

# 链式激活的免疫细胞治疗恶性积液的疗效观察

桑圣刚<sup>1,2</sup>, 郝新宝<sup>2</sup>, 曾江正<sup>2</sup>, 杜冠魁<sup>1</sup>, 毛艳娜<sup>1</sup>, 肖璟<sup>3</sup>, 荣红<sup>2</sup>

1.海南医学院, 海南海口 571199; 2.海南医学院附属医院, 海南海口 570102; 3.武警甘肃总队医院, 甘肃兰州 730050

**摘要:** **目的** 探讨链式激活的免疫细胞 (Capri) 治疗恶性积液的效果。**方法** 分别观察试验组、化疗组患者恶性积液治疗的有效性和总生存期, 应用流式细胞术和 RT-PCR 法检测 2 组患者治疗前后不同时间的 T 淋巴细胞亚群及 CK19mRNA 的变化。以健康体检者为对照组。**结果** 试验组积液的控制情况和生活质量明显优于化疗组 ( $\chi^2=7.810$ ,  $P<0.05$ ;  $\chi^2=5.185$ ,  $P<0.05$ )。2 组患者治疗前 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、NK 细胞含量明显低于对照组 ( $P<0.05$ ), 治疗后试验组明显升高, 与化疗组同期相比差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 与对照组相比差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。2 组患者治疗前 CD8<sup>+</sup> 含量明显高于对照组 ( $P<0.05$ )。治疗后明显下降, 与治疗前相比差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 与对照组相比差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ), 试验组与化疗组同期相比差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。2 组治疗前 CK19mRNA 基因表达均显著增强, 与对照组相比差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。治疗后试验组表达显著降低, 与治疗前相比差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 与化疗组同期相比差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ )。**结论** 恶性积液患者可以应用 Capri 细胞治疗, Capri 细胞通过改善患者的免疫功能, 增加患者 NK 细胞的数量, 提高患者抗肿瘤的能力, 有利于恶性积液患者的治疗及预后。

**关键词:** 级联激活的免疫细胞; 恶性积液; T 淋巴细胞亚群; CK19mRNA

中图分类号: R730.5

文献标志码: A

文章编号: 1003-8507(2015)10-1897-04

## Study on the treatment efficiency of the patients with malignant effusion by cascade primed immune cells

SANG Sheng-gang\*, HA0 Xin-bao, ZENG Jiang-zheng, DU Guan-kui, MAO Yan-na, XIAO Jing, RONG Hong

\*Hainan medical college, Haikou, Hainan 571199, China

**Abstract: Objective** The aim of this study was to explore the curative effect on the chain activation of immune cells for treating malignant effusion. **Methods** By comparing the differences of lymphocyte subsets and CK19mRNA levels before and after cascade primed immune cells (Capri) treatment and intrathoracic chemotherapy of malignant effusion, we tried to discover the possible therapeutic mechanism. In total, 82 cases were randomized into 2 groups: chemotherapy group (41 case), Capri immune cell group (41 case). The effective rate of control malignant effusion and score of KPS were observed and compared. The changes of lymphocyte subsets and CK19mRNA levels were detected by FCM and RT-PCR, respectively, before and after the different treatments, and another 82 health adults were controlled. **Results** For efficient control of malignant effusion, it was significantly different between Capri treatment group and chemotherapy group ( $\chi^2=7.810$ ,  $P<0.05$ ). For score of KPS, Capri treatment group was statistically significant from the chemotherapy group ( $\chi^2=5.185$ ,  $P<0.05$ ). As compared with control group, CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> and NK T lymphocytes in peripheral blood decreased apparently in malignant effusion patients ( $P<0.05$ ), and CD8<sup>+</sup> T lymphocytes significantly increased ( $P<0.05$ ). After treatment, CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> and NK T lymphocytes cells significantly increased, and there were significantly statistical differences between the Capri treatment group and chemotherapy group ( $P<0.05$ ). There were no significantly statistical differences between the Capri treatment group and control group ( $P>0.05$ ). For CD8<sup>+</sup> T lymphocytes before treatment, the two groups of cases were significantly higher than control group ( $P<0.05$ ). There were no significantly statistical differences between the Capri treatment group and chemotherapy group and control group ( $P<0.05$ ). As compared with the control group, the level of CK19 mRNA significantly increased before treatment ( $P<0.05$ ). It significantly decreased after treatment. As compared with before treatment, the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). Compared with chemotherapy group, it was significantly lower in the Capri treatment group ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The patients with malignant effusion can be treated with Capri cells by improving the immune function. Increasing the number of NK cells in patients can improve anticancer ability. It is conducive to the treatment and the prognosis of the patients with malignant effusion.

**Keywords:** Cascade primed immune cells; Malignant effusion; T lymphocyte subsets; CK19mRNA

**基金项目:** 海南省重点资助项目 (ZDXM20100046); 海南医学院培育基金项目: HY2012-025, 海南医学院大学生创新实验项目 (HYCX20110D)

**作者简介:** 桑圣刚, 男, 副教授, 研究方向: 免疫细胞治疗

**通讯作者:** 荣红, E-mail: Lytssg@126.com

恶性积液包括癌性胸腔、腹腔积液及心包积液, 是癌症常见的并发症之一, 也是大部分中晚期患者的主要临床症状及体征, 它的产生及发展直接影响着患者的生活质量和生存期, 严重的胸、腹水甚至

可危及生命。因此, 积极治疗恶性积液是延长肿瘤患者生存期和提高生存质量的有效措施之一。链式激活的免疫细胞 (Cascade primed immune cells, Capri), 是应用肿瘤病人的外周血淋巴细胞, 经 T 细胞受体及多种细胞因子共同培养后获得的一群细胞 (包含 NK 细胞、NKT 细胞、CD4<sup>+</sup> 辅助 T 细胞、CD8<sup>+</sup> 细胞毒 T 细胞及树突状细胞 DC)。此细胞可有效识别肿瘤细胞, 于 24 h 内完全破裂癌细胞。本文以恶性积液肿瘤患者为研究对象, 分别应用化疗和 Capri 灌注治疗, 评价 Capri 治疗恶性积液的安全性和疗效。

## 1 材料与方法

**1.1 病例选择** 选海南医学院附属医院 2009 年 3 月-2012 年 12 月肿瘤内科收治的恶性积液肿瘤患者 82 (男性 58, 女性 24) 例。年龄 24~80 岁, 平均年龄 51.5 岁。其中卵巢癌 9 例, 乳腺癌 12 例, 肺癌 19 例, 鼻咽癌 11 例, 胃癌 12 例, 直肠癌 7 例, 肝癌 12 例。所有患者均经病理诊断为 III、IV 期, Kamofsky 行为状态 (Kamofsky Performance Status, KPS) 评分均  $\geq 60$  分, 重要生命器官功能正常, 无严重病毒、细菌感染; 非妊娠及哺乳期, 无生物制品过敏史。将所有病例随机分为灌注化疗组 (化疗组) 和灌注 Capri 细胞组 (试验组)。2 组患者治疗前均未进行手术、化疗及放疗等, 试验组患者在治疗前均签署知情同意书, 并经医院伦理委员会论证通过。灌注治疗完成后每 1~3 个月门诊或住院随访一次。选同期海南医学院附属医院体检中心健康体检者 82 例为对照组, 男性 44 例, 女性 38 例, 平均年龄 (53.4 $\pm$ 4.2) 岁。

**1.2 Capri 细胞的培养** 试验组在终止化疗 15 d 后, 无菌操作条件下, 抽取患者外周 50 ml, 按密度梯度离心法分离出单个核细胞, 置于 Capri 细胞培养体系中, 在 37 $^{\circ}$ C 5% CO<sub>2</sub> 环境下培养, 每 2 天半量换液。连续扩增培养 7~10 d, 流式细胞术法鉴定收获细胞的数量及成熟度。上述体外细胞分离、培养扩增过程均在符合 GMP 标准的实验中进行。

**1.3 治疗方法** 行穿刺置管引流术, 尽量将积液引流干净, 化疗组患者腔内灌注顺铂 40 mg+ 氟尿嘧啶 0.75 g, 每周 2 次, 1~2 周; 试验组患者, 连续 3 d 给予 Capri 细胞腔内灌注, 每次注入细胞数  $2 \times 10^9$  个, 灌注后嘱咐患者 2 h 内尽量转动体位。2 组患者均注意复查血常规、肝肾功并行 KPS 评分。

**1.4 疗效评判标准** 按照 1980 年 WHO 统一标准, 分为完全缓解 (Complete Response, CR), 积液完全消失持续 4 周以上; 部分缓解 (Partial Response, PR), 积液减少  $>50\%$ , 并持续 4 周以上; 无变化 (No Change, NC), 积液减少一半以下或进展, 以 CR+PR 计算有效率。生活质量评价, 根据 KPS 评分

标准在治疗前及治疗后 4 周时评定, 治疗后 KPS 评分较治疗前增加 20 分及以上者为改善, 无变化者为稳定, 减少 20 分及以上者为下降。

**1.5 T 细胞亚群及 CK19mRNA 基因表达检测** 检测两组灌注治疗前及治疗后 3 d、7 d、1 月外周血 T 细胞亚群 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、NK 及 CK19mRNA 基因的表达。CK19mRNA 基因引物: 上游: 5'-AGGA-GATTGCCACCTACCG-3', 下游: 5'-CCTTCCCATC-CCTCTAC CC-3', 145 bp; GAPDH mRNA (内参) 上游: 5'-GCACCTCGG TAACATCACA-3', 下游: 5'-CACCACCTTAACACC-CTTCT-3', 360 bp。以待测基因 /GAPDH 的比值作为待测基因 mRNA 的相对表达量。

**1.6 统计学处理** 数据以 SPSS10.0 进行统计处理。积液的改善及生活质量变化用卡方检验, T 细胞亚群、CK19mRNA 的表达用 *F* 检验。以  $\alpha=0.05$  为检验标准。

## 2 结果

**2.1 积液的改善情况** 试验组 41 例患者中 CR 的 15 例, PR 的 18 例, 有效率为 80.49%; 而化疗组 41 例患者中 CR 的 7 例, PR 的 14 例, 有效率为 51.22%。试验组与化疗组相比差异有统计学意义 ( $\chi^2=7.810$ ,  $P<0.05$ )。

**2.2 生活质量变化** 按 KPS 评分标准, 试验组 41 例患者中改善的 16 例, 稳定的 19 例, 下降的 6 例, 改善率: 85.37%; 化疗组 41 例患者中改善的 9 例, 稳定的 17 例, 下降的 15 例, 改善率: 63.41%。试验组与化疗组相比, 差异有统计学意义 ( $\chi^2=5.185$ ,  $P<0.05$ )。

**2.3 T 细胞亚群、CK19mRNA 的检测结果** 2 组患者治疗前后, 外周血 T 淋巴细胞的 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、NK 细胞结果显示, 2 组患者治疗前 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、NK 细胞含量明显低于对照组 ( $P<0.05$ )。灌注治疗后患者 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、NK 细胞含量较治疗前均升高。试验组治疗后升高明显, 与化疗组同期相比差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 与对照组相比差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ); 2 组患者治疗前 CD8<sup>+</sup> 含量明显高于对照组 ( $P<0.05$ )。治疗后 CD8<sup>+</sup> 含量均明显下降, 与治疗前相比差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 与对照组相比差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ); 试验组与化疗组同期相比差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。经 RT-PCR 检测 CK19mRNA 基因表达发现, 治疗前 CK19mRNA 基因表达显著增强, 治疗后 CK19mRNA 基因表达量均逐渐减低, 与治疗前相比差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。治疗后试验组降低较化疗组明显, 与化疗组同期相比差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ )。见表 1。

## 3 讨论

表 1 试验组与化疗组治疗前后 T 细胞亚群、CK19mRNA 的检测结果 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	CD3 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	NK	CK19mRNA
试验组					
治疗前 <sup>a</sup>	52.57 ± 3.46	26.07 ± 3.94	32.15 ± 2.64	12.45 ± 3.74	1.913 ± 0.443
治疗后 3 d	64.28 ± 4.38 <sup>z</sup>	35.50 ± 6.62 <sup>c</sup>	28.41 ± 3.28 <sup>h</sup>	17.53 ± 3.24 <sup>z</sup>	0.524 ± 0.230 <sup>o</sup>
治疗后 7 d	72.60 ± 7.50 <sup>d</sup>	37.20 ± 8.10 <sup>d</sup>	26.30 ± 9.20 <sup>j</sup>	23.25 ± 5.31 <sup>d</sup>	0.371 ± 0.141 <sup>p</sup>
治疗后 1 月	73.50 ± 8.30 <sup>e</sup>	42.70 ± 5.50 <sup>e</sup>	27.10 ± 8.80 <sup>k</sup>	27.30 ± 7.20 <sup>x</sup>	0.224 ± 0.023 <sup>q</sup>
化疗组					
治疗前 <sup>b</sup>	52.48 ± 3.35	27.15 ± 5.41	32.36 ± 2.24	12.72 ± 3.11	1.905 ± 0.221
治疗后 3 d	55.32 ± 4.17 <sup>f</sup>	28.52 ± 3.48 <sup>f</sup>	28.38 ± 2.78 <sup>l</sup>	10.42 ± 3.46 <sup>f</sup>	1.201 ± 0.103 <sup>r</sup>
治疗后 7 d	57.49 ± 5.13 <sup>g</sup>	29.36 ± 5.52 <sup>g</sup>	28.24 ± 8.19 <sup>m</sup>	9.38 ± 2.06 <sup>g</sup>	1.032 ± 0.102 <sup>s</sup>
治疗后 1 月	60.09 ± 6.79 <sup>h</sup>	32.36 ± 5.52 <sup>h</sup>	26.42 ± 8.31 <sup>n</sup>	10.74 ± 6.56 <sup>h</sup>	0.935 ± 0.074 <sup>t</sup>
健康对照组	67.42 ± 6.11	40.38 ± 5.68	26.05 ± 5.5	16.46 ± 5.02	0.171 ± 0.042

注：与化疗组相比，a vs b,  $P > 0.05$ ; c vs f,  $P < 0.05$ ; d vs g,  $P < 0.05$ ; e vs h,  $P < 0.05$ 。i vs l,  $P > 0.05$ ; j vs m,  $P > 0.05$ ; k vs n,  $P > 0.05$ 。o vs r,  $P < 0.05$ ; p vs s,  $P < 0.05$ ; q vs t,  $P > 0.05$ 。

Capri 细胞是对患者外周淋巴细胞多次活化后获得的具有特异性杀伤肿瘤的细胞群<sup>[1]</sup>，是一种全新的生物免疫治疗方式。目前 Capri 细胞治疗广泛用于多种肿瘤的治疗<sup>[2]</sup>，但关于在恶性积液中的应用报告较少。本研究发现，Capri 治疗的 41 例恶性积液中 CR15 例，PR18 例，有效率为 80.49%，明显优于化疗组 51.22% 的有效率。经 Capri 细胞治疗的患者生活质量得到明显改善，治疗后 KPS 评分改善率也显著优于化疗组（分别为 85.37% 和 63.41%），表明 Capri 细胞可以较好地控制恶性积液，改善患者的生存质量。

肿瘤的发生、发展和预后与机体的免疫功能特别是 T 细胞免疫功能密切相关。本研究同时检测 2 组患者治疗前后的 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、NK 的含量变化。研究显示 2 组灌注治疗前患者 T 淋巴细胞 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> 的含量明显低于健康对照组，CD8<sup>+</sup> 含量明显高于健康对照组，与相关研究结果相同<sup>[3,4]</sup>，表明恶性积液患者存在较严重的免疫功能紊乱，抗肿瘤免疫水平低下。2 组治疗后 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> 含量即明显升高，CD8<sup>+</sup> 含量明显下降，且试验组改善效果明显优于化疗组，提示患者治疗后免疫系统清除肿瘤细胞的能力增强<sup>[5]</sup>，侧面反映了 Capri 细胞相比化疗更有利于改善患者的免疫功能。

NK 细胞是机体中对肿瘤细胞具有高度细胞毒性作用的细胞，是一种广谱的杀伤性细胞，对阻止肿瘤生长起重要作用<sup>[6]</sup>。本研究显示，2 组患者治疗前 NK 细胞数量较低，治疗后试验组 NK 细胞明显高于化疗组。表明 Capri 细胞可以较好地促进 NK 细胞的增殖，而化疗药物则抑制 NK 细胞的数量，可能与化疗药物的不良反应有关。

细胞角质蛋白 (Cytokeratin, CK) 19 是一种酸性蛋白质，存在于正常上皮和各种上皮来源的肿瘤。在肝脏 CK19 见于胆道分化过程中，是祖细胞表型的标志，可作为肝癌干细胞的标志物<sup>[7]</sup>。正常造血

组织、淋巴细胞中无 CK19 的表达，CK19 在肿瘤的发生和转移中发挥重要作用，是循环癌细胞检测及早期癌症微转移的分子标志之一<sup>[8]</sup>。肝癌极易发生转移，Ding 等<sup>[9]</sup>研究表明，CK19 的表达跟肝癌的转移有关。故检测外周血中 CK19mRNA 的表达，不仅可推断有表达 CK19 的上皮细胞及肿瘤细胞的异位存在，而且可以评估患者的预后<sup>[10]</sup>。Giuliano 等<sup>[11]</sup>证实外周血循环肿瘤细胞的数量不仅可以作为预后的判断指标，也可以用来预测一线化疗的疗效。本研究结果显示：2 组患者治疗前 CK19mRNA 表达均明显高于对照组，治疗后均明显下降，但试验组明显低于化疗组，表明 Capri 细胞具有较好的清除循环肿瘤细胞的能力。其原因可能是，Capri 细胞通过改善患者的免疫功能，增加 NK 细胞数量，从而提高抗肿瘤能力。常规化疗尽管杀灭了大量肿瘤细胞，然而由于残留循环肿瘤细胞存在，导致肿瘤细胞迅速恢复，从而出现复发和转移。

综上所述，恶性积液患者应用 Capri 细胞治疗可改善患者免疫功能，从而提高患者抗肿瘤的能力，有利于缓解恶性积液，改善患者生存质量。

参考文献

[1] Rudolf W. Use of stimulated peripheral blood mononuclear cells for treating cancerous diseases: Germany, WO 02/087612 [P]. 2002-11-07.  
 [2] 薛晓燕, 景雪冰, 冷梅芳, 等. 链式激活的免疫细胞治疗恶性肿瘤患者的护理[J]. 护理学杂志, 2012, 27 (13): 45-46.  
 [3] Hamakawa T, Kurokawa Y, Takiguchi S, et al. Combination chemotherapy using docetaxel, cisplatin, and S-1 for far advanced gastric Cancer [J]. Gan To Kagaku Ryoho, 2011, 38 (12): 2342-2344.  
 [4] 张利伟. CK 细胞治疗化疗后的肿瘤患者的临床观察 [J]. 现代预防医学, 2012, 39 (20): 5488-5489, 5491.  
 [5] Powell JD, Delgoffe GM. The mammalian target of rapamycin: linking T cell differentiation, function, and metabolism [J]. Immunity, 2010, 33 (3): 301-311.

- [6] Pegram HJ, Jackson JT, Smyth MJ, et al. Adoptive transfer of gene-modified primary NK cells can specifically inhibit tumor progression in vivo [J]. *Immunology*, 2008, 181 (5): 3449-3455.
- [7] Chu PG, Weiss LM. Keratin expression in human tissues and neoplasms [J]. *Histopathology*, 2002, 40 (5): 403-439.
- [8] Benoy IH, Elst H, Van der Auwera I, et al. Real-time RT-PCR correlates with immunocytochemistry for the detection of disseminated epithelial cells in bone marrow aspirates of patients with breast cancer [J]. *Cancer*, 2004, 91 (10): 1813-1820.
- [9] Ding Shijian, Li Yan, Tan Yexiong, et al. From proteomic analysis to clinical significance: overexpression of cytokeratin 19 correlates with hepatocellular carcinoma metastasis [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2004, 3 (1): 73-81.
- [10] Gradilone A, Gazzaniga P, Silvestri I, et al. Detection of CK19, CK20 and EGFR mRNAs in peripheral blood of carcinoma patients: correlation with clinical stage of disease [J]. *Oncol Rep*, 2003, 10 (1): 217-222.
- [11] Giuliano M, Giordano A, Jackson S, et al. Circulating tumor cells as prognostic and predictive markers in metastatic breast cancer patients receiving first-line systemic treatment [J]. *Breast Cancer Res*, 2011, 13 (3): R67.

收稿日期: 2013-04-13

(上接第 1892 页)

## 参考文献

- [1] Ulleryd P, Hugosson A, Allestam G, et al. Legionnaires' disease from a cooling tower in a community outbreak in Lidköping, Sweden—epidemiological, environmental and microbiological investigation supported by meteorological modelling [J]. *BMC Infect Dis*, 2012, 12 (12): 313.
- [2] Sala Ferré MR, Arias C, Oлива JM, et al. A community outbreak of Legionnaires' disease associated with a cooling tower in Vic and Gurb, Catalonia (Spain) in 2005 [J]. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2009, 28: 153-159.
- [3] Ragull S, Garcia-Núñez M, Pedro-Botet ML et al. Diversity of legionella pneumophila in cooling towers: coculture kinetics and virulence studies [J]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2011, 29 (5): 334-338.
- [4] Ambrose J, Hampton LM, Fleming-Dutra KE, et al. Large outbreak of Legionnaires' disease and Pontiac fever at a military base [J]. *Epidemiol Infect*, 2014, 142 (11): 2336-2346.
- [5] 张之幸, 郑杰, 刘文磊. 上海市长宁区集中空调通风系统污染状况调查 [J]. *职业与健康*, 2014, 30 (6): 817-818, 821.
- [6] 周丽敏, 王斌. 北京市大兴区 13 家公共场所军团菌监测 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2011, 21 (6): 1497-1499.
- [7] 江思力, 石同幸, 刘俊华, 等. 广州市办公大楼集中空调通风系统卫生状况分析 [J]. *预防医学论坛*, 2014, 20 (4): 250-252.
- [8] 潘志, 黄健, 陈连生, 等. 江苏省某城市公共场所人群军团菌感染现状研究 [J]. *江苏预防医学*, 2011, 22 (4): 33-35.
- [9] Irons JF, Dunn MJ, Kefala K. The effect of a large Legionnaires' disease outbreak in Southwest Edinburgh on acute and critical care services [J]. *QJM*, 2013, 106 (12): 1087-1094.
- [10] 严宙宁, 牟敬锋, 孙健, 等. 深圳市南山区公共场所集中空调冷却塔卫生管理状况 [J]. *职业与健康*, 2014, 30 (11): 1541-1543.
- [11] 李莉. 集中空调冷却水水质与嗜肺军团菌污染关系调查分析 [D]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2010.
- [12] 庞博. GENIE 决策理论模型在配电网优化规划中的应用研究 [D]. 保定: 河北农业大学, 2012.
- [13] 辜少虹, 黄锦叙, 张建鹏, 等. 珠江三角洲公共场所集中空调通风系统卫生状况分析 [J]. *华南预防医学*, 2010, 36 (3): 58-60.
- [14] 张兰芳, 彭川子, 杨晓萍. 高速公路尾随相撞事件的贝叶斯网络致因分析模型 [J]. *武汉理工大学学报: 交通科学与工程版*, 2014, 38 (1): 111-115.
- [15] 严宙宁, 牟敬锋, 袁梦, 等. 公共场所集中空调冷却水水质及其与嗜肺军团菌污染的关系 [J]. *环境与职业医学*, 2014, 31 (6): 434-437.
- [16] 李晓松. 医学统计学 [M]. 第 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2014.

收稿日期: 2014-09-16

(上接第 1894 页)

格控制游泳者人数, 强制设置游泳前浸脚消毒及淋浴通道等设施, 减少游泳池水的污染; (4) 加强卫生知识健康宣教, 提高游泳者自我保护意识及社会公德意识。

## 参考文献

- [1] 施蛟, 蔡创辉, 杨芳. 2011-2013 年深圳市游泳池水质卫生状况分析 [J]. *现代预防医学*, 2014, 41 (21): 4007-4008.
- [2] 国家技术监督局, 中华人民共和国卫生部. GB/T 17720-1998 公共场所卫生监测技术规范 [S]. 北京: 中国标准出版社, 1998.
- [3] 中华人民共和国卫生部. GB/T 18204.1-2000 公共场所卫生标准检验方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2000.
- [4] 国家技术监督局. GB9667-1996 游泳场所卫生标准 [S]. 北京: 中国标准出版社, 1996.
- [5] 高建, 付宇, 安宏, 等. 哈尔滨市游泳池水质卫生监测结果分析 [J]. *中国公共卫生管理*, 2013, 29 (2): 254-255.
- [6] 黄文光, 倪敏华, 邵瑜, 等. 2007-2010 年无锡市滨湖区游泳池水质监测分析 [J]. *现代预防医学*, 2012, 39 (21): 5736-5737, 5744.
- [7] 刘芳盈, 张殿平, 李平, 等. 2010-2012 年淄博市游泳池水质检测分析 [J]. *现代预防医学*, 2014, 41 (9): 1716-1718.
- [8] 张春艳, 黄淑华, 陈磊, 等. 开封市 2008-2011 年游泳池水水质卫生状况调查 [J]. *现代预防医学*, 2013, 40 (23): 4437-4438, 4441.
- [9] 张育禾, 徐丽萍, 张朝阳. 海曙区 2008-2012 年游泳池水质卫生监测结果分析 [J]. *浙江预防医学*, 2013, 25 (5): 61-63.
- [10] 李金坤, 黄美惠, 翁嘉辰, 等. 厦门市思明区 2009-2010 年游泳池水水质卫生监测分析 [J]. *实用预防医学*, 2011, 18 (8): 1452-1454.

收稿日期: 2014-01-12