósticos clínicos fueron: choque séptico, falla ventilatoria, sepsis de foco gastrointestinal y pancitopenia en estudio.

En la autopsia realizada se evidenciaron hallazgos macroscópicos de derrame pleural bilateral, hepatomegalia (peso: 1900 gr; valor normal (VN): 1400-1600 gr), esplenomegalia (peso: 600 gr; VN: 150-200 gr), ambos riñones con superficie externa irregular, presencia de cicatrices y lesión hemorrágica. Intestino Grueso: mucosa amarillenta blanquecina con pliegues formados de aspecto hemorrágico, bilesional, una de aspecto puntiforme que miden aproximadamente $0,3 \times 0,3$ mm y otras que forman placas grisáceas de consistencia blanda homogéneas con entremezclado material fibroso (Figura 2).

Entre los hallazgos microscópicos: pulmón derecho con presencia de congestión alveolar, edema leve y focal, hemorragia y congestión intraalveolar generalizada; en parénquima se observó engrosamiento fibroso, macrófagos fagocitando neutrófilos y hematíes intraalveolares. En los riñones se observó congestión glomerular y capilar, necrosis tubular, infiltrado inflamatorio de tipo linfocitario a nivel del intersticio con distribución focal a nivel del parénquima. Hígado con presencia de infiltrado inflamatorio linfocítico moderado periportal, lobulillo con inflamación portal leve y congestión sinusoidal. Bazo congestivo y con leve infiltrado inflamatorio tipo linfocitario en el parénquima. En intestino grueso se observaron focos hemorrágicos con pérdida de la continuidad del epitelio, áreas sugestivas de erosión, edema a nivel de la mucosa, acumulaciones focales de polimorfonucleares con áreas de necrosis epitelial parcheadas y exudación de fibrina y neutrófilos en la luz colónica, alternándose con otras lesiones conocidas como tipo volcán (Figura 2). Se dio el diagnóstico final de colitis seudomembranosa.

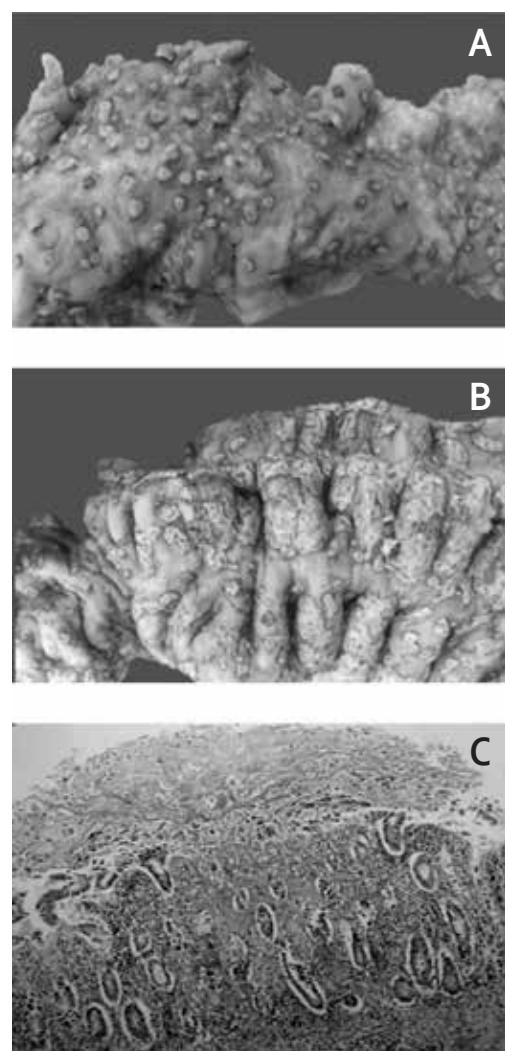


Figura 2. A. Lesiones elevadas umbilicadas de $0,3 \times 0,3$ mm, de color gris, al corte de consistencia blanda. B. Seudomembranas de coloración marrón, opacas, distribuidas de forma difusa en todo el colon, con pliegues formados de aspecto hemorrágico. C. Tejido de colon (H/E): lesiones focales compuestas por células polimorfonucleares, con áreas de necrosis epitelial parcheadas y exudación de fibrina y neutrófilos en la luz colónica, conocidas como "tipo volcán".

DISCUSIÓN

El cuadro clínico de esta enfermedad resulta del compromiso intestinal producto de la producción de toxinas, y va desde una infección asintomática hasta una colitis fulminante. El síntoma principal de la infección causada por *Clostridium difficile* es la diarrea acuosa, dolor abdominal tipo cólico, fiebre, náuseas, distensión abdominal y compromiso del estado general; sin embargo, es importante considerar que hasta un 20% de los casos graves debutan sin diarrea sino como abdomen agudo, íleo, signos sépticos y falla multiorgánica [1,7,8]. En este caso el paciente presentó algunos de estos síntomas, pero no debutó con evacuaciones diarreicas.

Puede clasificarse en enfermedad leve o moderada cuando se presenta diarrea con o sin sangre y mucosidad, sin cumplir criterios de gravedad; y enfermedad grave que puede o no tener complicaciones como ileo paralítico o megacolon tóxico, deshidratación, alteraciones hidroelectrolíticas, perforación intestinal, falla renal, choque, sepsis y finalmente la muerte [2,9,10]. Algunas de estas complicaciones fueron evidenciadas mediante la clínica y el apoyo laboratorial, progresando a mortalidad por la mala evolución clínica.

La definición de colitis fulminante no está bien establecida. La primera definición de 1950 la describía como una colitis aguda grave y rápidamente progresiva con desenlace fatal en el primer año. Generalmente se acepta que este término hace referencia a una inflamación aguda grave del colon asociada a toxicidad sistémica, con o sin dilatación cólica. En la colitis ulcerosa según los criterios diagnósticos de Truelove y Witts, se define la colitis grave cuando los pacientes presentan más de seis deposiciones sanguinolentas diarias, taquicardia, hipotensión, fiebre elevada, cambios del estado mental, anemia que requiere transfusión, dolor y distensión abdominal, y alteraciones hidroelectrolíticas. Las causas más frecuentes de colitis fulminantes son la colitis ulcerosa y la colitis infecciosa, si bien se han comunicado casos producidos por la enfermedad de Crohn, colitis isquémica, colitis por irradiación, colitis inducida por fármacos o por vasculitis [11].

Existen signos de colitis grave; aun en aquellos pacientes con diarrea asociada a *Clostridium difficile* (DACP) y dos o más de los siguientes criterios. *Clínicos*: fiebre (temperatura $>38,5^{\circ}\text{C}$), escalofríos; inestabilidad hemodinámica incluyendo signos de shock séptico; signos de peritonitis, incluyendo disminución marcada de los ruidos abdominales; distención abdominal, defensa abdominal; signos de ileo, incluyendo vómitos y ausencia de expulsión de heces). *Analíticos*: leucocitosis (recuento $>15\,000$ o $<5\,000/\text{mm}^3$), desviación izquierda, albuminemia ($<2,5\,\text{mg/dL}$), aumento de la creatinina ($>50\%$ por encima de la basal), aumento de lactato sérico. *Imagenológicos*: presencia de colitis seudomembranosa en la endoscopia, distensión del colon en radiografía simple o tomografía abdominal, engrosamiento de la pared abdominal, atenuación de la grasa pericólica o ascitis no explicada por otras causas. Asimismo la presencia de complicaciones, al menos una de las siguientes condiciones: colitis pseudomembranosa en endoscopia o histopatología, intervención quirúrgica como consecuencia de DACD, perforación gastrointestinal, megacolon tóxico, neumatosis intestinal o necesidad de ingreso a unidad de cuidados intensivos al momento del diagnóstico o reingreso en los dos días posteriores al diagnóstico [2,4]. Cabe mencionar que el paciente no presentó ninguna de estas complicaciones, sin embargo, mostró varios criterios clínicos y analíticos que se reflejaron en dicho cuadro.

La presencia de comorbilidades es frecuente en niños con DACD ya que se ven expuestos a mayor número de hospitalizaciones, mayor uso de antimicrobianos, inmunosupresores y otros factores que alteran la microbiota intestinal [12]. También se han descrito brotes de DACD que afectan a grupos de población considerados como de riesgo bajo (jóvenes de la comunidad,

puérperas, niños mayores de dos años, etc.) [13]. Es importante destacar que no todos los individuos colonizados desarrollan enfermedad por *C. difficile*, debido a que la patogenicidad de esta bacteria está directamente relacionada con la expresión de sus factores virulencia, asociado a la competencia inmunitaria del huésped [14].

Existen factores de riesgo *modificables* como la exposición previa a antibióticos, supresión de la acidez gástrica, uso prolongado de sonda nasogástrica, nasoyeyunal o gastrostomía, hospitalización reciente; y *no modificables* como cáncer/ quimioterapia, trasplante de precursores hematopoyéticos, hipogammaglobulinemia, trasplante de órganos sólidos, enfermedad de Hirschsprung, enfermedad inflamatoria intestinal y fibrosis quística [2,15-19]. Otros factores de riesgo son la presencia de comorbilidades, cirugía del tracto digestivo y uso de inhibidores de la bomba de protones [2,3].

En los pacientes pediátricos estas complicaciones son muy infrecuentes. Para establecer el diagnóstico es importante la sospecha clínica al igual que las pruebas complementarias; la endoscopia baja es útil en el diagnóstico, en ésta se puede encontrar seudomembranas de dos a diez milímetros, que pueden ser confluentes, aunque estas pueden no estar en todas las áreas del colon, son patognomónicas de CSM por *Clostridium difficile*, también puede observarse una mucosa intestinal friable e hiperémica; independientemente de la edad del paciente [6,20,21]. Sin embargo, cuando la diarrea es el único síntoma en un paciente hospitalizado, debe hacer pensar en la posibilidad de infección por CD [22].

Histológicamente se han descrito tres grados de lesión en CSM. En el *tipo I*, lesión inicial, se pueden apreciar acumulaciones focales de polimorfonucleares con áreas de necrosis epitelial parcheadas y exudación de fibrina y neutrófilos en la luz colónica. La lesión *tipo II*, también denominada «tipo volcán», presenta un exudado más prominente que se origina de un área de ulceración epitelial, manteniéndose intacta la mucosa circundante. Finalmente, el *tipo III* consiste en la necrosis epitelial difusa (no focal como sucedía en los tipos anteriores), cubierta por una seudomembrana formada por células polimorfonucleares, fibrina y detritus celulares [23]. Este hallazgo microscópico fue compatible con las lesiones encontradas *posmortem*.

También deben tenerse en cuenta todos los diagnósticos diferenciales, entre ellos los más comunes el síndrome de colon irritable, enfermedad celiaca, megacolon tóxico, enfermedad inflamatoria del colon y otras infecciones abdominales causadas por *Klebsiella oxytoca*, *Clostridium perfringens* y *Staphylococcus aureus* [24,25].

Los hallazgos en tomografía se consideran bastante certeros, entre los signos se encuentran: dilatación colónica, signo de Target y engrosamiento difuso de las haustras del colon (signo del acordeón) [9]. La Asociación Americana de Pediatría recomienda el tratamiento con metronidazol en caso de enfermedad leve a moderada y en casos de enfermedad grave está indicado el tratamiento con vancomicina; la cirugía

(colectomía) está indicada en el caso de colitis fulminante que no responde al tratamiento médico [9,10].

Fuente de financiamiento: El presente estudio ha sido autofinanciado por los autores.

Declaración de conflictos de intereses: Los autores declaran no tener conflictos de interés con respecto a la publicación del presente estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. González-Abad MJ, Alonso-Sanz M. New methodological advances: Algorithm proposal for management of *Clostridium difficile* infection. *Rev Esp Quimioter.* 2015;28(3):157-9.
2. Rodríguez P, Cofré J. Diarrea asociada a *Clostridium difficile* en niños. *Rev Chil Infectol.* 2015;32(5):550-8.
3. Goudarzi M, Seyedjavadi SS, Goudarzi H, Mehdizadeh Aghdam E, Nazeri S. *Clostridium difficile* infection: epidemiology, pathogenesis, risk factors, and therapeutic options. *Scientifica.* 2014;(2014):1-9. doi: 10.1155/2014/916826.
4. Alarcón Fernández O, Sicilia Aladrén B. Diarrea postantibiótica. Colitis por *Clostridium difficile*. En: Ponce García J. (Ed.) Tratamiento de las Enfermedades Gastroenterológicas. 3º ed. Madrid: Elsevier; 2011. p. 213-21.
5. Wendt JM, Cohen JA, Mu Y, Dumyati GK, Dunn JR, Holzbauer SM, et al. *Clostridium difficile* infection among children across diverse us geographic locations. *Pediatrics.* 2014;133(4):651-8.
6. Canales-Simón MR, Gil de Gómez-Barragán MJ, Vázquez Medrano AM. Colitis pseudomembranosa en atención primaria. *Semergen.* 2010;36(10):593-6.
7. Meyer L, Espinoza R, Quera R. Infección por *Clostridium difficile*: epidemiología, diagnóstico y estrategias terapéuticas. *Rev Med Clin Condes.* 2014;25(3):473-84.
8. García Balmaseda A, Aguiar García A. Colitis asociada a infección por *Clostridium difficile*. *Rev Cub Med Int Emerg.* 2016;15(3):19-22.
9. Ross RG, Esperguel GC, Bannura CG, Gabler NF. Colitis fulminante asociada a *Clostridium difficile*. *Rev Chil Cir.* 2012;64(4):383-6.
10. Brady MT, Byington CL, Davies HD, Edwards KM, Glode MP. *Clostridium difficile* infection in infants and children. *Pediatrics.* 2013;131(1):196-200.
11. Ferrer Márquez M, Hernández Martínez A, Reina Duarte A, Rosado Cobián R. Estado actual del tratamiento de la colitis fulminante. *Cir Esp.* 2015;93(5):276-82.
12. Loo VG, Bourgault A M, Poirier L, Lamothe F, Michaud S, Turgeon N, et al. Host and pathogen factors for *Clostridium difficile* infection and colonization. *N Engl J Med.* 2011;365(18):1693-703.
13. Rodríguez-Pardoa D, Mirelis B, Navarro F. Infecciones producidas por *Clostridium difficile*. *Enferm Infect Microbiol Clin.* 2013;31(4):254-63.
14. Instituto de Salud Pública. Vigilancia de Laboratorio de *Clostridium difficile*. Chile, 2012-2013. *Boletín ISP.* 2014;4(4):1-19.
15. Pothoulakis C, Lamont JT. Microbes and microbial toxins: paradigms for microbial mucosal interactions II. The integrated response of the intestine to *Clostridium difficile* toxins. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2001;280(2):178-83.
16. Chopra T, Alangaden G J, Chandrasekar P. *Clostridium difficile* infection in cancer patients and hematopoietic stem cell transplant recipients. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2010;8(2):1113-9.
17. Castañeda S, García A, Jaimes de la Hoz P, Jaramillo L, Perilla M A, Méndez M, et al. Enterocolitis asociada a enfermedad de Hirschsprung. Experiencia en un hospital universitario pediátrico. *Cir Pediatr.* 2014;27(2):78-83.
18. Ramos-Martínez A, Ortiz-Balbuena J, Curto-García I, Asensio-Vegas I, Martínez-Ruiz R, Muñoz-Rubio E, et al. Factores de riesgo de diarrea por *Clostridium difficile* en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal. *Rev Esp Enferm Dig.* 2015;107(1):4-9.
19. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, McDonald LC, et al. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infections in adults: 2010 update by the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) and the Infectious Diseases Society of America (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2010;31(5):431-55.
20. Perry Hookman, Jamie S Barkin. *Clostridium difficile* associated infection, diarrhea and colitis. *World J Gastroenterol.* 2009;15(13):1554-80.
21. Canales-Simón MR, Gil de Gómez-Barragán MJ, Vázquez Medrano AM. Colitis pseudomembranosa en atención primaria. *Semergen.* 2010;36(10):593-6.
22. Cho SM, Lee JJ, Yoon HJ. Clinical risk factors for *Clostridium difficile*-associated diseases. *Braz J Infect Dis.* 2012;16(3):256-61.
23. García López S. y Gomollón F. Colitis seudomembranosa. *Gastroenterol Hepatol.* 1998;21(6):302-13.
24. Mulherin DW, Hutchison AM, Thomas GJ, Hansen RA, Childress DT. Concordance of the SHEA/IDSA Severity classification and the ATLAS bedside scoring system in hospitalized adult patients. *Infection.* 2014;42(6):999-1005.
25. Varela D, Bu Figueroa E. Colitis Pseudomembranosa. Presentación de un caso y revisión de literatura. *Rev Med Honduras.* 2014;82(2):63-7.