

临床论著

Xpert MTB/RIF 在骨关节结核患者
快速诊断中的应用贾文楹¹, 李 元²

(1 首都医科大学附属北京胸科医院综合科; 2 骨科 101149 北京市)

【摘要】目的:探讨 Xpert MTB/RIF 在骨关节结核患者快速诊断中的应用价值。**方法:**2014 年 2 月~2014 年 11 月使用 Xpert MTB/RIF 对 49 例骨关节结核患者及 32 例非结核性骨关节病患者的脓液标本进行检测, 以临床诊断为金标准, 计算 Xpert MTB/RIF 检测结核分枝杆菌的敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值、一致率; 同时对脓液标本行抗酸染色及结核分枝杆菌快速培养(BACTECT MGIT 960), 比较 Xpert MTB/RIF 与抗酸染色、结核分枝杆菌快速培养在敏感性 & 特异性上的差异; 综合上述两方面因素评价 Xpert MTB/RIF 在骨关节结核患者快速诊断中的应用价值。**结果:**Xpert MTB/RIF 检测单个脓液标本的时间为 2.3 ± 0.2 h。49 例骨关节结核患者脓液标本中, 46 例 Xpert MTB/RIF 检测结核分枝杆菌阳性, 3 例 Xpert MTB/RIF 阴性; 32 例非结核性骨关节病患者脓液标本中, 1 例 Xpert MTB/RIF 检测结核分枝杆菌阳性, 31 例 Xpert MTB/RIF 阴性; 以临床诊断为金标准, Xpert MTB/RIF 检测结核分枝杆菌的敏感性为 93.87%、特异性为 96.87%、阳性预测值为 97.87%、阴性预测值为 91.17%, 一致率为 95.06%。在 46 例 Xpert MTB/RIF 结核分枝杆菌阳性的骨关节结核患者中, 10 例存在利福平耐药突变基因, 耐药突变率为 21.73%。49 例骨关节结核患者脓液标本中, 抗酸染色阳性 8 例, 阴性 41 例, 敏感性为 17.39%; 结核分枝杆菌快速培养阳性患者 11 例, 阴性 38 例, 敏感性为 23.91%; 32 例非结核性骨关节病患者脓液标本抗酸染色及结核分枝杆菌快速培养均为阴性, 其特异性均为 100%。Xpert MTB/RIF 检测结核分枝杆菌的敏感性优于抗酸染色及结核分枝杆菌快速培养($P < 0.05$), 特异性与抗酸染色及结核分枝杆菌快速培养无明显差异($P > 0.05$)。**结论:**Xpert MTB/RIF 在骨关节结核患者的快速诊断中具有较高的诊断效能, 其耗时短, 敏感性高, 特异性强, 与抗酸染色及结核分枝杆菌快速培养比较具有明显优势。

【关键词】Xpert MTB/RIF; 骨关节结核; 快速诊断

doi:10.3969/j.issn.1004-406X.2015.03.04

中图分类号: R529.2, R446.6 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2015)-03-0208-05

The application of Xpert MTB/RIF assay for rapid diagnosis of osteoarticular tuberculosis/JIA Wenyun, LI Yuan//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2015, 25(3): 208-212

【Abstract】Objectives: To investigate the role of Xpert MTB/RIF assay for rapid diagnosis of osteoarticular tuberculosis. **Methods:** From February 2014 to November 2014, pus specimens of 49 osteoarticular tuberculosis patients and 32 nontuberculosis patients were detected by Xpert MTB/RIF system, and the sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, agreement rate of Xpert MTB/RIF system were calculated, and clinical diagnosis was used as the reference standard. All the pus specimens were detected by acid-fast stain and fast culturing(BACTECT MGIT 960), to find the difference of sensitivity and specificity among Xpert MTB/RIF, acid-fast stain, and fast culturing. The role of Xpert MTB/RIF assay for rapid diagnosis of osteoarticular tuberculosis was evaluated through the two factors above. **Results:** It took 2.3 ± 0.2 h to detect each pus specimen by Xpert MTB/RIF. Among the 49 osteoarticular disease patients, 46 were positive, 3 were negative by Xpert MTB/RIF test. Among the 32 nontuberculosis patients, 1 was positive, 31 were negative by Xpert MTB/RIF test. The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, agreement rate was 93.87%, 96.87%, 97.87%, 91.17%, 95.06% respectively for Xpert MTB/RIF assay. Among the 46 specimens which were positive by Xpert MTB/RIF test, 10 had rifampicin resistance mutation, with the rate of rifampicin resistance mutation as 21.73%. Among the 49 osteoarticular disease patients, 8 were posi-

第一作者简介: 女(1982-), 住院医师, 医学硕士, 研究方向: 结核病

电话: (010)89509328 E-mail: yun8041267@sohu.com

tive, 41 were negative by acid-fast stain test, the sensitivity was 17.39%, and based on fast culturing test, 11 were positive, 38 were negative, the sensitivity was 23.91%. All pus specimens of 32 nontuberculosis patients were negative by acid-fast stain test and fast culturing test. As for the sensitivity, Xpert MTB/RIF was superior to acid-fast stain and fast cultureing ($P < 0.05$). While as for the specificity, there was no statistical difference among Xpert MTB/RIF, acid-fast stain, or fast culturing ($P > 0.05$). **Conclusions:** The role of Xpert MTB/RIF assay for rapid diagnosis of osteoarticular tuberculosis is perfect. It is of time saving, high sensitivity and high specificity, which is superior to the traditional methods.

[Key words] Xpert MTB/RIF; Osteoarticular tuberculosis; Rapid diagnosis

[Author's address] Department of General medicine, Beijing Chest Hospital, Capital Medical University, 101149, China

骨关节结核为常见的肺外结核, 约占肺外结核患者的 11.3%~34.5%^[1], 由于其临床表现不典型, 病变位置深, 标本不易获得, 加之病灶含菌量少^[2], 给骨关节结核的快速诊断提出了严峻挑战, 大部分患者确诊时已有明显骨质破坏, 愈后留有残疾。现有检测方法不能满足骨关节结核快速诊断的需要, 涂片法敏感度 < 15%, 罗氏培养敏感度 < 20% 且耗时长, 传统 PCR 方法污染率高^[3]。Xpert MTB/RIF 是由美国 Cepheid 公司研发的, 以半巢式荧光定量 PCR 为基础的封闭式、自动化检测平台, Xpert MTB/RIF 在肺结核痰标本的快速诊断中显示出了优异的性能, 敏感性为 67%~98% 特异性为 98%^[4-5]。然而关于 Xpert MTB/RIF 对骨关节结核快速诊断的研究非常少。本研究使用 Xpert MTB/RIF 检测系统对 49 例骨关节结核患者及 32 例非结核性骨关节病患者的脓液标本进行检测, 同时对脓液标本行抗酸染色及快速培养, 评价 Xpert MTB/RIF 在骨关节结核患者快速诊断中的应用价值, 为 Xpert MTB/RIF 在骨关节结核快速诊断中的应用提供一定的参考。

1 资料与方法

1.1 临床资料

骨关节结核患者脓液标本 49 例, 为 2014 年 2 月~2014 年 11 月于我院骨科手术治疗的骨关节结核患者, 其中膝关节结核 6 例, 胸椎结核 15 例, 腰椎结核 28 例, 男 23 例, 女 26 例, 年龄 37.1 ± 16.0 岁 (18~74 岁); 诊断标准: 同时满足以下 3 项, ①病理诊断为结核, ②影像学诊断为结核, ③临床有结核中毒症状。非结核骨关节疾病脓液标本 32 例, 为 2014 年 2 月~2014 年 11 月于我院骨科手术治疗的非结核性骨关节疾病患者, 其中化脓性膝关节炎 8 例, 化脓性脊柱炎 15 例, 化

脓性踝关节炎 9 例, 男 15 例, 女 17 例, 年龄 39.4 ± 16.5 岁 (17~72 岁), 病理检查结果为化脓性炎症, 并有致病菌培养结果。

1.2 Xpert MTB/RIF 检测

GeneXpert MTB/RIF 反应盒及 GeneXpert MTB/RIF 检测模块 (Cepheid 公司, 美国)。

取 1ml 脓液标本置于前处理管中, 加入 2ml 标本处理液, 旋紧前处理管旋盖, 在涡旋振荡器上振荡 20s, 使脓液标本充分混合, 室温静置 15min, 使脓液标本充分液化, 取 2ml 处理后样品从加样孔缓慢加入反应盒, 然后将反应盒置于检测模块, 仪器开始进行自动化检测, 2h 后系统可自动读出结核分枝杆菌检测结果与利福平耐药结果。当骨关节结核患者脓液标本 Xpert MTB/RIF 结果为阴性时, 使用同一脓液标本再重复检测 2 次, 若重复检测结果不一致则该标本不纳入; 当非结核性骨关节病患者的脓液标本 Xpert MTB/RIF 结果为阳性时, 使用同一脓液标本再重复检测 2 次, 若重复检测结果不一致则该标本不纳入。

1.3 脓液抗酸染色及结核分枝杆菌快速培养

将 49 例骨关节结核患者脓液标本及 32 例非结核骨关节疾病患者脓液分别行抗酸染色及结核分枝杆菌快速培养 (BACTECT MGIT 960, BD 公司, 美国), 具体步骤参见《结核病诊断实验室检验规程》^[6]。

1.4 统计分析

使用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析, 以临床诊断 (同时满足以下 3 项: ①病理诊断为结核; ②影像学诊断为结核; ③临床有结核中毒症状) 为金标准, 计算 Xpert MTB/RIF 检测结核分枝杆菌的敏感性 [真阳性人数 / (真阳性人数 + 假阴性人数) $\times 100\%$], 特异性 [真阴性人数 / (真阴性人数 + 假阳性人数) $\times 100\%$], 阳性预测值 [真阳性人

数/(真阳性人数+假阳性人数) $\times 100\%$ 、阴性预测值[真阴性人数/(真阴性人数+假阴性人数) $\times 100\%$]、一致率[真阳性人数+真阴性人数/总样本量 $\times 100\%$]及 95%置信区间;使用卡方检验计算 Xpert MTB/RIF 与抗酸染色、快速培养在敏感性上是否存在差异,使用 Fisher 确切概率法计算 Xpert MTB/RIF 与抗酸染色、快速培养在特异性上是否存在差异, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。综合上述两方面因素评价 Xpert MTB/RIF 在骨关节结核患者快速诊断中的应用价值。

2 结果

2.1 Xpert MTB/RIF 检测结果

单个脓液标本检测时间为 2.3 ± 0.2 h。49 例骨关节结核患者脓液标本中,46 例 Xpert MTB/RIF 结核分枝杆菌阳性,3 例 Xpert MTB/RIF 阴性,3 例 Xpert MTB/RIF 阴性标本重复检测 2 次仍为阴性;32 例非结核骨关节疾病患者脓液标本中,31 例 Xpert MTB/RIF 结核分枝杆菌阴性,1 例 Xpert MTB/RIF 阳性,1 例 Xpert MTB/RIF 阳性标本重复检测 2 次仍为阳性(表 1)。以临床诊断为金标准,Xpert MTB/RIF 利用脓液标本检测骨关节结核患者结核分枝杆菌的敏感性为 93.87%,95%置信区间为 87.17%~100%;特异性为 96.87%,95%置信区间为 90.85%~100%;阳性预测值为 97.87%,95%置信区间为 93.75%~100%;阴性预测值为 91.17%,95%置信区间为 81.64%~100%;一致率为 95.06%,95%置信区间为 90.34%~99.78%。在 46 例 Xpert MTB/RIF 结核分枝杆菌阳性的骨关节结核患者中,10 例存在利福平耐药突变基因,耐药突变率为 21.73%。

2.2 抗酸染色及结核分枝杆菌快速培养

49 例骨关节结核患者脓液标本中抗酸染色阳性 8 例,阴性 41 例,敏感性为 17.39%;49 例骨关节结核患者脓液标本中,结核分枝杆菌快速培养阳性 11 例,阴性 38 例,敏感性为 23.91%。3 例 Xpert MTB/RIF 结核分枝杆菌阴性的骨关节结核患者的脓液标本抗酸染色及结核分枝杆菌快速培养均为阴性(表 1)。32 例非结核性骨关节疾病患者脓液标本的抗酸染色及结核分枝杆菌快速培养均为阴性,其特异性均为 100%。

2.3 Xpert MTB/RIF 检测结核分枝杆菌与抗酸染色、结核分枝杆菌快速培养的统计学分析

Xpert MTB/RIF 检测结核分枝杆菌的敏感性优于抗酸染色及结核分枝杆菌快速培养($P<0.05$),特异性与抗酸染色及结核分枝杆菌快速培养比较无统计学差异($P>0.05$,表 2)。

3 讨论

3.1 骨关节结核快速诊断中存在的问题

目前骨关节结核的诊断方法很多,然而缺乏有效的快速诊断方法,常导致骨关节结核的诊断延误,使患者不能得到及时治疗,致使病变进展,最终导致残疾。骨关节结核病灶中结核杆菌含量少^[2],使得抗酸染色、罗氏培养、快速培养的敏感度低($<48\%$)^[7,8],造成高漏诊率;而普通 PCR 需人工干预步骤多,污染的几率高,造成误诊病例。由于骨关节结核病灶位置深,给穿刺活检病理检查带来一定困难,且穿刺标本体积有限,穿刺位置可能不是典型病变,造成漏诊。因而临床工作中需要一种既敏感又特异且快速的检验方法来指导临床工作。

3.2 Xpert MTB/RIF 的技术优势及现状

Xpert MTB/RIF 以半巢式实时荧光定量 PCR 为基础,采用全封闭、自动化检测平台,检测结核

表 1 49 例骨关节结核患者脓液 3 种方法检测结果

Table 1 Test results of pus specimens of 49 osteoarticular tuberculosis patients

Xpert MTB/RIF 检测结核分枝杆菌	例数 Number	抗酸染色 Acid-fast stain		结核分枝杆菌快速培养 Fast culture	
		阳性 Positive	阴性 Negative	阳性 Positive	阴性 Negative
阳性 Positive	46	8	38	11	35
阴性 Negative	3	0	3	0	3
合计 Total	49	8	41	11	38

表 2 三种检测方法的敏感性及特异性

Table 2 The sensitivity and specificity of the 3 test methods

检测方法 Test method	敏感性 Sensitivity	特异性 Specificity
Xpert MTB/RIF	93.87%	96.87%
抗酸染色 Acid-fast stain	17.39% ^①	100% ^②
快速培养 Fast culture	23.91% ^①	100% ^②

注:与 Xpert MTB/RIF 比较,① $P<0.05$;② $P>0.05$

Note: Compared with Xpert MTB/RIF, ① $P<0.05$; ② $P>0.05$

分枝杆菌特有的 *rpoB* 基因及其耐药突变,能在 2h 得到标本是否含有结核分枝杆菌复合群细菌 DNA,同时检测是否存在利福平耐药基因突变。半巢式 PCR 的 2 次扩增提高了检测的敏感性,同时降低了非特异性扩增,增加了特异性^[9],且 Xpert MTB/RIF 为封闭式自动化平台,减少了人工操作,降低了污染几率,提高了检测结果准确性。Xpert MTB/RIF 为多通道设计,可同时检测多个标本,能为临床提供快速的诊断依据。Xpert MTB/RIF 对肺结核的快速诊断具有里程碑意义,2010 年 WHO 推荐 Xpert MTB/RIF 用于肺结核患者痰标本的检测,研究显示 Xpert MTB/RIF 在肺结核痰标本的检测中表现良好,敏感性为 67%~98%,特异性为 98%^[4-5]。在肺外结核的脑脊液、胸腔积液、淋巴结等标本的检测中敏感性为 21.4%~83.1%,特异性>98.7%^[10]。

3.3 Xpert MTB/RIF 与骨关节结核

报道中很少涉及骨关节结核标本,国内李力韬等^[11]的研究只报道了 Xpert MTB/RIF 对脊柱结核病灶标本(脓液、肉芽、干酪组织)检测的敏感性为 98.44%,但未设立对照组,无特异性数据,而且标本类型不统一,增加了干扰因素,故不能准确评价 Xpert MTB/RIF 在脊柱结核中的诊断效能。

本研究通过设立骨关节结核组及非结核性骨关节疾病对照组,使用统一的脓液标本,以临床诊断为金标准,完整评价了 Xpert MTB/RIF 在骨关节结核患者脓液标本中的诊断效能,为 Xpert MTB/RIF 在骨关节结核中的应用提供了依据,为后续研究提供了一定的基础。本研究结果显示,Xpert MTB/RIF 在骨关节结核患者脓液标本检测中的敏感性为 93.87%、特异性为 96.87%、阳性预测值为 97.87%、阴性预测值为 91.17%,一致率为 95.06%;且能在 2h 内获得结果,同时能提供利福平耐药基因突变信息,本研究显示利福平的耐药基因突变率为 21.73%,这为骨关节结核的快速诊断及治疗提供了重要参考。

本研究中骨关节结核组有 3 例患者 Xpert MTB/RIF 检测阴性,假阴性结果出现的原因可能为患者脓液标本中结核分枝杆菌复合群细菌 DNA 基因中的 *rpoB* 基因降解或抗结核治疗使细菌含量减少所致。非结核性骨关节病组有 1 例 Xpert MTB/RIF 检测阳性患者,该患者细菌培养结果为溶血性链球菌,假阳性结果出现的原因可

能为:脓液标本在收集、运输、处理过程中受到结核分枝杆菌污染所致。实验中假阴性及假阳性结果出现的原因还需要进一步的试验验证。

3.4 Xpert MTB/RIF 与抗酸染色及快速培养的比较

本研究结果显示在利用脓液标本对骨关节结核患者进行检测时,Xpert MTB/RIF 的敏感性为 93.87%,明显高于抗酸染色的 17.39%及快速培养的 23.91%,差异有统计学意义($P<0.05$)。在特异性上 Xpert MTB/RIF、抗酸染色、快速培养分别为 96.87%、100%、100%,三种检测方法的特异性均大于 95%,而且三者的特异性无统计学差异($P>0.05$)。本研究结果说明,对于骨关节结核患者,Xpert MTB/RIF 在敏感性上优于抗酸染色及快速培养,特异性上与抗酸染色及快速培养无明显差异,因此 Xpert MTB/RIF 在骨关节结核快速诊断中具有较高的诊断效能。

3.5 骨关节结核脓液标本与快速诊断

骨关节结核患者就诊时常伴有脓肿,关节部位脓肿表浅容易获得。脊柱脓肿常沿软组织流注,在腰椎常表现为腰大肌脓肿或腰三角脓肿;在胸椎常表现为椎旁脓肿或背部脓肿或腰大肌脓肿,均可行 B 超定位抽脓获得。获得的脓液是临床重要的标本,使快速诊断成为可能,临床工作中骨关节结核患者的脓液标本通常为最容易获得的标本。

3.6 使用临床诊断为金标准的原因

既往文献报道评价 Xpert MTB/RIF 时多采用固体或液体培养为金标准,培养只能检测出有活菌的标本,改良罗氏培养阳性率为 20%,液体培养阳性率为 40%^[4]。然而大部分结核病患者在接受检测时均已接受过抗结核治疗,因而部分患者标本中已不存在活菌,但结核分枝杆菌 DNA 却能继续存在,这就将一部分结核患者划入非结核病组,因此采用固体或液体培养为金标准将低估 Xpert MTB/RIF 的特异性。对于肺结核患者痰标本是最容易获得的标本,组织标本难以获得,因此在肺结核患者中采用培养为金标准是合理的选择。但对于骨关节结核患者,手术中取得标本是非常容易的事,病理结果的敏感性为 80%,远高于固体或液体培养^[12],因此本研究以病理结果结合影像学及临床症状综合判断为金标准,与单纯以培养结果为金标准区分结核病与非结核病将更客

观。因此在骨关节结核患者中建议使用临床诊断为金标准来评价 Xpert MTB/RIF 的诊断效能。

综上所述, 本研究结果显示 Xpert MTB/RIF 在骨关节结核患者的快速诊断中具有较高的诊断效能, 为骨关节结核的临床诊疗工作提供了重要参考。然而本研究样本数量有限, 今后还需大样本、多中心的对照研究; 同时本研究重点关注了 Xpert MTB/RIF 在快速诊断中的价值, 未详细评价 Xpert MTB/RIF 对利福平耐药基因突变的检测性能。

4 参考文献

1. Kulchavenya E. Extrapulmonary tuberculosis: are statistical reports accurate[J]. Ther Adv Infect Dis, 2014, 2(2): 61-70.
2. Theron G, Peter J, Calligaro G, et al. Determinants of PCR performance(Xpert MTB/RIF), including bacterial load and inhibition, for TB diagnosis using specimens from different body compartments[J]. Sci Rep, 2014, 4: 5658.
3. 胡忠义, 王洪生. 肺外结核病的实验室诊断技术应用[J]. 中华结核呼吸杂志, 2008, 31(2): 92-94.
4. Steingart KR, Schiller I, Horne DJ, et al. Xpert MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2014, 1: CD009593.
5. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance[J]. N Engl J Med, 2010, 363(11): 1005-1015.
6. 中国防痨协会基础专业委员会. 结核病诊断实验室检验规程[M]. 北京: 中国教育文化出版社, 2006. 54-62.
7. 董伟杰, 秦世炳, 赵立平, 等. 骨关节结核各类标本进行结核分枝杆菌培养与 PCR 检测的阳性率结果分析[J]. 中国防痨杂志, 2014, 36(1): 46-48.
8. 罗春英, 王建东, 王璇, 等. 荧光定量聚合酶链反应检测石蜡包埋组织结核杆菌的应用价值[J]. 中华病理学杂志, 2012, 41(8): 562-563.
9. Costa P, Ferreira AS, Amaro A, et al. Enhanced detection of tuberculosis mycobacteria in animal tissues using a semi-nested probe-based real-time PCR[J]. PLoS One, 2013, 8(11): e81337.
10. Denkinger CM, Schumacher SG, Boehme CC, et al. Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis a systematic review and meta-analysis[J]. Eur Respir J, 2014, 44(2): 435-446.
11. 李力韬, 李洪敏, 马远征, 等. 应用 Xpert MTB/RIF 对脊柱结核临床标本行结核分枝杆菌与利福平耐药性检测的验证性研究[J]. 中华骨科杂志, 2014, 34(2): 211-215.
12. Sun J, Teng J, Yang H, et al. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration in diagnosing intrathoracic tuberculosis[J]. Ann Thorac Surg, 2013, 96(6): 2021-2027.

(收稿日期: 2015-01-13 修回日期: 2015-02-08)

(英文编审 蒋欣/贾丹彤)

(本文编辑 李伟霞)

消息

脊柱外科基础与临床研究新技术学习班通知

由宁波市第六医院主办的脊柱外科基础与临床研究新技术学习班 [项目编号: 2015-04-07-149 (国)] 将于 2015 年 9 月 10~12 日在宁波举行。我院已成功举办十届脊柱外科学习班, 并不断总结往届学习班存在问题, 借鉴国内、外学术会议的经验, 努力打造品牌学术会议。参与者将授予国家级 I 类医学继续教育学分 10 分。本次学习班内容包含近年脊柱外科的热点话题, 将以脊柱微创专题、脊柱退变性疾病专题、脊柱创伤专题等几大专题分类进行交流, 具体内容包括: OLIF 在腰椎疾病的应用与前景、新型经皮椎弓根螺钉固定临床应用、MISS-TLIF 技术、经皮椎体后凸成形技术及相关问题解析, 脊柱内镜技术(MED), 成人脊柱畸形(ASD)的治疗策略、严重颈椎后纵韧带骨化症的前后路手术比较、复杂寰枢椎损伤的手术技巧等。本次学习班将以专家理论授课和病例讨论两种形式进行学术交流, 为基层骨科医师与脊柱专科医师提供国内外脊柱前沿的理念与技术, 满足不同层次医师的继续教育需求。欢迎广大骨科、脊柱外科医师参与与交流。

学习班地址: 宁波市江东区百丈东路 1088 号, 宁波汉雅晶都酒店(百丈东路与福明路交叉口)。学习班费用: 500 元/人(包括注册、饮食、资料费等), 住宿自理。

报名方式: 邮箱报名: weiyujiang1210@163.com 或 2015 年 9 月 10 日下午 14~19 时现场报到。联系地址: 浙江省宁波市中山东路 1059 号, 宁波市第六医院脊柱外科。邮政编码: 315040。联系人: 蒋伟宇 [13205747589, (0574)87996113], 于亮 (18857401471)。