



CrossMark

## Recommandations sur l'utilisation des nouveaux outils diagnostiques étiologiques des infections respiratoires basses de l'enfant de plus de trois mois

Recommandations for the use of diagnostic testing in low respiratory infection in children older than 3 months

V. Houdouin<sup>a,\*,1</sup>, G. Pouessel<sup>b,5,1</sup>, F. Angoulvant<sup>c,1</sup>, J. Brouard<sup>d,1</sup>, J. Derelle<sup>e</sup>, M. Fayon<sup>f,1</sup>, A. Ferroni<sup>g,1</sup>, J.-P. Gangneux<sup>h,1</sup>, I. Hau<sup>i,1</sup>, M. Le Bourgeois<sup>j,1</sup>, M. Lorrot<sup>k,1</sup>, J. Menotti<sup>l,1</sup>, N. Nathan<sup>m,1</sup>, A. Vabret<sup>n,1</sup>, F. Wallet<sup>o,1</sup>, S. Bonacorsi<sup>p,2</sup>, R. Cohen<sup>q,2</sup>, J. de Blic<sup>r,2</sup>, A. Deschildre<sup>s,2</sup>, V. Gandemer<sup>t,2</sup>, I. Pin<sup>u,2</sup>, A. Labbe<sup>v,2</sup>, P. Le Roux<sup>w,2</sup>, A. Martinot<sup>x,2</sup>, B. Rammaert<sup>y,2</sup>, Groupe de recherche sur les avancées en pneumo-pédiatrie (GRAPP), J.-C. Dubus<sup>z</sup>, C. Delacourt<sup>aa</sup>, C. Marguet<sup>ab</sup>

<sup>a</sup> *Inserm U1016, service des maladies digestives et respiratoires de l'enfant, hôpital universitaire Robert-Debré, université Paris Diderot, AP-HP, Paris, France*

<sup>b</sup> *Service de pédiatrie, centre hospitalier de Roubaix, Roubaix, France*

<sup>c</sup> *Inserm CIE5, service d'accueil des urgences pédiatriques, unité d'épidémiologie clinique, hôpital Robert-Debré, AP-HP, Paris, France*

<sup>d</sup> *EA4655 U2RM, service de pédiatrie médicale, CHU de Caen, Caen, France*

<sup>e</sup> *Service de médecine infantile et de génétique clinique, Hôpital d'enfants, Vandœuvre-lès-Nancy, France*

<sup>f</sup> *Département pédiatrique, centre d'investigation clinique (CIC 0005), CHU de Bordeaux, Bordeaux, France*

<sup>g</sup> *Service de microbiologie, hôpital universitaire Necker-Enfants-Malades, Paris, France*

<sup>h</sup> *Service de parasitologie-mycologie, hôpital Pontchaillou, CHU de Rennes, Rennes, France*

<sup>i</sup> *Service de pédiatrie, centre hospitalier intercommunal de Créteil, Créteil, France*

<sup>j</sup> *Service de pneumologie et allergologie pédiatriques, hôpital universitaire Necker-Enfants-Malades, AP-HP, Paris, France*

<sup>k</sup> *Inserm CIE5, service de pédiatrie générale, hôpital universitaire Robert-Debré, université Paris Diderot, AP-HP, Paris, France*

<sup>l</sup> *Service de parasitologie-mycologie, hôpital Saint-Louis, université Paris Diderot, AP-HP, Sorbonne Paris Cité, Paris, France*

<sup>m</sup> *Service de pneumologie pédiatrique, hôpital universitaire Armand-Trousseau, AP-HP, Paris, France*

<sup>n</sup> *EA4655 U2RM, service de virologie, CHU de Caen, Caen, France*

<sup>o</sup> *Service de bactériologie, institut de microbiologie, centre de biologie et pathologie, CHU de Lille, Lille, France*

<sup>p</sup> *Inserm CIE5, service de microbiologie, hôpital universitaire Robert-Debré, université Paris Diderot, AP-HP, Paris, France*

<sup>q</sup> *Service de microbiologie, centre hospitalier intercommunal de Créteil, Créteil, France*

<sup>r</sup> *Service de pneumologie et allergologie pédiatriques, hôpital universitaire Necker-Enfants-Malades, Paris, France*

<sup>s</sup> *Unité de pneumologie et allergologie, clinique de pédiatrie, hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, Lille, France*

<sup>t</sup> *Unité d'hémo-oncologie et greffes de moelle, UMR 6290, CHU Hôpital Sud, université de Rennes-1, Rennes, France*

<sup>u</sup> *Inserm U823, pédiatrie, CHU de Grenoble, université Joseph-Fourier, Grenoble, France*

<sup>v</sup> *Service des urgences pédiatriques, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France*

<sup>w</sup> *Service de pédiatrie, groupe hospitalier, Le Havre, France*

<sup>x</sup> *Clinique de pédiatrie, CHRU de Lille, université de Lille-2, Lille, France*

<sup>y</sup> *Service des maladies infectieuses et tropicales, institut Imagine, hôpital Necker-Enfants-Malades, université Paris-Descartes, Sorbonne Paris Cité, AP-HP, Paris, France*

<sup>z</sup> *Unité de pneumo-pédiatrie, CNRS URMITE 6236, CHU Timone-Enfants, Marseille, France*

<sup>aa</sup> *Service de pneumologie et allergologie pédiatriques, hôpital universitaire Necker-Enfants-Malades, AP-HP, Paris, France*

<sup>ab</sup> *Pneumologie et allergologie pédiatrique, CHU Charles-Nicole, université de Rouen, Rouen, France*

Disponible en ligne sur

**ScienceDirect**

www.sciencedirect.com

\* Auteur correspondant.

e-mail : veronique.houdouin@rdp.aphp.fr (V. Houdouin).

<sup>1</sup> Groupe de pilotage.

<sup>2</sup> Groupe de cotation.

## Summary

Recommendations for the use of diagnostic testing in low respiratory infection in children older than 3 months were produced by the Groupe de Recherche sur les Avancées en Pneumo-Pédiatrie (GRAPP) under the auspices of the French Paediatric Pulmonology and Allergology Society (SP<sup>2</sup>A). The Haute Autorité de santé (HAS) methodology, based on formalized consensus, was used. A first panel of experts analyzed the English and French literature to provide a second panel of experts with recommendations to validate. Only the recommendations are presented here, but the full text is available on the SP<sup>2</sup>A website.

© 2014 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

## Résumé

Le groupe de recherche sur les avancées en pneumo-pédiatrie (GRAPP) a élaboré en 2013 des recommandations sur l'utilisation des nouveaux outils diagnostiques dans les infections respiratoires basses de l'enfant de plus de trois mois. Ces recommandations sont présentées ici en un texte court, le texte long est disponible sur le site de la Société française de pédiatrie [www.sfpediatrie.com](http://www.sfpediatrie.com) et de la Société pédiatrique de pneumologie et d'allergologie (SP<sup>2</sup>A) [www.sp2a.fr](http://www.sp2a.fr).

© 2014 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

## 1. Introduction et méthodes

L'apparition de nouveaux outils de diagnostic des infections respiratoires basses de l'enfant (IRB) nécessite une réflexion sur la pertinence de leur utilisation dans la prise en charge thérapeutique. La Société pédiatrique de pneumologie et d'allergologie (SP<sup>2</sup>A) a proposé d'établir des recommandations divisées en cinq volets :

- diagnostic du pneumocoque ;
- diagnostic virologique ;
- diagnostic des germes atypiques (*Mycoplasma pneumoniae* et *Chlamydomphila pneumoniae*) ;
- diagnostic des infections fongiques (pneumocystose et aspergillose invasive) ;
- indications de la procalcitonine (PCT).

Les membres du groupe de pilotage ont fait une étude de la littérature et ont soumis les recommandations à un groupe de cotation selon les bases méthodologiques recommandées par la Haute Autorité de santé (HAS) [1].

## 2. Recommandations sur l'utilisation des nouveaux outils diagnostiques dans les infections respiratoires basses (IRB) à pneumocoque de l'enfant

### 2.1. Prérequis

Pour poser le diagnostic d'infection respiratoire basse à pneumocoque, il faut pouvoir distinguer le portage de l'infection. La réaction par polymérisation en chaîne (PCR), comme la culture, n'est facilement interprétable que sur des prélèvements ne contenant pas le germe de façon commensale : le sang et le liquide pleural. Plusieurs PCR spécifiques du pneumocoque existent en fonction des cibles génétiques choisies, qui ont une sensibilité et une spécificité différentes dans le sang [2–6]. Plusieurs études pédiatriques ont

confirmé l'intérêt de la PCR et du BinaxNOW<sup>®</sup> dans le diagnostic des pleurésies purulentes [7,8].

### 2.2. Recommandations

Les techniques actuelles de recherche du pneumocoque par PCR dans le sang ne sont pas recommandées en routine, car elles n'influencent pas la prise en charge clinique des malades même si elles permettent d'augmenter la sensibilité du diagnostic de pneumonie à pneumocoque (Grade A).

Les techniques actuelles de recherche du pneumocoque par PCR dans les expectorations ne sont pas recommandées (Expert).

Chez l'enfant, le BinaxNOW<sup>®</sup> urinaire n'est pas recommandé en raison de faux positifs liés au portage fréquent et asymptomatique du pneumocoque (Grade A).

Chez l'adolescent, dans un contexte de suspicion de pneumopathie à pneumocoque clinique et radiologique, la recherche de l'antigène soluble urinaire par BinaxNOW<sup>®</sup> peut être une aide pour le diagnostic (Expert).

L'analyse bactériologique classique (examen direct et culture) du liquide pleural doit être réalisée systématiquement en cas d'épanchement pleural associé ou non à une pneumonie (Grade A).

La recherche d'antigènes pneumococciques par BinaxNOW<sup>®</sup> dans le liquide pleural est recommandée pour le diagnostic de pleuro-pneumopathie à pneumocoque chez l'enfant, même après le début des antibiotiques et même chez un enfant vacciné contre le pneumocoque (Grade B).

Si le BinaxNOW<sup>®</sup> et la culture sont négatifs, la réalisation d'une PCR ciblée sur le gène *lytA* du pneumocoque sur le liquide pleural est recommandée pour les laboratoires qui en disposent (Expert).

Si la PCR pour le pneumocoque dans le liquide pleural est négative, la recherche diagnostique pourrait être complétée par la réalisation d'une PCR ADN<sub>r16S</sub> ciblant d'autres germes rencontrés dans les pleurésies de l'enfant (Expert).

### 3. Recommandations sur l'utilisation des nouveaux outils diagnostiques virologiques au cours des IRB de l'enfant de plus de trois mois : évaluation des outils et indications

#### 3.1. Prérequis

En dehors des études épidémiologiques, le diagnostic d'une infection virale n'a d'intérêt que si des conséquences cliniques peuvent être tirées du résultat. L'identification rapide d'un virus peut modifier la prise en charge thérapeutique [5,9]. La performance des tests d'immunofluorescence (IF), des tests de diagnostic rapide (TDR) [10-12] ou des techniques de biologie moléculaire varie en fonction de l'épidémiologie du moment, de la précocité et de la qualité du prélèvement [5,12]. Les techniques de PCR ont pour avantage d'être adaptables à un grand nombre de virus, d'être très sensibles et spécifiques [13].

#### 3.2. Recommandations

Le prélèvement pour la recherche étiologique virale doit être réalisé le plus précocement par rapport au début de l'infection, pour augmenter la sensibilité (Grade A).

L'aspiration nasale ou nasopharyngée est le mode de prélèvement à privilégier pour les tests d'IF et de biologie moléculaire chez les enfants ; l'écouvillonnage risque d'être mal fait chez les enfants en âge préscolaire (Expert).

Si le mode de prélèvement choisi est l'écouvillonnage, il faut privilégier l'écouvillonnage nasal profond (Grade A).

Pour le TDR, l'écouvillonnage doit être effectué de préférence avec un écouvillon floqué, en suivant les recommandations du fabricant (Grade A).

Le choix des TDR de la grippe et leur utilisation sont plus ou moins pertinents et doivent être décidés tous les ans selon les données épidémiologiques fournies par les réseaux de surveillance de la grippe (Grade A).

Le TDR de la grippe doit être réalisé au cours des IRB de l'enfant, en période épidémique, en ambulatoire, aux urgences ou en hospitalisation, si des conséquences immédiates pour l'enfant et son entourage peuvent être tirées d'un résultat positif (Expert).

En hospitalisation, lors de la période épidémique, l'utilisation de l'IF, élargie au maximum de virus respiratoires, est à privilégier par rapport au TDR si le plateau technique le permet et si des conséquences immédiates peuvent être tirées du résultat pour l'enfant et son entourage (Expert).

En hospitalisation, lors de la période épidémique, le diagnostic virologique par biologie moléculaire, est à réaliser si les autres tests diagnostiques viraux sont négatifs et si des conséquences immédiates lors de l'hospitalisation peuvent être tirées du résultat pour l'enfant et son entourage. Celui-ci doit alors utiliser le plus de cibles virales possibles (Expert).

Chez les enfants immunodéprimés, au cours d'une IRB, l'IF puis la PCR multiplex en cas de négativité de l'IF doivent être réalisées (Expert).

### 4. Recommandations sur l'utilisation du dosage de la procalcitonine (PCT) dans le diagnostic des IRB de l'enfant de plus de trois mois : évaluation et indications

#### 4.1. Prérequis

La PCT est un marqueur plus spécifique que la protéine C-réactive (CRP) ou le taux de polynucléaires neutrophiles au cours des infections bactériennes graves de l'enfant. Néanmoins, comme pour les autres marqueurs inflammatoires, il n'existe pas de seuil discriminant de la valeur de la PCT pour distinguer les pneumopathies virales des pneumopathies bactériennes [14-18]. Une seule étude pédiatrique a évalué l'élaboration des stratégies thérapeutiques guidées par la valeur de la PCT dans les infections respiratoires basses de l'enfant [19].

#### 4.2. Recommandations

La PCT, comme les autres marqueurs de l'inflammation (CRP, globules blancs), analysée isolément ou en combinaison à ces autres marqueurs, ne permet pas de poser le diagnostic d'IRB bactérienne ou virale (Grade A).

L'utilisation de la PCT comme élément décisionnel pour instaurer une antibiothérapie et pour évaluer la durée de cette antibiothérapie, comme les autres marqueurs inflammatoires (CRP, globules blancs), devra être confirmée par des études complémentaires chez l'enfant (Grade B).

### 5. Recommandations sur l'utilisation des nouveaux outils diagnostiques dans les infections respiratoires basses de l'enfant de plus de trois mois à *Mycoplasma pneumoniae* et *Chlamydia pneumoniae* : évaluation des outils et indications

#### 5.1. Prérequis

Le diagnostic d'infection respiratoire basse à *M. pneumoniae* ou à *C. pneumoniae* repose habituellement sur l'évolution clinique et la réponse au traitement ; les examens complémentaires ne sont habituellement pas nécessaires. La sérologie pour *M. pneumoniae* permet un diagnostic indirect rétrospectif avec de bonnes sensibilité et spécificité, à la différence de celle pour *C. pneumoniae* [20-22]. Il faut réaliser et interpréter la présence d'un signal PCR positif dans un

contexte d'IRB comme évocateur d'infection à *M. pneumoniae* [21], compte tenu de son portage fréquent [23]. *C. pneumoniae* peut faire partie de la flore commensale oro-pharyngée de l'hôte, rendant délicate l'interprétation de la positivité d'une PCR [24].

## 5.2. Recommandations

Si le diagnostic d'infection à *M. pneumoniae* est nécessaire, les techniques de PCR dans les 7 jours qui suivent le début des symptômes sont celles qui présentent les meilleures sensibilité et spécificité même si elles ne permettent pas de différencier le portage sain de l'infection (Grade A).

Le lavage broncho-alvéolaire (LBA) reste le mode de prélèvement de choix pour la PCR, mais les prélèvements nasopharyngé ou nasal sont également possibles (Grade A).

Si l'évolution le nécessite, l'approche optimale pour le diagnostic d'infection à *M. pneumoniae* est d'associer à la PCR une sérologie prélevée au plus tôt une semaine après le début des symptômes (Expert).

Si la PCR n'a pas été réalisée et si le diagnostic est nécessaire, la sérologie doit être prélevée au plus tôt une semaine après le début des symptômes pour éviter les faux négatifs (Expert). Chez l'enfant, la présence d'immunoglobulines (IgM) signant l'infection aiguë, un deuxième prélèvement n'est pas nécessaire (Expert).

Si à la première sérologie il n'y a pas d'IgM et si le diagnostic est nécessaire, une deuxième sérologie, à la recherche d'IgM et d'IgG, doit être réalisée deux à trois semaines après la première (Grade B).

Actuellement, la sérologie pour *C. pneumoniae* présente une sensibilité et une spécificité insuffisantes pour le diagnostic d'IRB chez l'enfant de plus de trois mois, et n'est pas recommandée (Grade B).

L'amplification génique n'est pas recommandée pour le diagnostic d'IRB à *C. pneumoniae* compte tenu de la faible prévalence de *C. pneumoniae* et du fait que la PCR ne permet pas de différencier portage chronique et infection (Grade B).

## 6. Recommandations sur l'utilisation des nouveaux outils diagnostiques de la pneumocystose de l'enfant dans les infections respiratoires basses de l'enfant de plus de trois mois : évaluation des outils et indications

### 6.1. Prérequis

Les études épidémiologiques de séroprévalence montrent que l'exposition à *Pneumocystis jirovecii* chez l'enfant sain survient précocement avant l'âge de deux ans [25]. La pneumocystose pulmonaire a été décrite chez l'enfant atteint par le virus d'immunodéficience humaine (VIH) [26], mais également au

cours des déficits immunitaires innés ou acquis portant sur la population lymphocytaire T [27,28]. Le diagnostic classique repose sur la mise en évidence microscopique des différentes formes de *Pneumocystis*. En fonction du terrain immunodéprimé, il faut si nécessaire demander un diagnostic par biologie moléculaire [29-31]. Là encore, le diagnostic moléculaire par PCR permet d'améliorer la sensibilité du diagnostic mais elle ne permet pas de différencier colonisation et infection [32].

### 6.2. Recommandations

La recherche de *P. jirovecii* doit être réalisée chez des enfants chez qui il existe des symptômes cliniques évocateurs de pneumocystose pulmonaire et pour lesquels le terrain à risque est connu ou suspecté : déficit immunitaire inné, infection par le VIH, immunosuppression par chimiothérapie, traitement immunosuppresseur, corticothérapie prolongée, greffes d'organes ou de moelle, dénutrition sévère (Grade A).

Le LBA reste le prélèvement de choix pour le diagnostic de pneumocystose pulmonaire, mais l'aspiration nasopharyngée et l'expectoration induite si l'enfant est en âge de la réaliser sont également possibles (Grade C).

La recherche de *Pneumocystis* par diagnostic moléculaire effectué sur écouvillons nasopharyngés et rinçages oropharyngés reste à valider chez l'enfant en cas de suspicion de pneumocystose pulmonaire (Expert).

Chez l'enfant avec une suspicion de pneumonie à *Pneumocystis*, la biologie moléculaire doit être réalisée systématiquement si le diagnostic microscopique est négatif, quel que soit le type de recueil, en dehors du LBA chez l'enfant séropositif pour le VIH pour lequel le diagnostic microscopique seul suffit (grade B).

## 7. Recommandations sur l'utilisation des nouveaux outils diagnostiques pour le diagnostic des infections fongiques invasives à champignons filamenteux responsables d'infections respiratoires basses de l'enfant de plus de trois mois : évaluation des outils et indications

### 7.1. Prérequis

Les pathologies liées à *Aspergillus* spp. dépendent des facteurs sous-jacents : neutropénie, leucémies aiguës, déficits immunitaires primitifs, transplantations, traitements immunosuppresseurs ciblant les lymphocytes T ou corticothérapie au long cours [33-35]. Il faut distinguer 3 marqueurs solubles évalués dans le cadre des infections fongiques invasives : la détection d'antigènes galactomannanes d'*Aspergillus* (GM), la détection d'antigènes bêta-(1-3)-D-glucanes (BG) et la détection d'ADN circulant par PCR [36]. Malgré le nombre de faux positifs, la

majorité des centres pédiatriques réalise la détection d'antigènes GM dans le sang en routine pour le dépistage [37]. Pour la détection d'antigènes bêta-(1-3)-D-glucane (BG) dans le sang l'importance est donnée à sa valeur prédictive négative. La biologie moléculaire sur biopsie tissulaire et même sur LBA, reste un outil de diagnostic sensible et permet une identification moléculaire précise [38].

## 7.2. Recommandations

### 7.2.1. Définitions des patients à risque proposées à partir de l'analyse de la littérature

Patients à très haut risque aspergillaire : neutropénie profonde post-chimiothérapie (polynucléaires neutrophiles (PNN) < 500/mm<sup>3</sup> plus de 14 jours ou < 100/mm<sup>3</sup> quelle que soit la durée), greffe de cellules souches hématopoïétiques, déficits immunitaires combinés sévères, aplasie médullaire sévère (Grade A).

Patients à haut risque : corticothérapie à haute dose dans le cadre du traitement d'une leucémie aiguë lymphoblastique, leucémie aiguë myéloblastique en rechute ou réfractaire, neutropénie post-chimiothérapie d'une durée inférieure à 14 jours, transplantation d'organe solide, granulomatose septique chronique, nouveau-nés en réanimation néonatale (Grade A).

### 7.2.2. Dépistage d'une aspergillose invasive

Le dépistage d'une aspergillose invasive est recommandé chez un enfant à très haut risque (Grade A).

Il est recommandé d'effectuer la détection d'antigènes GM d'*Aspergillus* dans le sérum, 2 fois par semaine, en répétant les mesures si nécessaire (Grade A).

Pour le dépistage d'une aspergillose invasive chez un enfant à très haut risque (hémopathie), en complément d'une détection d'antigènes GM positive, compte tenu des taux élevés de faux positifs, l'utilisation complémentaire de BG dans le sang est recommandée pour augmenter la spécificité de diagnostic d'aspergillose invasive (Grade B).

### 7.2.3. Diagnostic d'une aspergillose invasive

La recherche d'une aspergillose invasive est justifiée chez un enfant à haut risque et très haut risque (Grade A).

Pour le diagnostic d'une aspergillose invasive chez un enfant à haut risque et très haut risque, en plus de la clinique et de l'imagerie, il est recommandé de réaliser la détection d'antigènes GM d'*Aspergillus* dans le sérum et le LBA quand il est disponible (Grade A).

La recherche d'antigènes GM dans le LBA doit alors être associée aux autres techniques de diagnostic mycologique classique (examen direct et culture) (Grade A).

La PCR sur le LBA ou la biopsie pulmonaire peuvent être effectuées en cas de doute sur une culture négative ou de

co-infection, s'il n'existe pas d'autres sites plus accessibles (expert).

## Annexe 1. Matériel complémentaire

La version longue de cette recommandation est disponible sur le site de la Société française de pédiatrie [www.sfpediatrie.com](http://www.sfpediatrie.com), sur le site de Société pédiatrique de pneumologie et d'allergologie (SP<sup>2</sup>A) [www.sp2a.fr](http://www.sp2a.fr), et sur ScienceDirect <http://www.sciencedirect.com>, <http://dx.doi.org/10.1016/j.arcped.2014.01.004>.

## Références

- [1] HAS. Guide méthodologique « Base méthodologiques pour l'élaboration de recommandations professionnelles par consensus formalisé »; 2006 [[www.has-sante.fr](http://www.has-sante.fr)].
- [2] Carvalho Mda G, Pimenta FC, Gertz Jr RE, et al. PCR-based quantitation and clonal diversity of the current prevalent invasive serogroup 6 pneumococcal serotype, 6C, in the United States in 1999 and 2006 to 2007. *J Clin Microbiol* 2009;47:554-9.
- [3] Carvalho Mda G, Tondella ML, McCaustland K, et al. Evaluation and improvement of real-time PCR assays targeting *lytA*, *ply*, and *psaA* genes for detection of pneumococcal DNA. *J Clin Microbiol* 2007;45:2460-6.
- [4] Murdoch DR. Molecular genetic methods in the diagnosis of lower respiratory tract infections. *Apmis* 2004;112:713-27.
- [5] Murdoch DR, Jennings LC, Bhat N, et al. Emerging advances in rapid diagnostics of respiratory infections. *Infect Dis Clin North Am* 2010;24:791-807.
- [6] Avni T, Mansur N, Leibovici L, et al. PCR using blood for diagnosis of invasive pneumococcal disease: systematic review and meta-analysis. *J Clin Microbiol* 2010;48:489-96.
- [7] Le Monnier A, Carbonnelle E, Zahar JR, et al. Microbiological diagnosis of empyema in children: comparative evaluations by culture, polymerase chain reaction, and pneumococcal antigen detection in pleural fluids. *Clin Infect Dis* 2006;42:1135-40.
- [8] Strachan RE, Cornelius A, Gilbert GL, et al. A bedside assay to detect *Streptococcus pneumoniae* in children with empyema. *Pediatr Pulmonol* 2011;46:179-83.
- [9] de La Rocque F, Lecuyer A, Wollner C, et al. Impact des tests de diagnostic rapide de la grippe dans la prise en charge des enfants en période d'épidémie en pédiatrie de ville. *Arch Pediatr* 2009;16:288-93.
- [10] Bradley JS, Byington CL, Shah SS, et al. Executive summary: the management of community-acquired pneumonia in infants and children older than 3 months of age: clinical practice guidelines by the Pediatric Infectious Diseases Society and the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2011;53:617-30.
- [11] Cohen R, Thollot F, Lecuyer A, et al. Impact des tests de diagnostic rapide en ville dans la prise en charge des enfants en période de grippe. *Arch Pediatr* 2007;14:926-31.
- [12] Hurt AC, Alexander R, Hibbert J, et al. Performance of six influenza rapid tests in detecting human influenza in clinical specimens. *J Clin Virol* 2007;39:132-5.
- [13] Reijans M, Dingemans G, Klaassen CH, et al. RespiFinder: a new multiparameter test to differentially identify fifteen respiratory viruses. *J Clin Microbiol* 2008;46:1232-40.

- [14] Diez-Padriza N, Bassat Q, Machevo S, et al. Procalcitonin and C-reactive protein for invasive bacterial pneumonia diagnosis among children in Mozambique, a malaria-endemic area. *PLoS One* 2010;5:e13226.
- [15] Don M, Valent F, Korppi M, et al. Efficacy of serum procalcitonin in evaluating severity of community-acquired pneumonia in childhood. *Scand J Infect Dis* 2007;39:129–37.
- [16] Michelow IC, Olsen K, Lozano J, et al. Epidemiology and clinical characteristics of community-acquired pneumonia in hospitalized children. *Pediatrics* 2004;113:701–7.
- [17] Prat C, Dominguez J, Rodrigo C, et al. Procalcitonin, C-reactive protein and leukocyte count in children with lower respiratory tract infection. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:963–8.
- [18] Schutze H, Forster J, Superti-Furga A, et al. Is serum procalcitonin a reliable diagnostic marker in children with acute respiratory tract infections? A retrospective analysis. *Eur J Pediatr* 2009;168:117–24.
- [19] Esposito S, Tagliabue C, Piccioli I, et al. Procalcitonin measurements for guiding antibiotic treatment in pediatric pneumonia. *Respir Med* 2011;105:1939–45.
- [20] Petitjean-Lecherbonnier J, Vabret A, Gouarin S, et al. Infections à *Mycoplasma pneumoniae* : étude rétrospective en Basse-Normandie de 1997 à 2005. *Épidémiologie : place de la sérologie et de la PCR pour le diagnostic*. *Pathol Biol (Paris)* 2006;54:603–11.
- [21] Dekeyser S, Bonnel C, Martinet A, et al. Importance de la PCR dans la gestion d'une épidémie à *Mycoplasma pneumoniae* au centre hospitalier de Béthune (Pays-de-Calais). *Pathol Biol (Paris)* 2011;59:83–7.
- [22] Burillo A, Bouza E. *Chlamydia pneumoniae*. *Infect Dis Clin North Am* 2010;24:61–71.
- [23] Spuesens EB, Fraaij PL, Visser EG, et al. Carriage of *Mycoplasma pneumoniae* in the upper respiratory tract of symptomatic and asymptomatic children: an observational study. *PLoS Med* 2013;10:e1001444.
- [24] Michelow IC, Olsen K, Lozano J, et al. Diagnostic utility and clinical significance of naso- and oropharyngeal samples used in a PCR assay to diagnose *Mycoplasma pneumoniae* infection in children with community-acquired pneumonia. *J Clin Microbiol* 2004;42:3339–41.
- [25] Vargas SL, Hughes WT, Santolaya ME, et al. Search for primary infection by *Pneumocystis carinii* in a cohort of normal, healthy infants. *Clin Infect Dis* 2001;32:855–61.
- [26] Thomas Jr CF, Limper AH. Pneumocystis pneumonia. *N Engl J Med* 2004;350:2487–98.
- [27] Saltzman RW, Albin S, Russo P, et al. Clinical conditions associated with PCP in children. *Pediatr Pulmonol* 2011;18:21577.
- [28] Huang L, Morris A, Limper AH, et al. An Official ATS Workshop Summary: recent advances and future directions in pneumocystis pneumonia (PCP). *Proc Am Thorac Soc* 2006;3:655–64.
- [29] Huggett JF, Taylor MS, Kocjan G, et al. Development and evaluation of a real-time PCR assay for detection of *Pneumocystis jirovecii* DNA in bronchoalveolar lavage fluid of HIV-infected patients. *Thorax* 2008;63:154–9.
- [30] Flori P, Belleste B, Durand F, et al. Comparison between real-time PCR, conventional PCR and different staining techniques for diagnosing *Pneumocystis jirovecii* pneumonia from bronchoalveolar lavage specimens. *J Med Microbiol* 2004;53:603–7.
- [31] Samuel CM, Whitelaw A, Corcoran C, et al. Improved detection of *Pneumocystis jirovecii* in upper and lower respiratory tract specimens from children with suspected pneumocystis pneumonia using real-time PCR: a prospective study. *BMC Infect Dis* 2011;11:329.
- [32] Vargas SL, Pizarro P, Lopez-Vieyra M, et al. Pneumocystis colonization in older adults and diagnostic yield of single versus paired noninvasive respiratory sampling. *Clin Infect Dis* 2010;50:e19–21.
- [33] Gangneux JP, Camus C, Philippe B. Epidemiology of invasive aspergillosis and risk factors in non neutropaenic patients. *Rev Mal Respir* 2010;27:e34–46.
- [34] Lortholary O, Gangneux JP, Sitbon K, et al. Epidemiological trends in invasive aspergillosis in France: the SAIF network (2005–2007). *Clin Microbiol Infect* 2011;17:1882–9.
- [35] Hatziagorou E, Walsh TJ, Tsanakas JN, et al. Aspergillus and the paediatric lung. *Paediatr Respir Rev* 2009;10:178–85.
- [36] Segal BH, Herbrecht R, Stevens DA, et al. Defining responses to therapy and study outcomes in clinical trials of invasive fungal diseases: Mycoses Study Group and European Organization for Research and Treatment of Cancer consensus criteria. *Clin Infect Dis* 2008;47:674–83.
- [37] Castagnola E, Furfaro E, Caviglia I, et al. Performance of the galactomannan antigen detection test in the diagnosis of invasive aspergillosis in children with cancer or undergoing haemopoietic stem cell transplantation. *Clin Microbiol Infect* 2010;16:1197–203.
- [38] Sun W, Wang K, Gao W, et al. Evaluation of PCR on bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of invasive aspergillosis: a bivariate meta-analysis and systematic review. *PLoS One* 2011;6:e28467.