

# 外周血白细胞计数、淋巴细胞百分比和C-反应蛋白与呼吸道病毒检出率的相关性

杨思园<sup>1</sup> 顾红岩<sup>2</sup> 崔蓉<sup>2</sup> 李辉<sup>3</sup> 李丽<sup>3</sup> 马成杰<sup>1</sup> 汤云霞<sup>1</sup> 于凤婷<sup>1</sup> 王凌航<sup>3</sup>

**【摘要】目的** 回顾性分析外周血白细胞计数(WBC)、淋巴细胞百分比(LYN%)和C-反应蛋白(CRP)与呼吸道病毒检出率的相关性。**方法** 收集2016年11月至2017年12月首都医科大学附属北京地坛医院收治的103例呼吸道感染者自动巢式多重聚合酶链式反应(PCR)系统呼吸道病毒检测结果、一般资料、临床和其他实验室资料,根据患者病毒检出情况分为未检出组和检出组,对两组患者的病原学和WBC、LYN%、CRP进行统计学分析。**结果** 103份鼻咽拭子标本中呼吸道病毒检出率为62.14%(64/103),其中甲型流感病毒检出阳性率最高,为26.21%(27/103);检出组患者咳嗽例数显著多于未检出组( $\chi^2 = 12.898, P < 0.001$ ),发病天数少于未检出组( $t = -2.727, P = 0.008$ ),CRP水平低于未检出组( $t = -1.897, P = 0.016$ );根据C-反应蛋白值将患者分为3组:≤10 mg/L组、10~50 mg/L组和>50 mg/L组,各组患者病毒检出率差异有统计学意义( $\chi^2 = 10.448, P = 0.005$ ),其中C-反应蛋白≤10 mg/L组病毒检出率最高,为77.50%(31/40);受试者工作特征曲线(ROC)分析发现WBC、LYN%和CRP曲线下面积分别为0.565、0.593和0.678,当CRP的Cut-off值为18.2 mg/L时,敏感度和特异度分别为73.3%和64.2%。**结论** 通过自动巢式多重PCR可检出多种呼吸道病毒。当呼吸道感染者早期表现以咳嗽、发热为主,或WBC、LYN%、CRP水平均不高时呼吸道病毒检出的可能性高,可进一步选择自动巢式多重PCR进行呼吸道病毒检测。

**【关键词】** 外周血白细胞计数;淋巴细胞百分比;C-反应蛋白;自动巢式多重PCR;呼吸道病毒

**Correlation of peripheral white blood cell, lymphocyte percentage and C-reactive protein with the detection rate of respiratory viral pathogens** Yang Siyuan<sup>1</sup>, Gu Hongyan<sup>2</sup>, Cui Rong<sup>2</sup>, Li Hui<sup>3</sup>, Li Li<sup>3</sup>, Ma Chengjie<sup>1</sup>, Tang Yunxia<sup>1</sup>, Yu Fengting<sup>1</sup>, Wang Linghang<sup>3</sup>. <sup>1</sup>The Laboratory of Infectious Diseases Centre, <sup>3</sup>Emergency Department, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, 100015 Beijing, China; <sup>2</sup>Department of Respiratory Medicine, the First Hospital of Tsinghua University, Beijing 100016, China  
Corresponding author: Wang Linghang, Email: 13611176751@163.com

**【Abstract】Objective** To investigate the correlation between the detection rate of respiratory viral pathogens with automated nested multiplex PCR system and the infectious indexes such as peripheral white blood cell (WBC), lymphocyte percentage (LYN%) and C-reactive protein (CRP), retrospectively. **Methods** From November 2016 to December 2017, a total of 103 nasopharyngeal swabs and clinical data from patients with respiratory infection were collected in Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University. The pathogens were detected by automated nested multiplex PCR system, and the results was statistically analyzed. **Results** The rate of detection among 103 nasopharyngeal swabs was 62.14% (64/103), and influenza virus had the highest positive rate of 26.21% (27/103). Compared with the virus detected group, the number of patients with cough was significantly larger ( $\chi^2 = 12.898, P < 0.001$ ), the period was shorter ( $t = -2.727, P = 0.008$ ), and the CRP level was lower ( $t = -1.897, P = 0.016$ ), with significant differences. Patients were divided into three groups according to C-reactive protein value: ≤10 mg/L group, 10-50 mg/L group and >50 mg/L group; the virus detection rate among groups with different CRP levels was significantly different

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2018.06.009

基金项目:北京市卫生系统高层次卫生技术人才培养计划(No. 2015-3-109);北京市医院管理局重点医学专业发展计划-新发突发传染病(No. ZYLX201602);国家科技重大专项-急性呼吸道感染病原谱和流行规律及重要病原变异变迁特征研究(No. 2017ZX10103004)

作者单位:100015 北京,首都医科大学附属北京地坛医院感染中心实验室<sup>1</sup>、感染病急诊<sup>3</sup>;100016 北京,清华大学第一附属医院呼吸科<sup>2</sup>

通信作者:王凌航, Email: 13611176751@163.com

( $\chi^2 = 10.448, P = 0.005$ ), and the highest detection rate was 77.50% (31/40) for the group with CRP  $\leq 10$  mg/L. The analysis of the subjects' working characteristics curve (ROC) showed that the area of WBC, LYN% and CRP under the curve were 0.565, 0.593 and 0.678, respectively. When the Cut-off value of CRP was 18.2 mg/L, the sensitivity and specificity were 73.3% and 64.2%, respectively. **Conclusions** Automated nested multiplex PCR system could identify multiple viral respiratory pathogens in short period. When patients with respiratory tract infection characterized by cough and fever in the early stage, or levels of WBC, LYN% and CRP were not high, respiratory tract viral infection may be detected, clinicians could furtherly choose automated nested multiplex PCR system to identify the pathogen.

**【Key words】** Peripheral blood count; C-reactive protein; Detection; Automated nested multiplex polymerase chain reaction; Respiratory viral pathogens

呼吸道病毒感染是人类常见的呼吸道感染之一, 发病率高, 可导致多种并发症, 严重影响人们的日常工作和生活, 在世界范围内是非常严重的公共卫生问题<sup>[1-2]</sup>。因此, 对呼吸道病毒感染的早期、准确诊断尤为重要。自动巢式多重PCR系统(Filmarray呼吸道检测条)为呼吸道感染提供了快速、灵敏度及特异度高、多病原体覆盖的分子生物学诊断依据。本课题组曾使用该检测系统对120例呼吸道感染者样本进行病原检测, 验证了该系统的高灵敏度和特异度, 为临床治疗提供了较明确的病原学依据<sup>[3]</sup>。

但Filmarray呼吸道检测条仅能检测17型呼吸道病毒, 肺炎支原体、肺炎衣原体和百日咳鲍特杆菌3种不典型病原体, 对呼吸道细菌性感染的鉴别能力不足, 而且检测成本较高, 因此在使用该检测前要选择有针对性的患者。但呼吸道病毒感染和细菌感染, 尤其是早期急性感染在症状上难以区分, 故当临床医生判断患者是否适合使用该检测方法时需有相关临床指标进行指导。本研究分析103例呼吸道感染者的临床及常规实验室检测资料, 就不同感染指标水平与该检测系统对呼吸道病毒检出率的相关性进行初步分析, 报道如下。

## 资料与方法

### 一、研究对象

回顾性分析首都医科大学附属北京地坛医院2016年11月至2017年12月收治的12岁以上临床诊断为呼吸道感染者的病原学检测结果, 收集并整理其人口学、病史和临床表现等资料, 记录呼吸道感染症状出现3 d内所检查的血常规和C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)水平。

### 二、试剂与方法

1. 病原学检测试剂: 自动巢式多重PCR系统为Filmarray检测平台(美国BioFire Diagnostics公司)。

该平台的呼吸道测试条(respiratory panel, RP)覆盖腺病毒、冠状病毒(可检出HKU1/NL63/229E/OC43型)、甲型流感病毒(可检出H1/H1-2009/H3亚型)、人类偏肺病毒、副流感病毒(1/2/3/4型)、呼吸道合胞病毒、乙型流感病毒, 人鼻病毒/肠病毒(两病毒核酸序列相似, 最后扩增产物无法区分二者, 阳性结果显示为人鼻病毒/肠病毒)。测试条以粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)组织作为核酸提取和序列扩增的内部质量控制。

2. 方法: 留取患者鼻咽拭子标本, 放入病毒采样管混匀尽快检测。按照检测平台使用说明书, 将500  $\mu$ l裂解液(自带)加入样本制备管后加入300  $\mu$ l样本, 混匀后注入呼吸道测试条; 将1 ml样本缓冲液(自带)注入测试条另一端。将测试条插入机器开始检测, 其中平台检测过程为: 样本核酸提取纯化、cDNA合成、两次PCR反应及荧光曲线判定。测试条对每种病原体内设3个重复孔, 当同时满足: ①两个以上重复孔出现阳性溶解曲线; ②溶解曲线在曲线窗内; ③每条溶解曲线高度相似, 这3个条件时判定病原体为阳性检出。根据是否有病毒检出将患者分为检出组和未检出组。

### 三、统计学处理

使用SPSS 22.0软件进行统计学分析, 年龄、发病天数、体温等计数资料采用频数和率进行统计描述, 组间差异采用卡方检验; 性别、咳嗽、流涕、咽痛等计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 统计描述, 组间差异采用 $t$ 检验; 对检测结果进行受试者工作特征(receiver operating characteristic curve, ROC)曲线分析并确定Cut-off值, 判断敏感度和特异度。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、一般资料及病原学分析

收集行病原学检查的103例呼吸道感染者的临

床资料, 其中病毒检出患者64例, 阳性检出率为62.14% (64/103); 39例患者未检出病原体。两组患者性别、年龄, 发热、流涕和咽痛例数差异均无统计学意义 ( $P$ 均 $> 0.05$ ); 检出组患者发病天数少于未检出组, 差异具有统计学意义 ( $t = -2.727$ 、 $P = 0.008$ ); 检出组患者最高体温高于未检出组患者, 差异具有统计学意义 ( $t = -2.257$ 、 $P = 0.026$ ); 检出组患者咳嗽例数显著多于未检出组, 差异具有统计学意义 ( $\chi^2 = 12.898$ 、 $P < 0.001$ ), 见表1。64例呼吸道病毒检出样本中, 单一病原体阳性检出样本56例, 两种及以上病原体混合检出样本8例, 其中甲型流感病毒阳性检出率最高, 为26.21% (27/103), 病原体检出结果详见图1。

## 二、两组患者WBC、LYN%和CRP水平

检出组和未检出组患者WBC和LYN%水平差异均无统计学意义 ( $t = 1.587$ 、 $P = 0.116$ ,  $t = 1.549$ 、 $P = 0.125$ ); 两组患者CRP水平差异具有统计学意义 ( $t = -1.897$ 、 $P = 0.016$ ), 见表2。

## 三、不同CRP水平患者呼吸道病毒检出率

根据CRP水平将103例患者分为3组: CRP  $\leq 10$  mg/L组、CRP: 10~50 mg/L组、CRP  $> 50$  mg/L组。CRP  $\leq 10$  mg/L组患者病毒检出率最高 (77.50%), 其次为CRP: 10~50 mg/L组 (60.00%), 各组患者间的病毒检出率差异具有统计学意义 ( $\chi^2 = 10.448$ 、 $P = 0.005$ ), 见表3。

## 四、WBC、LYN%和CRP判断呼吸道病毒感染的ROC曲线分析

感染指标WBC、LYN%和CRP判断103例呼吸道病毒感染的ROC曲线下面积分别为0.565、0.593和0.678, 3项指标联合诊断曲线下面积为0.681。当WBC Cut-off值为 $4.145 \times 10^9/L$ 时, 敏感度和特异度分别为92.4%和30.2%; 当LYN% Cut-off值为17.57%时, 敏感度和特异度分别为81.9%和47.2%; 当CRP的Cut-off值为18.2 mg/L时, 敏感度和特异度分别为73.3%和64.2%。3项指标联合诊断敏感性和特异性分别为75.2%和56.6%, 见图2。

表1 呼吸道病毒检出组和未检出组患者的临床资料

临床资料	检出组 (64例)	未检出组 (39例)	统计量	P值
性别 [例 (%)]			$\chi^2 = 0.067$	0.795
男	23 (35.93)	20 (51.28)		
女	41 (64.06)	19 (48.72)		
年龄 ( $\bar{x} \pm s$ , 岁)	39.91 $\pm$ 14.97	41.38 $\pm$ 15.83	$t = -0.476$	0.635
发病天数 ( $\bar{x} \pm s$ , d)	2.23 $\pm$ 1.47	2.93 $\pm$ 1.44	$t = -2.727$	0.008
发热 [例 (%)]	53 (82.81)	36 (92.31)	$\chi^2 = 1.86$	0.173
最高体温 ( $\bar{x} \pm s$ , $^{\circ}C$ )	38.29 $\pm$ 0.79	38.68 $\pm$ 0.94	$t = -2.257$	0.026
咳嗽 [例 (%)]	46 (71.88)	14 (35.90)	$\chi^2 = 12.898$	$< 0.001$
流涕 [例 (%)]	26 (40.63)	11 (28.21)	$\chi^2 = 1.624$	0.203
咽痛 [例 (%)]	26 (40.63)	18 (46.15)	$\chi^2 = 0.303$	0.582

表2 呼吸道病毒检出组和未检出组患者 WBC、LYN% 和 CRP 水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	WBC ( $\times 10^9/L$ )	LYN% (%)	CRP (mg/L)
检出组	64	7.29 $\pm$ 2.90	24.09 $\pm$ 24.09	22.95 $\pm$ 49.98
未检出组	39	6.23 $\pm$ 3.20	19.90 $\pm$ 12.43	40.66 $\pm$ 38.39
t值		1.587	1.549	-1.897
P值		0.116	0.125	0.016

表3 不同CRP水平患者呼吸道病毒检出率

组别	例数	病毒检出例数	检出率 (%)
CRP $\leq 10$ mg/L组	40	31	77.50
CRP 10~50 mg/L组	45	27	60.00
CRP $> 50$ mg/L组	18	6	33.33

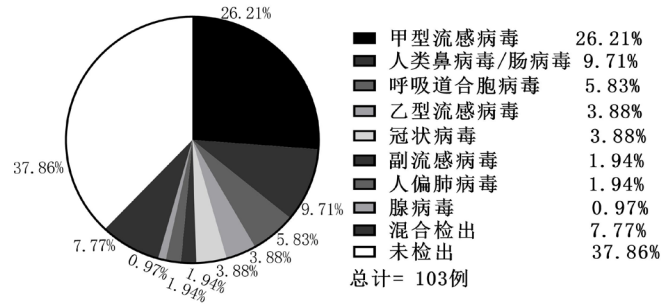


图1 呼吸道感染者病原学检出分布

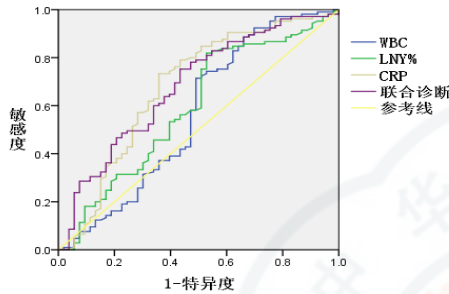


图2 WBC、LYN%和CRP判断呼吸道病毒感染的ROC曲线

## 讨论

在世界范围内，呼吸道感染性疾病均具有较高的发病率和病死率，常见病原体包括病毒、细菌和不典型病原体，对病原体快速、准确检测可以更好地指导临床诊断和治疗<sup>[4-6]</sup>。病原体培养是诊断感染性疾病的金标准，但其耗时长、阳性率低，不能及时有效地指导临床治疗。自动巢式多重PCR系统可在65 min内检测20型呼吸道病原体（包括大多数病毒，以及肺炎支原体、肺炎衣原体和百日咳鲍特杆菌3种不典型病原体），检测快速、准确，灵敏度高、特异性强，可及时有效指导临床治疗；但该检测系统价格较高，需要临床医生选择疑似上述呼吸道病原体感染者进行检测。临床医生常用WBC计数、CRP和PCT等感染指标对病原体类型做出快速判断，多项研究表明感染指标的单独或联合检测对呼吸道感染病原体类型的快速鉴别都具有重要意义<sup>[7-10]</sup>。本研究通过分析103例呼吸道感染者使用自动巢式多重PCE技术后的呼吸道病毒检出情况，对WBC、LYN%和CRP水平与其病毒检出率的相关性做出初步研究。

本研究中103例呼吸道感染者使用自动巢式多重PCR系统，病毒检出率为62.14%，甲型流感病毒检出率最高（26.21%），提示大部分呼吸道感染的病原体为病毒，以甲型流感病毒为主，病原体检出

构成与以往研究相同<sup>[11-14]</sup>。临床表现方面，病毒检出组中患者最高体温显著高于未检出组患者，咳嗽出现例数显著多于未检出组，但发病天数少于未检出组，提示当呼吸道感染者早期表现为高热、咳嗽时，发生呼吸道病毒感染的可能性较大，在经济条件允许时选择使用自动巢式多重PCR系统检测病原体，可为临床诊疗提供更加准确、及时、有效的病原学结果<sup>[15-16]</sup>。感染指标方面，病毒检出组和未检出组间WBC和LYN%差异无统计学意义，提示本研究中根据WBC和LYN%水平差异尚不能作为有效区分呼吸道病毒感染或其他病原体感染。目前WBC计数和细胞分类是临床判断病毒和细菌感染的常规指标，但其个体差异较大，影响因素亦较多，如生理性增高、急性中毒、严重组织损伤及大量血细胞破坏、急性失血、出血和溶血、白血病和某些肿瘤、肾移植后的排斥反应、儿童病毒感染初期及呕吐时，均会引起WBC计数升高，因此，以WBC计数和细胞分类作为鉴别病毒和细菌感染的诊断指标有一定局限性<sup>[17]</sup>。CRP是急性炎症时肝脏合成的一种非特异性蛋白质，能激活补体系统，增加白细胞的吞噬作用，刺激淋巴细胞或单核细胞，在细菌感染时发挥重要作用，是一种正相的急性时相反应蛋白，而且不受性别、年龄、贫血、高球蛋白血症、放疗和化疗等因素影响，是临床常用判断细菌感染及其严重程度的指标<sup>[18-19]</sup>。本研究也显示病毒检出组90.63%患者CRP水平 ≤ 50 mg/L，与未检出组差异有统计学意义，提示呼吸道感染者CRP ≤ 50 mg/L时，有较大可能感染呼吸道病毒，可进一步使用自动巢式多重PCR系统以明确病原体；其次，未检出组患者在排除病毒感染后考虑细菌性呼吸道感染的可能性大，这可能造成了该组患者CRP水平远高于检出组。为进一步明确WBC、LYN%、CRP在判断病毒性呼吸道感染中的价值，并评价对临床医师选择自动巢式多重PCR系统检测病原体的指导意义，

本研究对此3项指标判断病毒感染的ROC曲线进行了分析,结果表明CRP的ROC曲线下面积最大,当Cut-off值为18.2 mg/L时,具有较高的敏感度和特异度;而WBC和LYN%仅显示较高的敏感性,特异性均较差;这提示呼吸道感染者WBC和LYN%无显著升高时病毒感染可能性大,其次,若CRP水平无显著升高时,病毒感染可能性较大,临床医师可根据患者意愿及病情进一步选择自动巢式多重PCR系统以明确病原体<sup>[20-22]</sup>。

综上,自动巢式多重PCR系统可快速、准确地明确多种呼吸道病毒,为临床快速诊断和治疗提供实验室依据,但检测成本较高,其临床应用受患者经济条件制约。当呼吸道感染者早期以咳嗽、发热为主时,或感染指标WBC、LYN%、CRP水平均不高时,考虑病毒感染可能性较大,临床医师可以选择自动巢式多重PCR系统进一步明确病原体,以更加准确、及时、有效地指导临床治疗。

#### 参 考 文 献

- [1] Armstrong GL, Conn LA, Pinner RW. Trends in infectious disease mortality in the United States during the 20th century[J]. *JAMA*,1999,281(1):61-66.
- [2] Mourtzoukou EG, Falagas ME. Exposure to cold and respiratory tract infections[J]. *Int J Tuberc Lung Dis*,2007,11(9):938-943.
- [3] 杨思园,于凤婷,马成杰,等.自动巢式多重PCR系统在呼吸道感染病例中快速检测呼吸道病原体的应用[J].*国际病毒学杂志*,2017,24(3):166-170.
- [4] Lukšić I, Kearns PK, Scott F, et al. Viral etiology of hospitalized acute lower respiratory infections in children under 5 years of age--a systematic review and meta-analysis[J]. *Croat Med J*,2013,54(2):122-134.
- [5] Rudan I, O'Brien KL, Nair H, et al. Epidemiology and etiology of childhood pneumonia in 2010: estimates of incidence, severe morbidity, mortality, underlying risk factors and causative pathogens for 192 countries[J]. *J Glob Health*,2013,3(1):010401.
- [6] Rudan I, Tomaskovic L, Boschi-Pinto C, et al. Global estimate of the incidence of clinical pneumonia among children under five years of age[J]. *Bull World Health Organ*,2004,82(12):895-903.
- [7] 曾娟萍,卢金海,袁锦权. PCT和CRP在小儿早期病毒性和细菌性呼吸道感染鉴别诊断中的应用研究[J]. *医学临床研究*,2016,33(7):1387-1389.
- [8] 丁亚利,薛新娜,梁晶晶. WBC、CRP和PCT在急诊发热患者诊治中的应用[J]. *国际检验医学杂志*,2016,37(9):1263-1264.
- [9] Zhu G, Zhu J, Song L, et al. Combined use of biomarkers for distinguishing between bacterial and viral etiologies in pediatric lower respiratory tract infections[J]. *Infect Dis (Lond)*,2015,47(5):289-293.
- [10] 张瑞丽. C-反应蛋白联合降钙素原检测小儿急性呼吸道感染的临床价值[J]. *中国药物与临床*,2015,15(5):717-719.
- [11] 许宏涛,李毅,陈东科,等.北京地区成人呼吸道感染流行病学分析[J]. *检验医学*,2016,31(6):499-502.
- [12] 张奕,李超,唐雅清,等.2015年北京哨点医院严重急性呼吸道感染病例流感病毒感染情况及其住院率研究[J]. *中华预防医学杂志*,2017,51(12):1097-1101.
- [13] Feng L, Li Z, Zhao S, et al. Viral etiologies of hospitalized acute lower respiratory infection patients in China, 2009-2013[J]. *PLoS One*,2014,9(6):e99419.
- [14] Xu W, Guo L, Dong X, et al. Detection of viruses and *Mycoplasma pneumoniae* in hospitalized patients with severe acute respiratory infection in Northern China, 2015-2016[J]. *Jpn J Infect Dis*,2018,71(2):134-139.
- [15] Chiu SC, Lin YC, Wang HC, et al. Surveillance of upper respiratory infections using a new multiplex PCR assay compared to conventional methods during the influenza season in Taiwan[J]. *Int J Infect Dis*,2017,61(C):97-102.
- [16] Green DA, Hitoaliaj L, Kotansky B, et al. Clinical utility of on-demand multiplex respiratory pathogen testing among adult outpatients[J]. *J Clin Microbiol*,2016,54(12):2950-2955.
- [17] 姜友珍,李爽,侯德凤,等.降钙素原、C-反应蛋白、白细胞计数联合检测在ICU医院获得性细菌性肺炎鉴别诊断中的价值[J]. *检验医学*,2016,31(6):453-457.
- [18] Zarkesh M, Sedaghat F, Heidarzadeh A, et al. Diagnostic value of IL-6, CRP, WBC, and absolute neutrophil count to predict serious bacterial infection in febrile infants[J]. *Acta Med Iran*,2015,53(7):408-411.
- [19] Hu L, Shi Q, Shi M, et al. Diagnostic value of PCT and CRP for detecting serious bacterial infections in patients with fever of unknown origin: A systematic review and Meta-analysis[J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*,2017,25(8):e61-e69.
- [20] Brendish NJ, Malachira AK, Clark TW. Molecular point-of-care testing for respiratory viruses versus routine clinical care in adults with acute respiratory illness presenting to secondary care: a pragmatic randomised controlled trial protocol (ResPOC)[J]. *BMC Infect Dis*,2017,17(1):128-136.
- [21] Babady NE, England MR, Jurcic SKL, et al. Multicenter evaluation of the ePlex respiratory pathogen panel for the detection of viral and bacterial respiratory tract pathogens in nasopharyngeal swabs[J]. *J Clin Microbiol*,2018,56(2):01658-17.
- [22] Chen JHK, Lam HY, Yip CCY, et al. Clinical evaluation of the new high-throughput Luminex NxTAG Respiratory Pathogen Panel assay for multiplex respiratory pathogen detection.[J]. *Journal of Clinical Microbiology*,2016,54(7):1820-1825.

(收稿日期:2018-03-19)

(本文编辑:孙荣华)

杨思园,顾红岩,崔蓉,等.外周血白细胞计数、淋巴细胞百分比和C-反应蛋白与呼吸道病毒检出率的相关性[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*,2018,12(6):565-569.