

圈养华南虎血液生化指标正常参考值初步研究*

任小冬¹ 黄勉² 李石洲¹ 雷胜桥¹ 虞坚颐³ 刘力军¹

(1. 广东粤北华南虎省级自然保护区管理处, 广东 韶关 512023; 2. 广州动物园, 广东 广州 510070; 3. 上海动物园, 上海 200335)

摘要 以国内部分圈养的健康华南虎 *Panthera tigris amoyensis* 作为研究对象, 通过收集华南虎血液生化报告和采集华南虎血液样本检测建立样本数据, 血样检测采用自动血液生化分析仪干式试剂片生化技术测定, 测定血液生化指标包括血糖 (GLU)、总蛋白 (TP)、总胆固醇 (CHOL)、总胆红素 (TBIL)、肌酐 (CREA) 等。得到华南虎血液生化共 38 项指标的正常参考值范围 (95% 概率), 其中几项主要指标正常值范围如下: GLU (2.82-11.55) mmol/L、TP (56.58-85.93) g/L、CHOL (3.32-8.66) μ mol/L、TBIL (0-5.30) μ mol/L、CREA (52-349) μ mol/L 等。统计结果显示, 雌雄华南虎间血液生化指标的部分项目有差异 ($P < 0.05$), 幼龄组和成年组间各项生化指标差异不显著 ($P > 0.05$), 与其他虎亚种相关血液生化报道的生化指标部分有差别。华南虎血液生化指标正常参考值范围不同于其他虎亚种, 建立华南虎血液生化指标正常值对华南虎的饲养管理、疾病诊治预防和保育繁殖研究工作有重要作用。

关键词 华南虎; 血液生化; 正常参考值

中图分类号: Q955 文献标志码: A 文章编号: 2096-2053 (2021) 01-0048-09

A Preliminary Study on Normal Reference Values of Blood Biochemical Indexes of Captive *Panthera tigris amoyensis*

REN Xiaodong¹ HUANG Mian² LI Shizhou¹ LEI Shengqiao¹
YU Jianyi³ LIU Lijun¹

(1. Provincial Nature Management Service of South China Tiger in Northern Guangdong, Shaoguan, Guangdong 512023, China; 2. Guangzhou Zoo, Guangzhou, Guangdong 510070, China; 3. Shanghai Zoo, Shanghai, 200335, China)

Abstract In this study, the normal reference values of blood biochemical indexes of domestic captive *Panthera tigris amoyensis* were studied. Taking some domestic captive healthy *Panthera tigris amoyensis* as the research object, Sample data were established by collecting blood biochemical reports and collecting blood samples of *Panthera tigris amoyensis*. Blood samples were detected by automatic blood biochemical analyzer dry reagent tablet biochemical technology. Blood biochemical indexes including blood sugar (GLU), total protein (TP), total cholesterol (CHOL), total bilirubin (TBIL), creatinine (CREA) were determined. The normal reference ranges (95% probability) of 38 blood biochemical indices of *Panthera tigris amoyensis* were obtained. including: GLU (2.82-11.55) mmol/L, TP (56.58-85.93) g/L, CHOL (3.32-8.66) μ mol/L, TBIL (0-5.30) μ mol/L, CREA (52-349) μ mol/L, etc. The statistical results showed that there were differences in some items of blood biochemical indexes between male and female *Panthera tigris amoyensis* ($P < 0.05$), and there was no significant difference in biochemical indexes between the young group and the adult group ($P > 0.05$), which were different

* 基金项目: 韶关市科技计划项目 (2014CX/K347, 2017CX/K050)。

第一作者: 任小冬 (1985—), 男, 工程师, 主要从事华南虎等野生动物繁育研究, E-mail: 455301948@qq.com。

通信作者: 黄勉 (1963—), 男, 高级兽医师, 主要从事野生动物疾病防控与诊治研究, E-mail: 876894631@qq.com。

from the biochemical indexes reported by other subspecies of tigers. The reference range of blood biochemical parameters of *Panthera tigris amoyensis* is different from that of other tiger subspecies. Establishing normal blood biochemical parameters of *Panthera tigris amoyensis* plays an important role in feeding management, disease diagnosis, prevention, conservation and reproduction of *Panthera tigris amoyensis*.

Key words *Panthera tigris amoyensis*; blood biochemical indexes; reference range

华南虎 *Panthera tigris amoyensis* 为我国特有的虎亚种, 野外已多年未发现其踪迹, 现存圈养华南虎均为上世纪五六十年代捕获的 6 只华南虎的后代^[1]。目前, 国内外对家禽及实验动物的血液生理生化指标值的研究较多, 对虎的血液生化指标研究较少。血液对于维持动物机体正常生命活动具有极其重要的意义, 血液指标能客观地反映动物机体的生理机能与代谢状况, 动物生理生化指标的测定是保种育种的基础性工作^[2]。国内华南虎血液生化指标相关研究仅介绍了均值及方差, 也未研究其正常参考值。由于生化技术的进步, 生理生化研究与遗传学研究的结合, 血液生化指标已广泛用于家畜家禽辅助选择的遗传标记。目前可查资料的华南虎血液生化指标的项目不全, 且不同研究者提供的数据各有差异, 这给华南虎的疾病诊断和健康评估带来一定影响。正常值参考范围也叫医学参考值范围是指“正常”人或

动物的生理、生化指标等数据大多数个体值的波动范围^[3]。血液生化指标的正常参考值是华南虎疾病防治和健康评估的重要参考内容。本研究从国内仅存约 160 只华南虎中选取部分健康的华南虎作为研究对象采集血样检测, 同时收集到 1995 年至 2004 年间部分华南虎体检生化报告, 对华南虎血液生化各项指标进行研究, 初步形成华南虎血液生化指标的正常参考范围, 为华南虎饲养管理、疾病防治和保育繁殖等提供科学依据, 促进华南虎种群健康发展。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选择国内人工圈养的健康华南虎, 2014—2016 年共采集到 36 只华南虎血样, 样本信息见表 1, 有效样本 34 份, 无效样本 2 份, 经检测得到血液生化报告 34 份, 其中成年虎 18 份, 幼年虎

表 1 采集样本信息
Tab. 1 Sample information

样本来源 Sample source	采样时间 Sampling time	样本数 Number	谱系号 Pedigree number	检测地 Testing place
南昌动物园 Nanchang Zoological Garden	2015-9-15	5	592; 593; 594; 595; 596	广州实验室
	2016-8-16	2	615; 616	
	2016-8-31	1	393	
韶关华南虎繁育研究基地 Shaoguan Research Base of South China Tiger Breeding	2015-4-13	8	373; 387; 470; 474; 485; 486; 505; 506	
	2016-8-30	1	528	
广州动物园 Guangzhou Zoological Garden	2014-9-16	1	496	
	2014-10-23	1	522	
	2014-9-12	9	349; 521; 523; 526; 528; 541; 542; 543; 546	上海实验室
上海动物园 Shanghai Zoological Garden	2014-9-25	2	348; 366	
	2016-5-18	1	612	
	2016-9-13	1	449	
	2016-9-19	1	518	
	2014-9-12	1	334	
苏州动物园 Suchou Zoological Garden	2014-10-24	1	342	
	2016-10-21	1	377	

16份,雌性15份,雄性,19份。由于华南虎数量稀少,血液样本采集十分困难,为扩大研究范围,从广州动物园和上海动物园收集到31份华南虎的血液生化检测报告,检验时间为1995—2004年。综合本项目采集的样本数据,共得到65份血液生化数据(表2)。

1.2 采集方法

本次采集血液样本时要求华南虎需空腹12 h以上,13头成年虎使用舒泰+多咪静的复合麻醉采血,5头成年虎用治疗夹笼控制后在后肢或尾部采血,幼年虎捕捉后强制在其后肢静脉采血。华南虎血样使用肝素锂抗凝管保存,血样采集后需要轻轻摇匀抗凝管至少5次,让血样与抗凝剂混匀,并在15 min到4 h内测试,最佳测试时间为30 min到2 h内。如生化检测不能在4 h内完成,则需要分离血浆后2-8℃密封保存和运输,距采血时间最长不超过48 h,否则作为无效样本处理。检测时血浆样本需清晰、无溶血现象方为有效样本。

本文共得到华南虎血液生化指标38项指标数据,其中检测组34个样本共测得25项指标,包括血糖、总胆固醇、甘油三酯、血淀粉酶、总蛋白、白蛋白、球蛋白、白球比、总胆红素、直接胆红素、间接胆红素、碱性磷酸酶、 γ -谷氨酰转氨酶、丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、血清尿酸、肌酸肌酶、乳酸脱氢酶、血清肌酐、血清尿素、钾、钠、氯、钙、无机磷;收集组31个样本共收集到32项指标,除检测组上述指标,还有13项指标有数据录入,本文一并纳入

计算其正常值范围,这13项指标包括高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、载脂蛋白A1测定、脂蛋白a测定、载脂蛋白B测定、胆碱酯酶、镁、超敏C反应蛋白、肌红蛋白、糖化血清蛋白、肌酸肌酶-MB同工酶、 α -羟丁酸脱氢酶和肌钙蛋白T定量。

1.3 研究设备和方法

主要仪器和耗材有:美国IDEXX Catalyst Dx动物专用全自动生化分析仪;配套试剂片(IDEXX Catalyst Dx专用试剂片);真空采血管—抗凝剂(肝素锂)、一次性采血器;电动推剪、刮毛刀等。因华南虎分布在全国各地,采集血液后有效保存时间较短,空运受到限制,其他运输方式都无法确保血样及时送达实验室。因此,本项目分别在上海动物园、广州动物园设立血液生化实验室。本着使试验的误差最小化原则,两家实验室均使用同一品牌、同一型号的仪器对样本进行检测。该生化分析仪使用干式试剂片生化技术,该技术采用过滤层去除杂质,可以获得可靠准确的结果。首先将样本加入扩散层顶端,被检测样本滴注到扩散层表面,扩散层使样本均匀分配,过滤层将会过滤干扰因素,在试剂层试剂和样本产生反应,测试层对样本进行光谱分析,光学测试反应后的样本,在支持层通过对光学界面扫描得出检测结果。

1.4 统计和计算方法

利用SPSS 20软件对所有数据进行统计分析。计算正常参考值最基本的方法有正态分布法和百

表2 总样本分组统计

Tab. 2 Statistical table of total sample grouping

分组方式 Grouping method		幼龄组 Infant group			成年组 Adult group			合计 Total
		0-1	1-2	2-3	3-5	5-7	7-10	
检测组 Test group 2014—2016	雌性 Female	4	3	1	4	2	1	15
	雄性 Male	4	1	3	4	1	6	19
	小计 Subtotal		16			18		34
收集组 Collection data group 1995—2004	雌性 Female	1	2	0	2	4	2	11
	雄性 Male	3	0	1	3	7	6	20
	小计 Subtotal		7			24		31
合计 Total			23			42		65

分位数法。百分位数法适合于任何分布类型的资料，故在实际中最为常用；正态分布法要求资料必须服从或近似服从正态分布，缺点是适用范围较窄，不适合偏态分布的数据资料。表3给出了两种方法90%、95%、99%3种概率作为参考区间的计算公式^[3]。

本文中每项指标首先进行正态性检验，当渐进显著性（双侧） $P > 0.05$ 时，即被验证数据符合正态分布，正常值取值范围采用表3中正态分布法相应概率的公式计算得出。经非参数检验的单样本Kolmogorov-Smirnov检验，渐进显著性（双侧）小于0.05，不符合正态分布（ $P < 0.05$ ），采用表3中百分位数法计算得出。百分位数的计算方法较为繁琐，一般可用 P_m 表示第 m 百分位数的形式表达。假设有 n 个有效样本，某项指标值分别记为 $x_1, x_2, \dots, x_n$ 。将这 n 个中标价由小到大排列，记排列后的指标值为 $x_{(1)} \leq x_{(2)} \leq \dots \leq x_{(n)}$ ，其中 $x_{(k)}$ 表示 n 个指标值经排列之后“第 k 小”的指标值（注：“第1小”即最小，“第 n 小”即最大），记 $x_{(0)} = 0$ 。现计算某一百分位数 P_m ，只需找到正整数 $k(k=0,1,\dots,n-1)$ ，使得 $\frac{k}{n} < m < \frac{k+1}{n}$ ，则 $x_{(k)} < P_m < x_{(k+1)}$ ，且 $P_m = (nm-k)(x_{(k+1)} - x_{(k)}) + x_{(k)}$ 。两种方法不同概率下的医学参考值范围计算公式见表3。

2 结果与分析

2.1 统计结果和正常值范围

经过筛选统计共有合格的血液生化检验报告65份，其中34份为此次研究项目采集的有效样本，检验时间为2014—2017年。另外31份血液

生化检验报告为上海动物园和广州动物园提供，检验时间为1995—2004年。总蛋白、总胆红素、血清肌酐、血清尿酸、葡萄糖、总胆固醇、甘油三酯等主要项目的数据达到50个以上，具备一定的统计学意义。综合考量华南虎种群数量和本次实验的实际情况后，认为95%的概率范围能较好地兼顾可信度和精确度，故本文中的医学参考值范围取95%的概率为正常值参考区间。

本文共得到华南虎血液生化38项指标数据，由于其中部分收集项指标数据量较少，如胆碱酯酶仅有13个数据，超敏C反应蛋白仅有11个数据，肌红蛋白和肌钙蛋白T定量都只有12个数据，本文所得的正常值范围仅为现有数据的统计计算结果。

2.1.1 肝、肾功能的正常值范围和统计参数 在血液生化指标中肝、肾功能各项指标具有重要作用，血浆中肝、肾功能指标中多项指标的渐进显著性（双侧） $P < 0.05$ ，其指标值不符合正态分布，这部分指标的正常值范围采用百分位数法计算得出，华南虎部分肝、肾功能指标的正常值范围和统计参数见表4。

2.1.2 血糖、血脂及几种酶的正常值范围和统计参数 华南虎血糖、血脂及几种酶等多项符合正态分布（ $P > 0.05$ ），但也有部分指标样本数较少，统计检验不符合正态分布（ $P < 0.05$ ），这部分指标的正常值范围和统计参数见表5。

2.1.3 生化指标中几种离子含量的正常值范围和统计参数 血液中各种微量离子的含量能反映华南虎身体机能状况，其中，钠离子、氯离子和钙离子含量的渐进显著性（双侧） $P < 0.05$ ，拒绝原

表3 医学参考值范围的正态分布法和百分位数法计算公式^[3]

Tab. 3 Formulas of normal distribution method and percentile method for calculating the range of medical reference values

概率 / % Probability	正态分布法 Normal distribution method			百分位数法 Percentile method		
	双侧 Bilateral	单侧 Unilateral		双侧 Bilateral	单侧 Unilateral	
		下限 Lower limit	上限 Upper limit		下限 Lower limit	上限 Upper limit
90	$\bar{X} \pm 1.64S$	$\bar{X} - 1.28S$	$\bar{X} + 1.28S$	$P_{5-P_{95}}$	P_5	P_{95}
95	$\bar{X} \pm 1.96S$	$\bar{X} - 1.64S$	$\bar{X} + 1.64S$	$P_{2.5-P_{97.5}}$	$P_{2.5}$	$P_{97.5}$
99	$\bar{X} \pm 2.58S$	$\bar{X} - 2.33S$	$\bar{X} + 2.33S$	$P_{0.5-P_{99.5}}$	$P_{0.5}$	$P_{99.5}$

注： $\bar{X}$ 表示均值， S 表示标准差， P_m 表示第 m 百分位数。

Note: $\bar{X}$ is the mean value, S is the standard deviation, P_m stands for the m -th percentile.

假设,即不符合正态分布。生化指标中几种离子含量的正常值范围和统计参数见表6。

2.1.4 几项离散度较大指标的正常值范围和统计参数 项目中得到的华南虎生化指标中有几项指标的标准差大于或2到3倍于均值,数据离散度较大,且正态性检验显示这部分项目渐进显著性(双侧) $P < 0.05$,拒绝原假设,即不符合正态分布。因此,这几项指标的正常值范围采用百分位

数法进行计算,其正常值范围和统计参数见表7。

2.2 差异性分析

大量资料显示,血液生化值受品系、性别、年龄、营养因素的影响,这些因素的微小变化都会引起测定值的变化^[4]。因此研究华南虎血液生化指标正常值应当进行年龄、性别等因素的差异性分析。差异性分析需要分组后首先进行正态性检验,当符合正态分布时,才能进行独立样本t检

表4 华南虎血液生化指标中肝、肾功能的正常值范围

Tab. 4 Normal range of liver and kidney function in blood biochemical indexes of *Panthera tigris amoyensis*

测试项目 Inspection item	简称 Abbr	单位 Units	样本数 Sample size	正常值范围 Normal range	$\bar{X} \pm S$	渐近显著性(双侧) Asymptotically significant (bilateral)
总蛋白	TP	g/L	65	56.58-85.93	71.26 $\pm$ 7.49	0.829
白蛋白	ALB	g/L	65	22.00-50.93	36.49 $\pm$ 7.37	0.026
球蛋白	GLB	g/L	65	20.77-48.62	34.69 $\pm$ 7.10	0.812
白球比	A/G		65	0.33-1.91	1.12 $\pm$ 0.40	0.193
总胆红素	TBIL	$\mu\text{mol/L}$	63	0.00-5.30	2.53 $\pm$ 1.41	0.090
直接胆红素	DBIL	$\mu\text{mol/L}$	37	0.20-1.66	0.93 $\pm$ 0.37	0.588
间接胆红素	IBIL	$\mu\text{mol/L}$	37	0.00-4.20	1.55 $\pm$ 1.36	0.194
碱性磷酸酶	ALP	U/L	53	6.75-196.6	61.77 $\pm$ 50.39	0.003
γ -谷氨酰转氨酶	GGT	U/L	37	0.00-10.00	2.79 $\pm$ 2.57	0.043
胆碱酯酶	CHE	U/L	13	969-3 521	2 244.9 $\pm$ 650.95	
血清肌酐	CREA	$\mu\text{mol/L}$	65	52-349	200.66 $\pm$ 75.60	0.835
血清尿素	UREA	$\mu\text{mol/L}$	41	8.52-37.96	16.41 $\pm$ 9.30	0.013

注: $\bar{X}$ 表示均值, S 表示标准差; 渐近显著性(双侧)即为 P 。

Note: $\bar{X}$ is the mean value, S is the standard deviation; the asymptotical significance (bilateral) is P .

表5 华南虎生化指标中血糖、血脂及几种酶等的正常值范围

Tab. 5 Normal ranges of blood sugar, lipid and several enzymes in biochemical indexes of *Panthera tigris amoyensis*

测试项目 Inspection item	简称 Abbr	单位 Units	样本数 Sample size	正常值范围 Normal range	$\bar{X} \pm S$	渐近显著性(双侧) Asymptotically significant (bilateral)
血糖	GLU	mmol/L	65	2.82-11.55	7.19 $\pm$ 2.23	0.478
总胆固醇	CHOL	mmol/L	51	3.32-8.66	5.99 $\pm$ 1.36	0.608
甘油三酯	TRIG	mmol/L	51	0.00-1.14	0.56 $\pm$ 0.30	0.067
高密度脂蛋白胆固醇	HDL-C	mmol/L	31	2.39-5.71	6.58 $\pm$ 11.40	0.000
低密度脂蛋白胆固醇	LDL-C	mmol/L	31	0.52-2.25	1.25 $\pm$ 0.53	0.935
载脂蛋白 A1 测定	APO-AI	mmol/L	30	0.63-62	35.08 $\pm$ 29.16	0.087
脂蛋白 a 测定	LP (a)	mg/mL	30	0.30-5.10	3.17 $\pm$ 1.76	0.025
血淀粉酶	AMY	U/L	36	200-2 148	1027 $\pm$ 648	0.320
超敏 C 反应蛋白	hs-CRP	mg/L	11	0.01-0.20	0.10 $\pm$ 0.05	0.340
肌红蛋白	MYO	ng/mL	12	14-146	37.92 $\pm$ 34.04	0.003
糖化血清蛋白	GSP	mmol/L	17	0.61-3.65	2.13 $\pm$ 0.78	0.423

注: $\bar{X}$ 表示均值, S 表示标准差; 渐近显著性(双侧)即为 P 。

Note: $\bar{X}$ is the mean value, S is the standard deviation; the asymptotical significance (bilateral) is P .

验一即差异性检验。当分组后的正态性检验不符合正态分布时,无法进行独立样本 t 检验,即无法判断该分组因素对数据的差异性。由于本文涉及项目较多,在此仅以血糖为例介绍性别分组和年龄分组两种分组情况下生化指标的差异分析方法。

2.2.1 以血糖为例雌雄两组的差异性分析 血糖按性别分组后雌雄比例为 26:39,因为雌性两组是两个相互独立的,因此我们选择独立样本的 t 检验方法处理结果均值之间的差异是否显著进行检验,表 8 是按性别分组后血糖指标的统计量,雌性均值 (7.510 8 mmol/L) 明显高于雄性均值 (6.976 1 mmol/L)。

表 9 给出了 t 检验结果,首先做方差齐性检

验,本例中 $F = 0.485$, $P = 0.492 > 0.05$,故应选择“假设方差相等”一行的结果进行显著差异性分析;双侧 $P = 0.031 < 0.05$,故应拒绝原假设,由于 $0.05 > P > 0.01$,所以性别对血糖指标影响的差异性较为显著。

根据上述方法分别对华南虎各项生化指标按性别分组进行正态性检验,当符合正态分布时用独立样本 t 检验进行差异性分析,其中样本数少于 20 和离散度较大的生化指标分组后不符合正态分布,无法进行差异性分析。独立样本 t 检验结果显示血糖 (GLU)、钾 (K)、钙 (C)、磷 (PHOS)、球蛋白 (GLB)、白球比 (A/G)、碱性磷酸酶 (ALP)、 γ -谷氨酰转肽酶 (GGT)、肌酐 (CREA)、尿素

表 6 华南虎生化指标中几种离子含量的正常值范围

Tab. 6 Normal ranges of ion contents in biochemical indices of *Panthera tigris amoyensis*

测试项目 Inspection items	简称 Abbr	单位 units	样本数 Sample size	正常值范围 Normal range	$\bar{X} \pm S$	渐近显著性 (双侧) Asymptotically significant (bilateral)
钾	K	mmol/L	51	1.88-6.66	4.27 ± 1.22	0.066
钠	Na	mmol/L	51	82-159	146.58 ± 31.60	0.000
氯	Cl	mmol/L	51	108-127	118.54 ± 18.08	0.000
钙	Ca	mmol/L	57	2.10-3.30	2.70 ± 0.31	0.027
镁	Mg	mmol/L	23	0.79-1.25	1.02 ± 0.12	0.673
无机磷	PHOS	mmol/L	47	0.00-4.30	1.98 ± 1.18	0.113

注: $\bar{X}$ 表示均值, S 表示标准差; 渐近显著性 (双侧) 即为 P 。

Note: $\bar{X}$ is the mean value, S is the standard deviation; the asymptotical significance (bilateral) is P .

表 7 几项离散度较大指标的正常值范围和统计参数

Tab. 7 Normal ranges of ion contents in biochemical indices of *Panthera tigris amoyensis*

测试项目 Inspection items	简称 Abbr	单位 units	样本数 Sample size	正常值范围 Normal range	$\bar{X} \pm S$	渐近显著性 (双侧) Asymptotically significant (bilateral)
丙氨酸氨基转移酶	ALT	U/L	55	15.40-619.9	87.45 ± 117.06	0.000
天门冬氨酸氨基转移酶	AST	U/L	50	9.39-243	98.63 ± 344.06	0.000
血清尿酸	UA	$\mu\text{mol/L}$	52	0-26.4	10.67 ± 34.08	0.000
载脂蛋白 B 测定	APO-B	mg/mL	20	0.10-55.3	9.82 ± 20.69	0.021
肌酸肌酶	CK	mg/mL	42	7-2 487	1157 ± 3333	0.000
肌酸肌酶 -MB 同工酶	CK-MB	ng/mL	16	0-412	92.6 ± 162.38	0.032
乳酸脱氢酶	LDH	U/L	57	0-1 128	243.66 ± 351.20	0.002
α -羟丁酸脱氢酶	α -HBDH	U/L	14	23-588	156.14 ± 184.31	0.154
肌钙蛋白 T 定量	cTnT	ng/L	12	12.5-89	42.07 ± 71.98	0.030

注: $\bar{X}$ 表示均值, S 表示标准差; 渐近显著性 (双侧) 即为 P 。

Note: $\bar{X}$ is the mean value, S is the standard deviation; the asymptotical significance (bilateral) is P .

(UREA) 的双侧 $P < 0.05$, 拒绝原假设, 即这几项指标受性别影响较为显著; 其他指标的双侧 $P > 0.05$, 接受原假设, 即这部分指标雌雄间差异不显著。

2.2.2 以血糖为例幼龄组和成年组的差异性分析 血糖指标按年龄分组后幼龄组和成年组比例为 23:42, 因为幼龄组和成年组是两个相互独立的, 因此利用独立样本的 t 检验方法对均值之间的差异是否显著进行检验, 表 10 是按年龄分组后血糖指标的统计量, 幼龄组均值 (7.174 5 mmol/L) 与成年组均值 (7.198 5 mmol/L) 相差不大。

表 11 给出了 t 检验结果, 首先做方差齐性检验, 本例中 $F = 0.0103, P = 0.751 > 0.05$, 故应选择“假设方差相等”一行的结果进行显著差异性分析; 双侧 P 值 = 0.086 > 0.05 , 故应接受原假设, 所以幼龄组和成年组的血糖指标差异不显著。

根据上述方法分别对华南虎各项生化指标幼龄组和成年组分组进行正态性检验, 当符合正态分布时用独立样本 t 检验进行差异性分析, 其中样本数少于 20 和离散度较大的生化指标分组后不符合正态分布, 无法进行差异性分析。独立样本 t 检验结果显示全部生化指标的双侧 $P > 0.05$, 接受原假设, 即华南虎血液生化指标幼龄组与成年组差异不显著。

3 结论与讨论

3.1 本文检测和收集血液生化指标共达 38 项, 得到较全面的华南虎血液生化指标数据, 与同类技术论文的方法比较见表 12。

3.2 血液生理生化指标受品种品系、性别、年龄、营养因素的影响, 这些因素的微小变化都会引起测定值的变化^[4], 华南虎的血常规和生化研究中, 很多影响因素难以控制, 如遗传、营养、饲养条件等都不能做到相同。华南虎现全球仅存活 160 只左右, 可供研究的样本量极少, 所以我们把外观、行为等较正常且无明显病症的华南虎都暂认为其是正常的。因此, 在本文中影响被研究指标主要的可控制因素达到相同或基本相同就认为是同质, 本文假设所有参加统计的华南虎都是在同质的条件下进行的。在本文所述研究中, 通过人员培训、控制检测条件等措施, 来减少检测误差。

3.3 由于华南虎血样采集条件和部分报告检测方法不同, 少部分指标离散度较大, 这可能是多种因素共同造成。限于华南虎分散于全国各地, 实验研究难度极大, 本文仅对造成统计结果异常的个别原因做出推测。如统计检验结果显示肌酸激酶 (CK)、肌酸肌酶 -MB 同工酶 (CK-MB)、乳

表 8 血糖指标按性别分组的统计量

Tab. 8 Statistics of blood glucose indexes grouped by gender

组别 Group	<i>N</i>	均值 Mean	标准差 SD	均值的标准误 Standard error of mean
雄 Male	39	6.976 1	2.277	2.256
雌 Female	26	7.510 8	2.239	2.218

表 9 血糖指标按性别分组的 t 检验结果

Tab. 9 T test results of blood glucose indexes grouped by gender

项目 Item	方差方程的 Levene 检验 Levene test of variance equation		均值方程的 t 检验 T test of mean value equation						
	<i>F</i>	Sig.	<i>t</i>	df	Sig. (双侧) Bilateral	均值差 值 Mean difference	标准误差 值 Standard error	差分的 95% 置信区间 95% confidence interval of difference	
假设方差相等 Suppose the variances are equal	0.485	0.492	2.27	28	0.031	0.534 7	0.378 42	0.150 31 (下限)	2.929 69 (上限)
假设方差不相等 Suppose the variance is not equal			2.27	27.984	0.031	0.534 7	0.377 83	0.150 28 (下限)	2.929 72 (上限)

表 10 血糖指标按年龄分组的统计量
Tab. 10 Statistics of blood glucose indexes grouped by age

组别 Group	N	均值 Mean	标准差 SD	均值的标准误 Standard error of mean
幼龄组 Juvenile group	23	7.174 5	2.089	2.026
成年组 Adult group	42	7.198 5	2.284	2.252

表 11 血糖指标按年龄分组的 t 检验结果
Tab. 11 T test results of blood glucose indexes grouped by age

项目 Item	方差方程的 Levene 检验 Levene test of variance equation		均值方程的 t 检验 T test of mean value equation						
	F	Sig.	t	df	Sig.(双侧) bilateral	均值差 值 Mean difference	标准误 差值 Standard error	差分的 95% 置信区间 95% confidence interval of difference	
假设方差相等 Suppose the variances are equal	0.103	0.751	1.785	26	0.086	0.022 0	0.749 12	-0.202 61 (下限)	2.887 05 (上限)
假设方差不相等 Suppose the variance is not equal			1.786	24.734	0.072	0.022 0	0.712 66	-0.131 34 (下限)	2.805 77 (上限)

表 12 同类技术论文所用仪器和方法的比较
Tab. 12 Comparison of instruments and methods used in similar technical papers

论文及作者 Papers and Authors	仪器 Instrument	方法 Method	项目数 Index number	成果 Achievements
本文	IDEXX Catalyst Dx 生 化分析仪	干式试剂片生化技术	25	综合得到 38 个项目的正常 值范围
《东北虎和华南虎血象 及血液生化指标的测 定》 ^[6]	ASTRA-8 型和 RX-T 型分析仪	血红蛋白采用 光电比色法	13	得到华南虎和东北虎血液的 部分项目的均值和标准差
《华南虎血液及生物化 学某些指标的测定》 ^[7]	日立 -7150 全自动生化 分析仪 康宁 -903 离子分析仪		19	华南虎血液雌雄之间，各年 龄段之间差异不显著
东北虎和孟加拉白虎血 常规及血液生化指标 ^[8]	军区医院仪器设备		21	得到东北虎和孟加拉白虎的 部分项目的均值和标准差

酸脱氢酶（LDH）等指标数据不符合正态分布，得到的数据标准差是均值的一倍至三倍，离散度较大，根据经验这种情况可能与华南虎血样采集时的应激程度有关。应激是指机体受到体内外非特异有害因子（应激源）的刺激所表现的防御反应（应激反应）和机体障碍^[5]。因此，应激对华南虎血液生化指标的影响仍需作进一步研究。

3.4 由于华南虎血液生化指标的研究较少，本文将两篇华南虎血液指标相关论文中的数据进行部分比对。张锡然^[6]于1993年在《兽类学报》发表《东北虎和华南虎血象及血液生化指标测定》中部分项目的均值和范围分别为总蛋白 61.7(56.0-68.0) g/L、白蛋白 33.6(31.0-36.0) g/L、球蛋白 28.1(22.0-33.0) g/L、肌酐 70.47(55.0-89.0) μmol/L、氯 118.57(114-126)

mmol/L、钠 143.21(140-147) mmol/L、钾 4.53(4.3-5.0) mmol/L、钙 2.78(2.6-3.0) mmol/L、磷 2.70(2.50-3.13) mmol/L、碱性磷酸酶 108.88(76-125) U/L。与本文所得结果有一定的差别,可能是检测方法、仪器、华南虎饲养条件等因素有关。凌铭德等^[7]于1998年在《动物学报》发表的《华南虎血液及生物化学某些指标的测定》中大部分项目与本文统计结果相近。但本文中乳酸脱氢酶的均值和范围 243.66(8.67-1827) U/L 明显高于凌铭德报道的 (8.67-95.81U/L),造成这种差异可能为采集样本时虎的应激程度不同造成,与应激程度有关的可能还有肌酸激酶、肌酸激酶-MB 同工酶、 α -羟丁酸脱氢酶等几项指标,具体影响机制有待于进一步研究。

3.5 为研究华南虎与其他虎亚种在血液生化各项指标之间有无差异,本文对比了几篇论文中的孟加拉虎 *Panthera tigris tigris* 和东北虎 *Panthera tigris altaica* 的生化指标数据。张锡然等^[6]发表的东北虎部分生化指标的均值和范围为:总蛋白 61.2(50.0-73.0) g/L、白蛋白 36.0(28.0-49.0) g/L、球蛋白 26.2(20.0-32.0) g/L、肌酐 120.48(61.8-221.0) μ mol/L 与本文差别较大,其发表的离子类指标如钠 145.57(136-157) mmol/L、氯 116.08(105-124) mmol/L、钾 4.18(3.3-5.3) mmol/L、钙 2.78(2.5-3.0) mmol/L、磷 2.82(1.68-4.09) mmol/L 与本文所得结果差别不大。阿布力孜·阿布力米提等^[8]发表文章中东北虎和孟加拉白虎的总蛋白、总胆红素、肌酐、肌酸激酶、淀粉酶的均值均小于本文所得均值;甘油三酯、碱性磷酸酶、乳酸脱氢酶的均值均大于本文所得均值;其 α -羟丁酸脱氢酶的均值对比本文均值结果显示为东北虎小于华南虎,但华南虎小于孟加拉白虎;其报道的钙、磷、镁离子含量同本文所得结果近似,所以东北虎和孟加拉白虎的各项生化指标均与华南虎存在不同程度差别。Shrivatav 等^[9]报道的孟加拉虎部分生化指标参数的范围和平均值为:总蛋白质 (3.7-8.7)、(6.40 $\pm$ 1.88) mg/dL,白蛋白 (2.1-4.6)、(3.50 $\pm$ 0.99) mg/dL,总胆红素 (0.4-3.2)、(1.90 $\pm$ 1.21) mg/dL,肌酐 (1.6-4.6)、(2.90 $\pm$ 1.03) mg/dL 等,其总蛋白、白蛋白的范围和参数与本文结果近似;虽然其总胆

红素、肌酐的均值明显高于本文所得结果,但总胆红素、肌酐的范围与本文所得结果有部分重叠。

由此发现,华南虎与其他虎亚种血液生化各项指标存在一定差别。华南虎血液生化指标正常参考值范围不同于其他虎亚种,建立华南虎血液生化指标正常值对华南虎的饲养管理、疾病诊治预防和保育繁殖研究工作有积极意义。

致谢 本文血液检测工作由上海动物园和广州动物园完成;上海、广州、苏州、南昌动物园提供华南虎血液标本;上海动物园袁耀华和桂剑锋、苏州动物园李林翔、广州动物园彭仕明和单芬、韶关华南虎繁育研究基地李秋明等同志参与部分工作,特此表示感谢。

参考文献

- [1] 陈连潮,李石洲,雷胜桥,等.半野化条件下华南虎繁殖行为研究[J].林业与环境科学,2016,32(5): 74-76.
- [2] 陶勇,张志忠,李慧英.黑鹿血液生理生化指标的测定[C]//中国畜牧兽医学会动物生理生化分会.全国动物生理生化第九次学术交流会论文摘要汇编.中国畜牧兽医学会动物生理生化分会:中国畜牧兽医学会,2006.
- [3] 李康,贺佳.医学统计学[M].6版.北京:人民卫生出版社,2013:22-23.
- [4] 刘科,王刚,赵伟健,等.不同性别、年龄SPF级新西兰兔血液生理生化参数比较[J].实验动物与比较医学,2009,29(1) 40-43.
- [5] 李石洲,蔡勤辉.华南虎繁育技术[M].北京:中国科学技术出版社,2012: 61.
- [6] 张锡然,陈宜峰,朱红阳.东北虎和华南虎血象及血液生化指标的测定[J].兽类学报,1993,13(4):302-303.
- [7] 凌铭德,李克东,李仲逵,等.华南虎血液及生物化学某些指标的测定[J].动物学报,1998,44(4)430-434.
- [8] 阿布力孜·阿布力米提,丁新民,樊江,等.东北虎和孟加拉白虎血常规及血液生化指标研究[J].安徽农业科学,2013(18):7836-7837.
- [9] SHRIVATAV A B, SINGH K P, MITTAL S K, et al. Haematological and biochemical studies in tigers (*Panthera tigris tigris*)[J]. European Journal of Wildlife Research, 2012, 58(1): 365-367.