



國立臺灣大學獸醫專業學院臨床動物醫學研究所

碩士論文

Institute of Veterinary Clinical Science

School of Veterinary Medicine

National Taiwan University

Master Thesis

圈養金背鳩血液生化、蛋白質電泳參考值之建立與研究

The Study in Hematologic, Plasma Biochemical and Protein

Electrophoretic Values of Captive Oriental Turtle Doves

(*Streptopelia orientalis*)

蔡伊婷

I-Ting Tsai

指導教授：季昭華 博士

Advisor: Chau-Hwa Chi, D.V.M., Ph.D.

中華民國 104 年 7 月

July, 2015

國立臺灣大學 (碩) 博士學位論文
口試委員會審定書

圈養金背鳩血液生化、蛋白值電泳參考值之建立
與研究

The Study in Hematologic, Plasma Biochemical and
Protein Electrophoretic Values of Captive Oriental Turtle
Doves (*Streptopelia orientalis*)

本論文係蔡伊婷君 (R01643002) 在國立臺灣大學獸醫學
系、所完成之碩 (博) 士學位論文，於民國 104 年 07 月 17
日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明

口試委員：

季昭華

(簽名)

(指導教授)

吳沁亭

郭鴻志

系主任、所長

季昭華

(簽名)

誌謝




從小就對野生動物深感興趣，大學畢業後能如願進入臨床所的大動物暨野生動物組時在是非常幸運。三年的訓練過的飛快，從懵懵懂懂的階段開始，學習安全麻醉各式各樣的動物，擔任學長姐醫療上的小幫手，磨練醫療的邏輯，上山下海的進行野外的野生動物麻醉和醫療實戰，一直到現在能獨立看診並完成論文，都讓我對曾經幫助過我的人深懷感激。

首先需要感謝指導教授季昭華老師，因為有老師大力的支持和協助野生動物醫療和非犬貓門診，才能有這麼棒的學習環境和訓練制度。在臨床或研究工作上遇到任何挫折和困難，老師都會適時的給予指導。除了專業上給予我們開放學習的機會，為人處世方面也深受老師教誨，非常感謝老師！還要感謝吳應寧老師在研究所期間的指導和鼓勵，並常常與我分享人生經歷和省思小故事，讓我受益良多！謝謝郭鴻志老師，從大學時期的寄生蟲藥理課到研究所階段獼猴計畫，受到老師多方照顧，很感謝老師！

再來是親愛的實驗室大家，大師兄品奐、手藝很棒的志純學姐、手很大的鉅宇學長、戴耳環的彥霖學長、同樣喜愛鳥兒的儒頌、社會經驗豐富的加力、喜愛車子的晉嘉、GA-VET 負責人吊嘎、很瘦的惠淳、同樣喜歡鳥和橘色的以琳、很高的傑凱，都在我實驗過程中適時的給予援助，無論是保定抽血液或是協助麻醉檢驗金背鳩性別，沒有你們就無法完成今日的成果。還要特別感謝台北市野鳥協會，協助金背鳩的救助，同時讓我有機會採集血液樣本，很開心可以與您們合作，共同為我們喜愛的野鳥付出一份心力。感謝康華老闆，從大學階段就努力幫我們印出所有的報告。

感謝我的實驗動物金背鳩們，需忍受我打掃環境的騷擾，還有採集血液和內視鏡的操作，謝謝你們的貢獻讓我們有機會造福更多的金背鳩，希望你們在野外都能健康開心。

最後我要感謝我最親愛的朋友和家人：陳凌、靖萱和柏蒼，在我遭遇挫折、



心靈受創的時刻有宣洩的出口，謝謝你們給予脆弱的我這麼多的支持和鼓勵，讓我可以有繼續堅持下去的動力；永遠跟我站同邊的爸爸和媽媽，沒有您們無盡的愛，就沒有今日的我，很謝謝您們讓我可以自由選擇我所喜歡的事情！還要感謝小黑和小花，讓我在一週的工作後，有最甜蜜、最簡單、不需言語的情感交流。非常感謝你們，也祝福這些曾給我協助的師長、親朋好友和家人，都能永遠幸福快樂。

本論文謹獻給所有曾經協助和照顧過我的人們和動物們，謝謝你們。

中文摘要



金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 屬於台灣特有亞種鳥類，除了中高海拔外，幾乎遍布台灣，和人類生活環境重疊性高。金背鳩在北部救傷單位統計數量較中南部多，常需要醫療上的協助。然而目前無可供參考的血檢值來提供正確的臨床疾病診斷依據。故本研究主要目的為建立金背鳩血液生化參考值及蛋白質電泳參考值，並針對年齡、性別和體態等差異對結果進行分析。最後比較總蛋白的兩種檢驗方式，以期找到相關性來降低檢驗所需之血液樣本需求量，並可運用於臨床上。

實驗共收集圈養金背鳩亞成鳥 8 隻和成鳥 36 隻，其中公鳥 19 隻、母鳥 25 隻。以物理保定進行翼靜脈採血，血液常規檢查項目包括血容比(PCV)、血紅素(Hb)、紅白血球計數、血球分類比例，及血液生化學項目包括總蛋白 (TP)、白蛋白 (Albumin)、葡萄糖 (Glucose)、天門冬酸鹽轉胺酶 (AST)、尿素氮 (BUN)、膽固醇 (Cholesterol)、肌酐激酶 (CK)、尿酸 (Uric acid)、三酸甘油脂 (Triglyceride)、血鈣 (Ca)、血磷 (P)、血鈉 (Na)、血氯 (Cl)、血鉀 (K) 等項目，建立健康個體的參考值範圍，並以血漿進行蛋白質電泳分析，呈現各蛋白質種類的比例、血漿濃度參考值以及圖形的分布。最後採取少量血漿以屈光鏡讀取數值與化學方法 (biuret method) 比較。

結果顯示性別對金背鳩血檢數值沒有影響，在年齡上有顯著差異性，其影響的項目包含總蛋白、白蛋白、血磷、膽固醇、血鈉、血氯、血鉀、Alpha₂ 和 Beta globulin。成鳥的總蛋白、白蛋白、膽固醇、血鈉、血氯和 Alpha₂ globulin 濃度高於亞成鳥；血磷、血鉀和 Beta globulin 比例低於亞成鳥。體態影響項目為總蛋白和白蛋白，體態較佳的鳥隻此兩項濃度較高。屈光鏡檢驗血中總蛋白的結果與化學方法 (biuret method) 呈現高度相關性，顯示此方法可準確運用於預測金背鳩總蛋白血漿濃度

的變化。

本研究結果建立金背鳩血液生化學及蛋白質電泳的參考數值，並確立屈光鏡檢驗金背鳩總蛋白血漿濃度的準確性，對於金背鳩的臨床病理學、醫療救傷及保育工作具有重要的參考價值。

關鍵字：金背鳩、血液學、血液生化、參考值、蛋白質電泳、屈光鏡

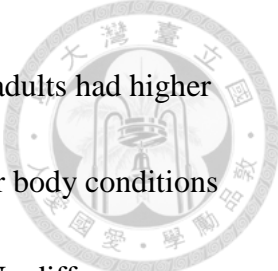
Abstract



Oriental Turtle Doves (*Streptopelia orientalis*), belonging to the endemic subspecies in Taiwan live across almost entire Taiwan except intermediate and high altitude. In our rescue center, the case number of Oriental Turtle Dove is increasing. The goal of this study was to establish reference intervals for hematology, plasma biochemical analysis, and plasma protein electrophoresis for oriental turtle doves. In addition, we analyzed the inference of age, gender, and body condition in these values, and evaluated the accuracy of hand-held refractometer in determining total plasma protein concentrations in Oriental Turtle Doves as compared with the standard biuret method.

Blood samples were taken from the basilic vein from 8 subadults and 36 adults (25 females and 19 males) captive Oriental Turtle Doves. Hematologic values included packed cell volume (PCV), red blood cell count, white cell count, and leukocyte differential count. Blood biochemistry items included total plasma protein, albumin, glucose, aspartate aminotransferase (AST), creatine kinase (CK), cholesterol, calcium, phosphorus, triglyceride, urea, uric acid, sodium, chloride, and potassium concentrations as well as protein electrophoretic fractions.

The results demonstrated that ages and body conditions affected hematologic and biochemical values. Adults had significantly higher values in total protein, albumin,



globulin, cholesterol, sodium, chloride and alpha₂ globulin while subadults had higher values in phosphorus, potassium and beta globulin. The birds in better body conditions had higher levels of blood albumin and total protein concentrations. No differences were found between groups of sexes for any of the parameters. The results of comparing refractometer with biuret method indicated that plasma protein values may be accurately determined in Oriental Turtle Doves with a hand-held refractometer.

The hematological, biochemical and protein electrophoretic fractions reference values established in this study and confirmation of the accuracy in determining total protein concentration by refractometer are important and useful for clinically evaluating rescued oriental turtle doves and provide baseline data for future investigations of free-living oriental turtle doves.

Key words : Oriental Turtle Doves, *Streptopelia orientalis*, hematology, biochemistry, reference, protein electrophoretic values, refractometer

目錄



口試委員審定書.....	i
誌謝.....	ii
中文摘要.....	iv
Abstract.....	vi
目錄.....	viii
圖次.....	x
表次.....	xi
第一章 緒言.....	1
第二章 文獻探討.....	3
第一節 金背鳩簡介.....	3
第二節 鳥類的血液採樣技術.....	5
第三節 鳥類的血球型態及功能.....	7
第四節 鳥類的血液生化特性.....	13
第五節 鳥類的蛋白質電泳.....	19
第六節 影響鳥類血液及生化數值的因素.....	21
第七節 參考值的建立.....	25
第八節 鳥類性別鑑定.....	28
第三章 材料與方法.....	29
第一節 實驗對象.....	29
第二節 實驗材料.....	30
第三節 實驗方法.....	32
第四章 結果.....	36



第一節 金背鳩的血液及生化參考值分析.....	36
(一) 全血球計數及血液生化參考值.....	36
(二) 蛋白質電泳參考值.....	39
(三) 年齡與全血球計數及血液生化數值的相關性.....	41
(四) 性別與全血球計數及血液生化數值的相關性.....	41
(五) 體重與全血球計數及血液生化數值的相關性.....	41
第二節 金背鳩的血球染色分類及型態.....	42
第三節 總蛋白化學方法 (biuret method) 與屈光鏡法之相關性.....	46
第五章 討論.....	47
第一節 血液樣本的採集與分析.....	47
第二節 金背鳩血液學特性.....	49
第三節 金背鳩血液生化學特性.....	51
第四節 金背鳩血球型態特徵.....	54
第五節 金背鳩蛋白質電泳分析.....	55
第六節 血片金薩和劉氏染色比較.....	57
第七節 腹腔內視鏡性別鑑定.....	59
第八節 屈光鏡檢驗總蛋白之應用.....	60
第六章 結論.....	62
參考資料.....	63
附錄一.....	73
附錄二.....	75
附錄三.....	76

圖次



- 圖 1. 金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 成鳥型態
- 圖 2. 金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 亞成鳥型態
- 圖 3. 金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 於體腔內視鏡下的公母鳥性徵
- 圖 4. 金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 的蛋白質電泳圖形
- 圖 5. 以 Wright-Giemsa 染色的金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 血球細胞
- 圖 6. 以 Wright-Giemsa 染色的金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 血球細胞 (續)
- 圖 7. 總蛋白測量值與屈光鏡法測量值之回歸直線及方程式
- 圖 8. 金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 以不同染劑染色之異嗜球型態

表次



表 1. 參考值建立方法

表 2. Natt and Herrick's solution 染色液成分表

表 3. 圈養金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 的全血球計數參考值

表 4. 圈養金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 的血液生化參考值

表 5. 圈養金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 的蛋白質電泳參考值

表 6. 圈養金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 血漿總固體參考值

第一章 緒言




臺灣為一海島，地形的阻隔加上島上多變的氣候和環境，孕育出多樣性的生物，以及高比例的特有物種。臺灣擁有 87 科 626 種鳥類，特有種鳥類和特有亞種計有 83 種之多，而本研究的實驗對象金背鳩(*Streptopelia orientalis orii*)即歸屬於台灣特有亞種(丁等, 2014)。

金背鳩棲息海拔 2100 公尺下的開闊疏林地，也常在旱田的地面漫步尋找食物，為平地常見鳩科科中，除家鴿外體型最壯碩者，屬於普遍留鳥(國立臺灣大學生態學與演化生物學研究所, 2004; 劉等, 2010)。由於棲地和人類活動重疊範圍高，為台灣各救傷單位每年固定接獲的鳥種之一，常見的病因包含落巢、車禍、誤撞建築物玻璃、骨折等。由於鳥類生病不一定有明顯的臨床症狀，因此需要血液生化學的檢驗，提供臨床獸醫師對於個體的營養、生理狀態、以及各器官臨床疾病的診斷依據，並可以作為醫療成效的監控和個體健康程度的評估。(Hochleithner, 1994; Aina et al., 2014)。

常規的血液檢查值為任何動物醫療的基礎之一，包含血球計數和生化參考值 (Mitchell et al., 2008)。然而全世界超過 9000 種鳥類，各種類在解剖、食性和生理功能等方面不完全相同，且即使為同一種類，血檢的數值也可能隨著年齡、性別、體態、生活環境等而有差異 (Hochleithner, 1994; Ferrer et al., 1998; Clark, 2009; Cray, 2015)。因此，參考其他鳩鴿科之血液生化參考值，無法提供正確的臨床疾病診斷依據。過去幾十年來蛋白質電泳 (protein electrophoresis, EPH) 已成功運用在鳥類。這些蛋白質數量的變化可用來偵測不同疾病，甚至在臨床症狀尚不顯著時已有變化，並且還是極佳的預後指標 (Cray et al., 1998; Harr, 2002; Melillo, 2013)。

本研究的主要目的為建立金背鳩(*Streptopelia orientalis orii*)的血液生化以及蛋白質電泳參考值，實驗設計控制日夜周期、生活環境、緊迫程度等變因，減少對實驗數據的影響。除了整體參考值的建立外，進一步將實驗族群依年齡、性別和



體態的不同對血檢項目的結果進行分析,探討不同因素在各項檢驗數值上的影響,並將研究結果與其他鳥種的研究進行比較和討論。最後,比較化學方法 (biuret method) 與屈光鏡法兩種檢驗總蛋白的方式,分析所需樣本量較小的屈光鏡法是否可在金背鳩準確預測總蛋白的血中濃度。本研究所使用的實驗方法對於未來應用於其他鳥類相關研究具有重要參考價值。

第二章 文獻探討



第一節 金背鳩簡介

金背鳩英文名 Oriental Turtle-Dove，學名 *Streptopelia orientalis*，分類為鴿形目（Order Columbiformes）鳩鴿科（Family Columbidae），俗名大花斑、山斑鳩。全球主要分布於亞洲，包括中亞的伊朗、伊拉克、哈薩克、阿富汗，南亞的印度、巴基斯坦、孟加拉、斯里蘭卡、尼泊爾，東南亞的緬甸、寮國、泰國及越南北部，東亞的中國、南韓、北韓、日本、俄羅斯的遠東地區及庫頁島。在中國、西伯利亞、韓國及日本為夏候鳥，冬季往南方遷移，在臺灣為普遍常見的留鳥（方, 2010; 劉等, 2010）。

本種分為 6 個亞種，臺灣出現的是臺灣特有的 *Streptopelia orientalis orii*，族群分布於臺灣本島海拔 2,100 公尺以下的山區丘陵開闊疏林地，喜於林緣及有疏林的農地活動，近數十年來，本種在台灣的分布範圍有擴大的趨勢，常見於城市公園（劉等, 2010）。

本種成鳥體長 33-35 公分，體重約在 164-274 公克，為平地鳩鴿科除家鴿外體型最壯碩者。虹膜橙黃色，眼圈紫色，嘴喙灰黑色，腳紫紅色，頸兩邊後側有黑白相間的頸輪，肩後部羽色有窄及亮褐色羽緣，肩羽具很寬及鏽紅色羽緣，飛羽及尾羽黑褐色，尾羽末端灰白色，尾下覆羽灰色，胸及腹部暗酒紅色，雌雄體色難以區分，見圖 1。幼鳥似成鳥，但是體色黯淡，頸側缺頸輪，在肩羽及覆羽上的羽緣多以灰白色替代，隨年紀漸長，頸輪和鏽紅色羽緣越來越明顯，見圖 2（劉等, 2010; 蕭等, 2014）。幼鳥可能因氣候不佳、飛行能力尚未完善、或是落巢而掉落地面，容易被民眾拾獲送往救傷中心。

金背鳩常單獨、成對或小群在林下或旱田地面漫步尋找食物，食物包括穀物、種子、草籽，也會採食植物嫩芽和昆蟲。臺灣沒有本種繁殖的觀察紀錄，有記錄

的求偶叫聲為「咕咕一、忽忽一」，根據國外的紀錄，本種為一夫一妻制，每窩產卵約 2 枚，雌雄鳥輪流孵卵（方, 2010; 蕭等, 2014）



圖 1. 金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 亞成鳥型態



圖 2. 金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 成鳥型態



第二節 鳥類的血液採集技術

鳥類的血液量隨物種不同而有差異，環頸雉雞血量為 5 ml/100g 體重，然而與金背鳩同為鳩鴿科的賽鴿，血液量可多達 16.3-20.3 ml/g 體重，一般而言，取體重的 6-12% 為鳥類血液估計值 (Campbell, 1994; Campbell et al., 2007)。採血量方面，在健康的賽鴿和綠頭鴨可抽取 3% 體重的血液，而燕雀類和鸚鵡最多可抽取 1% 體重的血液而不會對個體造成不良影響，因此臨床上多以不超過 1% 體重為安全採血量 (Campbell et al., 2007; Haile et al., 2014)。

鳥類採取血液樣本的部位會因物種、目標血量和操作困難度而異，常用的採血位置包含頸靜脈(jugular vein)、翼靜脈 (basilic vein)、內側跗蹠骨靜脈 (medial metatarsal vein) (Samour, 2006)。鳥類因為血管周邊結締組織較疏鬆，較哺乳類容易產生血腫，入針後應避免側向移動以免造成血管撕裂傷，且應按壓止血至少 30 秒 (Clark et al, 2009)。

血液學分析之樣本應置於 EDTA 抗凝管中，因為 heparin 常常影響血球染色，造成白血球聚集影響計數 (Campbell, 1994; Clark et al, 2009)。然而某些使用 EDTA 抗凝管會引發溶血鳥種，例如鴉科 (Corvidae)、塚雉科 (Megapodiidae) 等，則只能使用 heparin 抗凝管 (Clark et al, 2009)。紅白血球計數以 Natt and Herrick's stain 染色，所有類型的白血球呈現深藍色，而紅血球呈現無色細胞質及淡嗜鹼性顆粒 (Clark et al, 2009)。

鳥類血液抹片建議使用非抗凝的新鮮血液製作 (Doneley, 2010)，以 Romanowsky stain 方法染色，例如 Wright's stain、Giemsa stain 等，或是快速染色，例如，Diff Quik。這些染色劑會使異嗜球、嗜酸球顆粒以及含血紅素的紅血球細胞質呈嗜酸性，使嗜鹼性球顆粒和細胞核酸呈嗜鹼性，而染色過程使用自動染色比手工染色較一致性 (Clark et al, 2009)。

生化分析的樣本需置於 Lithium heparin 抗凝管中，Sodium 或 Potassium heparin 抗凝管會假性增加離子數值。血漿生化分析最好在採血後立即離心取得血漿，並

於 3-4 小時內完成檢驗 (Harr, 2006)。





第三節 鳥類的血球型態及功能

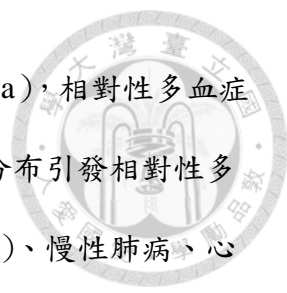
鳥類的血球型態可略分為紅血球、顆粒球（包含異嗜球、嗜酸性球、嗜鹼性球）、無顆粒球（包含單核球和淋巴球）、以及血栓球（Haile et al., 2014）。不同鳥種的血球可能呈現不同的大小和形態。在鳥類，異嗜球和嗜酸性球、單核球和大淋巴球、小淋巴球和血栓球、毒性變化異嗜球和嗜鹼性球形態的區分較具挑戰（Capitelli et al., 2013）。

（一）紅血球（Erythrocytes, Red Blood Cells, RBC）

鳥類紅血球外觀呈扁橢圓型、中央具有細胞核的型態，其功能和哺乳動物相似（Haile et al., 2014）。成熟紅血球以 Romanowsky 染色，細胞質呈現均質橘紅色，細胞核深紫色，且隨年紀而更緊密（Campbell, 2015），大小比哺乳類大、比爬蟲類小，然而不同鳥種間大小不定，一般落在 $10.7 \times 6.1 \mu\text{m}$ 到 $15.8 \times 10.2 \mu\text{m}$ 。鳥類的紅血球數目可能受年紀、性別、環境等因素影響，隨年紀漸增而增加，而因為雌激素抑制紅血球生成、雄性素促進生成，因此雄性紅血球較多。一般正常鳥類紅血球數量應介於 $1.5\text{-}4.5 \times 10^{12}/\text{L}$ ，可配合血容比一起判讀（Compbell et al., 2007; Doneley, 2010）。

鳥類紅血球半衰期較許多哺乳動物短，約為 28-45 天，因此周邊循環可見較高比例外觀和細胞核較為圓型、細胞質偏嗜鹼性、細胞核染色質絲較不緊密的未成熟紅血球，血液抹片也可見比例較多的多染性（Mitchell et al., 2008; Doneley, 2010）。鳥類未成熟紅血球數量一般佔紅血球總數 1-5%，以不超過紅血球總數 5% 為正常（Haile et al., 2014; Compbell, 2015）。

紅血球和血容比下降為貧血，通常是因為失血、紅血球被破壞（溶血性貧血）或是生成減少。多染性增加之再生性貧血可見於急性失血和紅血球被破壞，且因為半衰期短，出現時間較哺乳類迅速，非再生性貧血常見於鳥類慢性感染（Capitelli



et al., 2013)。血容比和紅血球數量上升稱為多血症 (polycythemia)，相對性多血症可能源自於脫水，而鳥類脾臟不為紅血球儲存池，因此不會重分布引發相對性多血症；原發絕對多血症在鳥罕見，鐵儲存症 (iron storage disease)、慢性肺病、心臟病等可能引起繼發性絕對多血症 (Campbell, 2015)。

低色 (hypochromasia) 紅血球常發現於營養不良以及長期慢性感染的鳥隻，主要為鐵質缺乏與鐵質被隔絕 (iron sequestration) 相關 (Capitelli et al., 2013)。

(二) 異嗜球 (Heterophils)

異嗜球是周邊血液中最常見的顆粒球，平均大小為 8.8 μm ，細胞質清澈無色具有嗜酸性圓型或是梭狀的顆粒，有些顆粒具有折射中央小體 (refractile central body)，顆粒傾向覆蓋大部分細胞核，細胞核為兩到三分葉 (Campbell et al., 2007)。許多染劑會造成人為誤差，引起異嗜球脫顆粒，細胞質內出現含有橘紅色折射中央小體的空泡 (Capitelli et al., 2013)。在鴿型目，異嗜球為不規則圓形細胞，顆粒為磚紅到深棕色梭狀顆粒並佈滿多數細胞質 (Clark et al., 2009)。

異嗜球功能類似哺乳動物的嗜中性球，細胞質顆粒含有溶菌酶，具高度吞噬能力和殺菌功能，扮演鳥類控制細菌感染的重要角色 (Campbell et al., 2007)。

異嗜球增多和急性、慢性發炎或感染、緊迫相關，在年幼的鳥隻可能為正常反應。許多伴隨異嗜球增多症的白血球增多症可能與疾病嚴重程度相關。異嗜球根據疾病嚴重程度，會出現一級到四級不等程度的毒性變化 (toxic change)，包括細胞質和顆粒嗜鹼性增加、細胞質出現空泡化、顆粒減少、細胞質出現嗜鹼性顆粒、分葉增加和細胞核降解的反應。在嚴重和急性感染中，未成熟異嗜球可能會出現。預後和疾病程度評估方面，異嗜球型態的變化比總數增減來的重要。在鳥類，真正的異嗜球減少罕見，且通常與白血球減少相關。過度感染、細菌性敗血



症、和一些病毒感染（尤其是非洲灰鸚環狀病毒感染）可能造成異嗜球減少（Clark et al., 2009; Capitelli et al., 2013; Compbell, 2015）。

（三）嗜酸性球（Eosinophils）

鳥類嗜酸性球為圓型細胞，多數細胞核分兩葉，平均大小為 7.9 μm 。相較於無色細胞質的異嗜球，嗜酸性球具淡藍色的細胞質，細胞核染色較深，且典型顆粒為圓型、較少覆蓋細胞核、強嗜酸性且明亮。然而不同鳥種其顆粒大小、形狀和顏色可能不同（Campbell et al., 2007），甚至出現暗棕色、灰色、但藍色等非嗜酸性顏色。在鴿型目，嗜酸性球具有許多小、圓形的嗜酸性顆粒（Clark et al., 2009）。

嗜酸性球在周邊循環除了猛禽之外，少見於其他健康鳥類（Haile et al., 2014），且功能大致尚未明瞭，有證據指出其功能可能與哺乳動物嗜酸性球不同（Campbell, 1994）。嗜酸性球增加少見，腸道寄生蟲感染，例如梨形鞭毛蟲、蛔蟲和條蟲可能造成嗜酸性球增加；有研究指出鳥類嗜酸性球增加可能參與延遲過敏反應，也可能與大規模組織損傷相關（Compbell, 2015）。

（四）嗜鹼性球（Basophils）

嗜鹼性球除了燕雀鳥類外少見於周邊循環中（Haile et al., 2014），且須與毒性反應之異嗜球做區分。嗜鹼性球略小於異嗜球，具清澈細胞質和不分葉淡藍色細胞核，圓形嗜鹼性顆粒常隱蔽細胞核（Compbell, 2015）。不同鳥種間的顆粒大小、顏色和密度可能不同，有些甚至呈現透白細胞質以及少數的嗜鹼性顆粒。在鴿型目，嗜鹼性球多具有許多深染的顆粒覆蓋住細胞質和細胞核（Clark et al., 2009）。

鳥類嗜鹼性球功能尚未明瞭，其顆粒含有組織胺，似乎參與初期炎症反應，並可能與過敏反應相關，功能可能和哺乳動物的嗜鹼性球和肥大細胞相似（Mitchell et al., 2008）。嗜鹼性球增加可在具呼吸系統疾病，例如氣囊蠕、活躍披衣菌感染



期以及組織傷害超過 48 小時的鳥隻中出現 (Doneley, 2010; Compbell, 2015)。

(五) 單核球 (Monocytes)

鳥類單核球是最大的單核白血球，但是少見於周邊循環血液抹片中。它們常與大淋巴球混淆。單核球為圓型或是無特定形狀，具有偏向一邊的圓型、長型或馬蹄型細胞核，細胞質通常為藍灰色且偶爾具有空泡或是細微的嗜酸性顆粒


(Compbell, 2015)，細胞質與細胞核的比例約為 75:25 (Samour, 2006)。單核球在各種類間沒有差異 (Clark et al., 2009)。

單核球具吞噬性，單核球增多常常和披衣菌症 (chlamydiosis)、慢性感染以及大規模組織壞死相關。慢性感染包含黴菌感染、結核菌感染和細菌性肉芽腫病變。然而須要注意的是，這些疾病並不總是可以引起單核球增多。在鳥類，鋅缺乏的飲食也可能見到單核球增多 (Campbell, 1994; Compbell, 2015)。

(六) 淋巴球 (Lymphocytes)

淋巴球在許多鳥種為第二常見的白血球，而在亞馬遜鸚鵡和某些燕雀科為主要的白血球，甚至可佔周邊循環白血球 70%。淋巴球為圓型細胞，具有高的核質比。細胞核為圓型偶爾鋸齒狀，位於細胞中央，具網狀或區塊密集的細胞質絲 (Compbell, 2015)。細胞質為不規則形，均質，清澈或淡藍色，沒有空泡，偶爾出現不規則細胞質突出或嗜酸性、重要性尚未知的嗜天青顆粒 (azurophilic granule)。細胞質為區分血小板的重要特徵。鳥類淋巴球區分有小、中和大淋巴球，前兩者較常見於周邊循環。漿細胞為 B 淋巴球，細胞核偏一邊，細胞質較多且偏嗜鹼性，具明顯淡染高基氏體區。(Compbell, 2007)。淋巴球在各種類間沒有差異 (Clark et al., 2009)。

淋巴球受到抗原刺激，例如病毒感染、披衣菌感染等會轉變為活躍狀態，細胞大小為小或中等，細胞質嗜鹼性提高，這些活躍淋巴球偶爾可發現於健康鳥類，



數量過多顯示有感染疾病相關的抗原刺激。芽母變性淋巴球 (blast-transformed lymphocyte) 是細胞質絲平順、可能具核仁的大型淋巴球，細胞質嗜鹼性提高，具淡染高基氏體區，是一種回變的 (anaplastic) 特徵，可能與腫瘤或免疫刺激相關 (Compbell, 2007)。

淋巴球增多症比異嗜球增多症少見，可能因慢性感染、炎症反應或白血病引起；淋巴球缺乏症可能因病毒感染、疾病引發骨髓抑制、過多內外源類固醇或異嗜球顯著增加而出現 (Doneley, 2010)。

(七) 血栓球 (Thrombocytes)


血栓球為小型、卵圓形或圓形細胞，較紅血球小，核質比高。細胞核圓形具有非常緊密濃縮的細胞質絲，細胞質清澈無色或淡灰色，常在細胞質某區出現一個或多個嗜酸性顆粒。活躍或具吞噬能力的血栓球細胞質可能會出現空泡。血栓球功能尚未完全明瞭，主要為止血，也被認為具吞噬能力協助清除血中外來物質 (Compbell, 2007)。

血栓球因為容易聚集因此總數計算很少使用，多以單層血液抹片做估計。健康鳥單層細胞血液抹片在 100 倍鏡頭下平均出現 1-2 個血栓球 (Campbell, 1994)，健康鸚鵡 1000 倍鏡頭下見到 1-5 個血栓球為正常。血栓球增多症較少見可能在貧血後顯著再生性反應出現 (Capitelli et al., 2013)；血栓球缺乏症可能出現在敗血症、骨髓抑制或是病毒性疾病，例如環狀病毒、里奧病毒或多瘤病毒感染 (Compbell, 2015)。

(八) 型態相近血球區分技巧

1. 異嗜球和嗜酸性球

Romanowsky stain 下，異嗜球細胞核嗜鹼性較嗜酸性球低；正常異嗜球細胞核具有兩到三分葉，嗜酸性球分葉數較異嗜球少；異嗜球細胞質無色，嗜酸性球細



胞質偏藍；異嗜球細胞質顆粒偏橢圓或梭狀磚紅色，嗜酸性球顆粒偏圓形亮紅色；異嗜球顆粒具有中央小體，可能具有折射性且/或較顆粒基質染色深；嗜酸性球不具有中央小體。當急性發炎或是水性溶液和緩衝液傷害引發異嗜球自我溶解時，會產生脫顆粒現象，細胞質留下圓形的中央小體 (Compbell et al., 2007)。

2. 大淋巴球和單核球

大淋巴球核質比較單核球高，單核球具有較多細胞質。大淋巴球細胞質為均質弱嗜鹼性（淡藍色），偶爾含有嗜酸性的嗜天青顆粒（azurophilic granule），嗜天青顆粒的大小較單核球灰塵樣的顆粒大，罕見細小圓形空泡。單核球細胞質為藍灰色，細胞核周邊較淡，外圍較深色，具有空泡或細微（類似灰塵）的嗜酸性顆粒。大淋巴球細胞核為圓形，單核球可能有偏向一邊的圓型、長型或馬蹄型細胞核。典型大淋巴球細胞核質絲呈現密集團塊樣，單核球細胞核為細微網狀可能有少許的密集團塊 (Compbell et al., 2007)。

3. 小淋巴球和血栓球

淋巴球具有極少量均質弱嗜鹼性（淡藍色）細胞質，血栓球具有較多量無色的細胞質，並常在細胞質極端出現一個或多個嗜酸性顆粒。小淋巴球多為單一圓形，血栓球傾向聚集出現 (Compbell et al., 2007)。

4. 小淋巴球和未成熟紅血球

未成熟紅血球在某個階段可能會與小淋巴球相似，然而相較下細胞核較小且細胞質絲為粗藍黑色（淋巴球為紫色），未成熟紅血球細胞質不均質且隨成熟度轉紅，小淋巴球細胞質較均質且為淡藍色 (Compbell et al., 2007)。



第四節 鳥類血液生化特性

(一) 白蛋白 (Albumin, Alb)


鳥類白蛋白和哺乳類動物結構不同，使用檢測哺乳動物白蛋白的 bromocresol green (bcg) 方式測量，相較於蛋白質電泳結果可能會因為親合性低而出現偽低值，且在一篇鴿子研究發現偽 bcg 呈現的低值數值和蛋白質電泳所得數值不為線性關係，無法以 bcg 作為白蛋白判讀依據，因此在鳥類白蛋白測量建議使用蛋白質電泳法 (protein electrophoresis) 得到準確的參考數值 (Lumeij et al., 1990; Harr, 2006)。

白蛋白由肝臟生成，負責維持血中滲透壓、並可以結合及運送鈣離子、荷爾蒙和藥物。嚴重營養不良、吸收或消化功能不佳、結核菌或內寄生蟲感染、蛋白質流失腸病、肝功能低下、蛋白質流失腎病、失血、惡性腫瘤 (鳥類較少見) 皆可能造成白蛋白降低，年幼個體白蛋白比成年鳥低；白蛋白上升與脫水和母鳥產蛋期間相關 (Hochleithner, 1994; Harr, 2006)。

(二) 總蛋白 (Total protein, TP)

總蛋白由白蛋白和球蛋白組成，一般而言鳥類的總蛋白相較於哺乳類偏低，通常落在 2.5-4.5 g/dL。主要功能為維持正常血量和酸鹼值 (Capitelli et al., 2013)。在鴿子，血漿總蛋白因為 fibrinogen 的差別而比血清高 1.5 g/L，因此建議鳥類使用血漿做為檢體 (Hochleithner, 1994)。

總蛋白的測量可分為兩種方式，化學方法 (biuret method) 與屈光鏡法。屈光鏡反映溶液中屈光指數，此指數主要由蛋白質影響，並且與總固形物 (total solid) 或蛋白質成比例。由於依賴光的穿透性，因此只適用清澈、無混濁、無脂血的樣本。屈光鏡可以快速提供總蛋白資訊且與化學方法相比所需樣本量較少，然而在哺乳類血糖高過 700 mg/dl 或是總蛋白小於 3.5 g/dl，屈光鏡可能不準確。由於鳥類血糖較高、總蛋白偏低，因此屈光鏡和 biuret method 的相關性及準確性可能因鳥類而異 (Hochleithner, 1994)。



總蛋白常用來評估鳥類健康狀態，數值和肝、腎、腸道疾病以及感染有關，高總蛋白與年齡、脫水（A/G 比例不變、血容比上升）、淋巴增生疾病（lymphoproliferative disease）、感染（球蛋白上升）、雌激素引起生殖相關的球蛋白增加相關；低總蛋白與失血、營養不良、消化吸收功能不佳（腸病、腫瘤或寄生蟲）、蛋白質流失腎病、組織傷害範圍過大造成氮原流失相關。

（三）球蛋白（Globulin）

球蛋白包含 α -、 β -、 γ -免疫球蛋白以卵黃前驅球蛋白。可由總蛋白與白蛋白計算得知。 α -、 β -（包含 fibrinogen）免疫球蛋白為急性期蛋白，急性腎炎、嚴重肝炎和手術引起組織傷害會上升。 γ -免疫球蛋白會因為急性和慢性感染升高（Krautwald-Junghanns, 2007）。球蛋白增加與脫水、蛋形成、炎症反應相關；球蛋白降低與幼年個體、肝衰竭、免疫功能不全、失血、及蛋白質流失相關（Harr, 2006）。


（四）白蛋白與球蛋白比例（A/G ratio）

連續的白蛋白/球蛋白比例是監控疾病病程的好工具。急性和慢性感染（例如披衣菌、麴菌、結核菌和卵黃性腹膜炎）比例會降低，開始復原期間白蛋白漸上升球蛋白會漸下降，比例會逐漸提高至正常。持續性的低 A/G ratio 伴隨低總蛋白表示有肝衰竭或蛋白質流失疾病。（Harr, 2002; Krautwald-Junghanns, 2007）。母鳥在卵黃和蛋形成期間，球蛋白大量增加、白蛋白輕微增加，此時 A/G ratio 低下則為正常生理反應（Harr, 2002）。

（五）血糖（Glucose）

鳥類血糖普遍較哺乳類高，大多數鳥種於健康狀態下可維持血糖濃度在 150 mg/dL。鳥類主要調控血糖的荷爾蒙為升糖素，然而不同鳥種有些差異。研究指出食肉性鳥類血糖維持可能是由胰島素調控，於禁食期食肉性鳥種維持血糖的時間比食穀性鳥種久。年齡、飲食、繁殖、緊迫或日夜週期可能造成差異，多數鳥類日間較低夜間較高，夜行性相反（Harr, 2002; Capitelli et al., 2013）。

高血糖可由內源或外源類固醇引發，例如興奮或緊迫，且鳥類緊迫性高血糖



於尿檢可能會出現尿糖 (Harr, 2002)。高血糖也與糖尿病、鉛中毒、腹膜炎引起胰臟炎相關 (Krautwald-Junghanns, 2007)。低血糖可能因長期飢餓、嚴重肝病、敗血症、腸毒血症、腫瘤、內分泌問題 (例如甲狀腺素低下) 或消化吸收功能不佳引發, 在猛禽血糖低於 80 mg/dL 會出現癲癇。由於鳥類紅血球主要代謝脂肪酸, 因此未即時分離血漿所造成的人為誤差較哺乳類不顯著 (Capitelli et al., 2013)。

(六) 天門冬酸鹽轉胺酶 (Aspartate aminotransferase, AST, GOT)

AST 分布在許多組織中, 但主要仍是在肝臟和肌肉中。AST 對肝臟和肌肉損傷敏感性高但特異性低, 常與肌肉特異酵素肌酐激酶 (CK) 一同判讀。AST 升高、CK 正常通常為肝損傷, 然而需注意 CK 半衰期比 AST 短上許多。當肝損傷嚴重使 AST 高過 800 IU/L, 可能出現膽綠素尿 (biliverdinuria) 和膽綠素血症

(biliverdinemia)。肌肉損傷以及肝臟病變包含 Pacheco's disease、披衣菌、中毒、抗黴菌藥物、和注射 doxycycline 等可能會使肝細胞破裂引起 AST 升高 (Samour, 2006; Capitelli et al., 2013)。

(七) 膽固醇 (Cholesterol)

膽固醇為固醇類荷爾蒙以及膽酸的前驅物質, 同時是細胞膜組成份之一。膽固醇部分來自於飲食中動物性蛋白, 部分由肝臟合成, 因此肉食性鳥類通常具有較高的濃度。鳥類正常血中濃度約落在 108-330 mg/dL, 然而鳥類在卵黃形成期中膽固醇會明顯上升 (Harr, 2002; Krautwald-Junghanns, 2007)。

膽固醇主要由膽酸排除因此血中濃度過高可能與肝外膽管阻塞、肝纖維化、膽道增生相關。甲狀腺素低下、高脂飲食、脂肪肝、脂血症、黃脂增生症 (xanthomatosis)、動脈粥狀硬化等, 也會引起膽固醇過高。飢餓、消化吸收功能不佳以及末期的肝硬化會造成膽固醇低下 (Krautwald-Junghanns, 2007; Capitelli et al., 2013)。

(八) 三酸甘油酯 (Triglyceride)

三酸甘油酯為脂質儲存的主要形式, 由腸黏膜和肝臟利用脂肪消化吸收後的



物質合成，血中濃度隨飲食、性別、氣候和荷爾蒙影響而異。飢餓（尤其是肥胖鳥隻）以及雌激素注射可能會上升。在末期的卵黃性腹膜炎以及腎上腺素亢進的鳥隻，血液呈現高濃度三酸甘油酯（Hochleithner, 1994）。

（九）肌酐激酶（Creatine kinase, CK, CPK）

肌酐激酶主要分布於肌肉細胞，是肌肉損傷的特異性酵素。創傷、肌肉注射、骨骼肌或心肌感染、抽血時掙扎或是癲癇過後，可見 CK 上升。CK 半衰期介於 AST 和乳酸脫氫酶（LDH）之間，如 CK、AST、LDH 皆上升則應該考慮骨骼肌損傷。然而由於 CK 半衰期短於 AST，因此在單一肌肉損傷後，CK 較快恢復正常而可能誤判為肝臟疾病（Harr, 2002; Capitelli et al., 2013）。

（十）麩胺醯酸轉移酶（Gamma glutamyltransferase, GGT）

GGT 在鳥類可能同犬貓，對膽管和腎小管上皮具特異性。雖然 GGT 對鳥類肝臟不具敏感性和特異性，不會單純因肝臟細胞損壞而上升，但在鴿子肝病研究發現大部分病鴿 GGT 會上升，因此特別為鴿子肝病指標項目。除了亞馬遜鸚鵡，多數鳥類血中 GGT 濃度不高。當膽道上皮異常，例如炎症反應、腫瘤或膽結石造成膽汁阻塞時可能使 GGT 上升，但在鳥類 GGT 用於診斷膽道系統疾病仍需進一步研究（Hochleithner, 1994; Harr, 2002）。

（十一）尿素氮（Blood urea nitrogen, BUN）

在肝臟蛋白質分解成胺基酸時會釋出尿素氮，經由腎絲球體濾出，腎小管根據水合狀態重吸收，脫水情況下幾乎所有尿素氮會被重吸收，相反的水合良好情況下，被濾出的尿素氮幾乎全被排出，為脫水的敏感指標。一般而言鳥類血中尿素氮濃度低，在脫水或是尿路阻塞時會上升（Hochleithner, 1994）。

（十二）尿酸（Uric acid）

尿酸是鳥類主要含氮廢物排除方式，大部分由肝臟合成，少部分生成於腎小管。80-90%尿酸由腎近曲小管主動分泌排出，剩餘由絲球體濾出，因此除非嚴重脫水，否則不會影響血中尿酸濃度。當腎臟功能少於 30%時會造成尿酸上升，並



在濃度高於正常值五倍以上引發痛風，尿酸鹽沈積於關節或是內臟表面 (Capitelli et al., 2013)。尿酸可因年齡和鳥種而異，食穀鳥可比食肉性鳥類低 50%，年幼鳥隻也偏低 (Harr, 2002)。

尿酸鹽上升可能與飢餓 (代謝自身組織)、創傷、藥物造成腎毒性、細菌或病毒性腎炎、鉛中毒、維生素 D 過多、腎鈣化、嚴重脫水、消化道出血、維生素 A 缺乏造成腎臟上皮損害、肉食性鳥類攝入高蛋白飲食後相關；尿酸鹽下降可能與肝功能不全相關 (Hochleithner, 1994)。然而判讀尿酸濃度時需注意，血中尿酸鹽濃度為製造和排出相抵後的總和，因此在製造降低或是多尿腎情況，可能無法反應腎功能降低 (Capitelli et al., 2013)。尿酸判讀可搭配尿素氮、總蛋白、血容比、理學檢查來排除脫水情況，校正脫水兩到三天且上述項目恢復正常後仍持續高尿酸鹽，則可確認腎病 (Samour, 2006)。

(十三) 總血鈣 (Calcium, Ca)

總血鈣可簡稱血鈣。多數的鈣儲存在骨骼，在血中大部分的鈣為游離態，少部分和蛋白質結合，非常小一部分和陰離子結合。總血鈣濃度受生殖週期和性別等影響，在蛋形成期可見總血鈣和血磷上升，但鈣磷比例仍大於一，如果此比例低於一則需考慮腎臟疾病 (Samour, 2006)。總血鈣濃度還需與白蛋白一起評估，低白蛋白血症可能造成總血鈣下降。產蛋困難、卵黃性腹膜炎、原發或繼發副甲狀腺功能亢進、脫水或其他原因造成白蛋白升高、維生素 D 過多、淋巴瘤、骨腫瘤和骨髓炎會造成高總血鈣；慢性產蛋、低甲狀腺素、類固醇的使用、攝入過多磷、飲食缺乏鈣以及維生素 D 會引發低總血鈣 (Harr, 2002; Samour, 2006; Krautwald-Junghanns, 2007)。

總血鈣和白蛋白以及總蛋白的關係在許多鳥種有研究，非洲灰鸚鵡和駝鳥可分別由下列公式校正： $Ca \text{ (mmol/L)} = Ca \text{ (mmol/L)} - 0.015 \times \text{albumin (g/L)} + 0.4$ 和 $Ca \text{ (mmol/L)} = Ca \text{ (mmol/L)} - 0.09 \times \text{total protein (g/L)} + 4.4$ (Harr, 2002)。

(十四) 血磷 (Phosphorus, P)

血磷主要由腎排除維持，年幼鳥隻比成年鳥隻血磷濃度高。維生素 D 低下、吸收不良、飢餓、長期類固醇治療會引發低血磷；嚴重腎病、維生素 D 中毒會造成高血磷，溶血會造成假性高血磷 (Capitelli et al., 2013)。



(十五) 血鈉 (Sodium, Na)

鈉離子為血漿中具有維持滲透壓的離子。鈉離子由腸道吸收，腎臟絲球體濾出排泄，可以由腎小管重吸收入血漿或分泌排出。下痢、嘔吐和腎病造成鈉排出過多、多喝造成過多水合或醫源性輸給低鈉輸液皆可能會引發低血鈉；高鹽份飲食、飲水過少或是排除過多，例如下痢、腎衰竭和罕見的尿崩症所引起的脫水皆可能會造成高血鈉 (Capitelli et al., 2013)。

(十六) 血氯 (Chlorine, Cl)

氯和鈉離子為細胞外主要的離子組成。高血氯常見於脫水。而氯離子在鳥類維持血液酸鹼值的角色尚未被評估 (Hochleithner, 1994)。

(十七) 血鉀 (Potassium, K)

鴿子血漿鉀濃度在兩小時內會降低 60%，雞降低慢些，兩小時內降低 30%；金剛鸚鵡血液樣本在四小時內會上升 30%，因此血液樣本應儘快分離並送檢驗 (Harr, 2002)。慢性下痢、飢餓和鹼血症會引起低血鉀。腎病、腎上腺病、酸血症和嚴重組織壞死會引發高血鉀 (Capitelli et al., 2013)。

第五節 鳥類蛋白質電泳分析

過去幾十年來蛋白質電泳 (protein electrophoresis, EPH) 已成功運用在鳥類，除了可以求得準確的白蛋白和各項球蛋白數值外，這些蛋白質數量的變化還可用來偵測腎炎、肝炎、黴菌疾病和披衣菌等疾病，甚至在臨床症狀尚不顯著時已有變化，且搭配準確的判讀，蛋白質電泳還是極佳的預後指標。然而不同鳥種間 EPH 具有顯著的差異，因此即使某鳥種 EPH 參考值已建立也無法運用於相近的鳥種 (Cray et al., 1998; Harr, 2002; Melillo, 2013)。

鳥類 EPH 組成以鸚鵡為例具有六的片段，分別為 prealbumin、albumin、alpha₁、alpha₂、beta、gamma globulins。一般計算 A/G 比例時會把 prealbumin 加上 albumin 後再除以球蛋白總和，然而有些研究者認為，prealbumin 不屬於白蛋白甚至具有急性期蛋白質 (acute phase protein, APP)，因此主張將公式去除 prealbumin 或進一步地將之歸屬於球蛋白總和中計算 (Melillo, 2013)。健康的鳥隻具較高的 A/G 比例 (Kilgas et al., 2007)。

Prealbumin 在哺乳類很少或缺乏，而在不同鳥種間差異很大，例如虎皮含量很多，猛禽類則幾乎不存在。主要的組成為 transthyretin，為一種運輸蛋白。Prealbumin 也可能作為負向急性期反應物 (negative acute-phase reactants)。Albumin 為健康個體中主要蛋白質的組成 (Harr, 2002; Cray, 2007)。

Alpha globulin 因鳥種不同而異，猛禽含量比鸚鵡多，有些甚至具有高幅度的 alpha₁ globulin 波峰與白蛋白相連，一般鳥類通常佔總蛋白的 4-8%。alpha₁ globulin 主要的成份為 alpha₁-antitrypsin，alpha₂ globulin 主要的成份為 alpha₂-macroglobulin。alpha₁ globulin 即使在病鳥也未發現升高，但曾有嚴重寄生蟲感染的鸚鵡案例發現此項目上升 (Melillo, 2013)。alpha₂ globulin 可能呈現單波峰或與 beta globulin 相連形成兩尖端波峰，alpha₂ globulin 可能在急性發炎期上升

兩倍。在一些蛋白質流失腎病案例中，因為 alpha 2- macroglobulin 分子量太大留在體內，而可見 alpha 2 globulin 相對性增加 (Cray et al., 1998; Cray, 2007)。微量的 Alpha globulin 變化和生殖相關，且此時期因為 transferrin 增加，而同時看見 beta globulin 上升 (Melillo, 2013)。

beta globulin 含有 fibrinogen、beta-lipoprotein、transferrin、vitellogenin、complement (Cray et al., 1998)，在鸚鵡類為主要的球蛋白組成。研究發現在鳥類多數 APP 在會出現 beta globulin 中，其中主要的 APP 為 transferrin。Transferrin 半衰期短(24-48 小時)，因此監控 beta globulin 可確認治療的成效。在鸚鵡當 beta globulin 上升 15-35% 可能與披衣菌感染、麴菌感染和 sarcocystosis 有關 (Melillo, 2013)。

gamma globulin 含有免疫球蛋白和補體降解產物，約佔總蛋白的 10-15%，在體液免疫反應時可能上升 1.5 到 3 倍。IgG 為此區主要成分，因此 gamma globulin 上升通常與疾病晚期或慢性疾病相關，例如披衣菌和結核菌感染。麴菌也屬於慢性疾病，然而其免疫抑制的特性使得 EPH 在麴菌慢性期常為正常。30% 麴菌感染可見週期性 beta globulin 增加，只有少數會出現 hypergammaglobulinemia (Cray et al., 1998; Melillo, 2013)。

冷藏和重複冰凍會顯著造成人為誤差，溶血會使 gamma globulin 假性上升，脂血會引發 beta globulin 偽高值，血清會因為 fibrinogen 移除而在 beta globulin 區域較血漿低，不同實驗室參考值建立可能因技術與方法不同而異，因此蛋白質電泳參考值應用需注意鳥種間差異、分析方法和樣本的處理和種類 (Cray et al., 2011; Melillo, 2013)。



第六節 影響血液參考值因素

在鳥類有許多可能影響血檢數值的因素，包含參考個體的年齡、性別、生理營養狀況和周期，檢體操作和檢驗過程等，因此建立血液參考值須評估這些因子，盡可能降低變異，並詳細描述參考個體之篩選、檢體採集、檢驗方法和統計方式，而提供有效的臨床應用資訊。

(一) 年齡

鳥類隨年齡其器官發育程度和荷爾蒙變化皆可能影響參考值的表現。在金剛鸚鵡、巴丹鸚鵡和折衷鸚鵡有詳細記錄，發現白血球總數隨年齡下降。圈養白頭鷹(*Hieraaetus pennatus*)血液學研究也發現紅血球總數和異嗜球比例隨年齡漸增。虎皮鸚鵡(*Melopsittacus undulatus*)血容比和 mean corpuscular volume (MCV) 隨年紀而增，血紅素和白血球相關項目不變。2-3 月大智利紅鶴(*Phoenicopterus chilensis*)有較低的紅血球總數和血容比及較高的白血球總數。相同的趨勢也可在年幼的加州神鷲(*Gymnogyps californianus*)觀察到，有較高的白血球總數和較低的血容比，且在同篇研究認為應使用 1-6 月大亞成體和成體兩種參考值來評估此種鳥類(Compbell, 2012; Cray, 2015)。而在兩周到六周大日本鵪鶉(*Cortunix japonica*)研究顯示 MCV 漸增，白血球總數維持但異嗜球比上淋巴球的比例漸增，血容比不隨年紀變化(Aina et al., 2014)。許多鸚鵡種類白血球分類隨年紀轉變成異嗜球為主，但也有許多鳥種轉變為淋巴球為主(Compbell, 2012)。因此不同鳥種間年紀與血液學的變化趨勢仍可能具有差異。

靴隼雕(*Hieraaetus pennatus*)的幼鳥尿酸較高，血糖較低(Casado et al., 2002)；黑美洲鷲(*Aegypius monachus*)幼鳥總蛋白、尿酸和天門冬酸鹽轉胺酶較成鳥低，但血磷、血糖和鹼性磷酸酶顯著較成鳥高(Villegas et al., 2002)。一些鸚鵡種類的幼鳥，其白蛋白、球蛋白和天門冬酸鹽轉胺酶較成鳥低，可能與幼鳥肝臟功能尚未發育完全有關。非洲白背禿鷹(*Gyps africanus*)幼鳥白蛋白和成鳥相似，球蛋白較低，可能為成鳥環境抗原刺激較豐富(Naidoo et al., 2008)。幼鳥的鹼性磷酸



酶、血磷和血鉀較成鳥高，可能與生長荷爾蒙較高以及肌肉骨骼生長相關，血鈣、血鈉及血氣通常較成鳥低 (Hochleithner, 1994; Harr, 2006)。

(二) 性別

雌性圈養白頭鷹血容比較公鳥顯著偏低。年輕公的角冠雉 (*Oreophasis derbianus*)、鴿子 (*Columba livia*)、虎皮鸚鵡、紅帽鸚鵡 (*Purpureicephalus spurius*) 和葡萄酒紅亞馬遜鸚鵡 (*Amazona vinacea*) 具較高的血容比、紅血球計數和血色素濃度，此現象被認為與荷爾蒙相關，雌激素抑制紅血球製造，而雄性素會刺激紅血球生成，另外在後兩種類的母鳥具有較高的淋巴球計數。許多鸚鵡研究發現公鳥有較高的異嗜球比淋巴球比例。然而也有研究發現公母在血相表現無顯著差異 (Gayathri et al., 1994; Compbell, 2012; Cray, 2015)。

靴隼雕母鳥比公鳥尿酸和肌酐激酶為低 (Casado et al., 2002)，母虎皮鸚鵡較公鳥有較高的血鈣，公虎皮鸚鵡有較高的膽固醇濃度 (Hochleithner, 1994)。公鴿子較母鴿有高的血鈉、血鉀、總蛋白、白蛋白和尿酸 (Gayathri et al., 1994)。

(三) 環境

野外非洲白背禿鷹肌酐激酶較圈養禿鷹高，推測為整個採集樣本過程鳥隻掙扎較激烈 (Naidoo et al., 2008)。圈養靴隼雕膽固醇、血糖和總蛋白較野外個體高 (Casado et al., 2002)。圈養白肩雕 (*Aquila adalberti*) 膽固醇、血鈣、血磷、總蛋白、白蛋白、尿素氮和天門冬酸鹽轉胺酶較野外個體高 (Dobado-Berrios et al., 1998)。但一篇不同飼養環境的角冠雉發現有微小但不具顯著差異的血相表現 (Cray, 2015)。美洲隼 (*Falco sparverius*) 研究顯示族群飼養會增加血容比 (Dressen et al., 1999)。

(四) 營養狀態

美洲隼隨體重上升血容比漸增，而在換毛和產蛋期間血容比會降低 (Dressen et al., 1999)。在禁食期的猛禽、海鷗或雞，尿酸濃度會增加；國王企鵝幼鳥禁食期間尿酸濃度會下降 (Ferrer, 1990)。飢餓營養不良的白肩鵟 (*Aquila adalberti*)，尿酸顯著較高，膽固醇顯著較低 (Ferrer et al., 1998)。鵟 (*Buteo buteo*) 在禁食期間

體重下降，尿酸、尿素氮、血糖和膽固醇顯著升高，與細胞降低糖類利用率以及開始消耗自身蛋白質和脂肪有關（Garcia-Rodrigue et al., 1987b）。血中三酸甘油脂的濃度可以反應油脂運送到脂肪細胞的速率，因此可用來評估採血前幾個小時內脂質吸收數量（Kilgal et al., 2007）。

（五）麻醉

卡納比巴丹鸚鵡（*Calyptorhynchus latirostris*）使用 isoflurane 麻醉後採樣，其血容比、淋巴球比例、AST、血鈣和尿酸濃度相較物理保定顯著下降，單核球比例、單核球計數、血氣及血磷顯著上升（Le Souëf et al., 2013）。美洲隼血液生化學研究發現以 isoflurane 麻醉 10 分鐘後採樣與物理保定比較，結果顯示尿酸濃度下降，血鉀上升，推測與氣體麻醉影響肝臟合成尿酸和降低腎臟排泄相關（Dressen et al., 1999）。


（六）人為誤差

血液樣本出現溶血（hemolysis）可能會使白蛋白、血紅素、平均紅血球血紅素濃度、丙酸轉氨酶、天門冬酸鹽轉胺酶、乳酸脫氫酶、肌酸激酶、血鈣、血磷、澱粉酶假性升高，也可能影響血糖、血鎂、脂酶、鹼性磷酸酶等（Harr, 2006）。

出現脂血（lipemia）可能會使血紅素、血糖、血鈣、血磷、總蛋白、平均紅血球血紅素濃度、鹼性磷酸酶、肝指數假性升高，也可能影響白蛋白、加瑪麩氨基轉換酶、血中尿素氮等（Harr, 2006）。

（七）緊迫

腎上腺素釋放會引發短暫生理性淋巴球增多，腎上腺素會在緊迫出現後幾秒內上升，然而緊迫後幾分鐘內糖質腎上腺皮質素也上升（Aina et al., 2014）。在鳥類，白血球和異嗜球增加且未出現未成熟異嗜球為緊迫性血相（Naidoo et al., 2008）。雞隻對腎上腺皮質素反應研究發現白血球總數會上升、異嗜球增加及淋巴球減少，因此異嗜球對淋巴球比例可做為雞隻緊迫指標（Powers et al., 1994）。然而不同鳥種可能有不同反應，栗翅鷹（*Parabuteo unicinctus*）一小時運送前後異嗜球對淋巴



球比例上升但白血球數量減少，而所有檢驗數值皆仍在正常範圍內，同篇研究顯示游隼(*Falco peregrinus*)運送前後白血球沒有顯著變化 (Parga et al., 2001)。賽鴿 (*Columba livia domestica*)在操作緊迫後三小時採樣受影響的項目為異嗜球對淋巴球比例、肌酐激酶及血糖上升；總白血球數量和尿酸下降 (Scope et al., 2002)。

(八) 日夜周期

賽鴿研究和比較後顯示晨間血糖較午後低，作者推測有可能為日夜周期影響 (Lumeij et al., 1985)。Garcia-Rodrigue 等人研究日行性猛禽：鵟 (*Buteo buteo*) 和夜行性猛禽：雕鴞 (*Bubo bubo*)，發現血糖、尿酸、尿素氮、血鈣和三酸甘油酯有顯著的日夜周期變化，雕鴞夜間血糖較高，鵟日間較高，與兩種鳥類活動性相關；尿酸、尿素氮和三酸甘油酯在兩種猛禽皆於夜間偏高 (Garcia-Rodriguez et al., 1987a)。



第七節 參考值的建立

(一) 參考值的定義

參考值的目標為代表多數族群，以國家臨床病理聯盟（International Federation of Clinical Chemistry, IFCC）之定義為從參考的單一或是族群個體（Reference individuals）中觀察或測量得到特定項目的結果，並標上個體篩選條件之特定描述，以提供獸醫學應用於其他個體的臨床診斷，有助於疾病的診斷、治療和預後的評估（Solberg, 1999）。

(二) 選擇參考個體


首先要根據研究的目的決定個體的標準，例如何種對象以及健康情況等等。最理想的情況是從所有符合研究標準的母群體中隨機取樣，但實際上很難做到，因此還是要根據實際情況來採樣。參考個體的选择標準須清楚描述（Horowitz, 2014）。健康相關參考值建立的參考個體須排除潛伏性感染的可能，並以適當的食物照顧一段時間後再進行採樣，才能建立準確的參考區間（Hochleithner et al., 1994）。

(三) 樣本採集

資料收集、檢驗方式和運送的步驟必須標準化，並去除不適當的檢體，以避免過程中人為造成的差異（Horowitz, 2014）。

(四) 數據處理和分析

1. 將參考組分組（partitioning）：參考個體可根據性別、年齡或其他特徵再分為次組群，可以縮小範圍、減少個體誤差以及降低組內變異而提供更適當的參考值區間，然而過多的分組可能會造成數量不足而無法分析（Solberg, 1999）。
2. 檢視數據分佈：將全部或各組數據分佈製成圖表檢視是否出現極端值；分佈是否成現單峰（homogeneous），若出現雙峰或多峰則須重新檢視參考個體選擇標準或分組標準；分佈是否呈現鐘行對稱分佈；可初步評估參考值範圍，驗證計算過程（Horowitz, 2014）。

- 
3. 偵測並去除極端值：根據觀察數據分佈圖可偵測極端值，以 IFCC 或美國獸醫臨床病理協會 (American society for veterinary clinical pathology) (Friedrichs, et al., 2011) 的建議方法將極端值去除。當疑似極端值與最鄰近數值的差距大於全組組距的三分之一時視為極端值；當觀察值超過平均值三至四個標準差時視為極端值；以第三個四分位差 (Q3) 與第一個四分位差 (Q1) 的差距 (IQR) 計算，當數值低於 $Q1-1.5IQR$ 或數值高於 $Q3+1.5IQR$ 為極端值 (Solberg, 1999; Friedrichs, et al., 2014)。
 4. 檢視常態分布：去除極端值和參考值範圍的分析會受數據的分布的影響，因此應檢視數據呈現常態或是非常態分布。若數據為常態分布或是使用轉換方式，例如 log 或是 Box-Cox transformation 將非常態轉換成常態，則可使用有母數方法建立 (parametric method) 建立參考值；若數據非常態分布或是無法轉換成常態分布，則可使用無母數方法 (nonparametric method) 和穩健方法 (robust method) 建立參考值較，然而無母數方法可消除極為極端數值且極端值影響比有母數方法或穩健方法 (robust method) 較小，穩健方法在對稱的分布表現較佳 (Friedrichs, et al., 2012)。
 5. 參考值範圍估計：習慣上會以中央 95% 區間的觀察值作為參考值範圍。根據數據分布和樣本數大小，選擇的分析方式有所差別，見表 1。(Solberg, 1999; Friedrichs, et al., 2012; Cray, 2015)。
 - a. 大於 120 個樣本會推薦使用無母數分法，以範圍內 2.5 和 97.5 為參考值上下限，此範圍的 90% 信賴區間可用無母數方法建立。95% 中央區域無母數參考值範圍建立最少可應用於 39 個樣本數，但此情況應使用數據的最大和最小值作為參考值上下限較佳，以 bootstapping 來決定 90% 信賴區間。
 - b. 40-120 個樣本推薦使用穩健方法，以範圍內 2.5 和 97.5 為參考值上下限，bootstapping 來決定 90% 信賴區間。
 - c. 40-120 個樣本呈現或轉換為常態分布，可使用有母數方法分析，但因為會稍微



壓縮中央 95% 數值，因此以平均值 $\pm 2SD$ 作為參考值上下限，以有母數分法法
定 90% 信賴區間。

- d. 20-40 個樣本可用穩健方法（不受分布影響）或是有母數方法（常態分布），應
附上最大和最小值，須計算 90% 信賴區間。
- e. 10-20 個樣本，需列出所有數值、直方圖、平均值、和中位數，無法建立參考
值範圍。

表 1. 參考值建立方法

參考值建立方法	數據分布	描述
樣本數 ≥ 120	-	無母數方法，為黃金準則，需計算 90% 信賴區間
樣本數=40-120	非常態分布	穩健方法，較少的樣本數會造成誤差，穩健方法可使用於常態或非常態分布，需計算 90% 信賴區間
	常態分布	有母數方法，較少的樣本數會造成誤差，需計算 90% 信賴區間
樣本數=20-40	非常態分布	穩健方法，較少的樣本數會造成誤差，應計算 90% 信賴區間，應附上最大和最小數值
	常態分布	有母數方法，較少的樣本數會造成誤差，應計算 90% 信賴區間，應附上最大和最小數值
樣本數=10-20		列出所有資料，包含直方圖和平均數/中位數
樣本數 < 10		不可報告為群體參考值



第八節 鳥類性別鑑定

鳥類性別鑑定有許多方式，根據鳥種、年齡和操作的目的是有不同合適的方法。

(一) 外觀特徵

許多鳥種展現兩性不同外觀特徵 (sexually dimorphic)，然而這些特徵辨別度依鳥種而異，有些變化甚至小到難以分別，這些第二性徵通常在性成熟後較易辨別。有些兩性相同外觀特徵 (monomorphic) 的鳥種仍具有些微的差異，但多數此種類鳥種需要實驗室方法或內視鏡方式辨別。多數鳥種公鳥體重較母鳥重、骨架較大，然而猛禽反而是母鳥比公鳥重，甚至可多出 30% 體重。本實驗金背鳩成鳥公母鳥體重範圍雖有重疊，但母鳥平均體重為 229.16 公克，公鳥平均體重為 255.76 公克，和多數鳥種類似。

(二) 泄殖腔法

雞形目 (Galliformes)、燕雀目 (Anseriformes)、平胸鳥種 (ratites) 和一些玩賞鳥種等可使用此法，觀察泄殖腔壁上是否有陰莖區分性別。燕雀和鳩鴿的輸精管開口有明顯的突起 (papillae)。

(三) 實驗室法

使用羽根或是血液樣本，萃取其內 DNA 鑑定性染色體基因，出現染色體 ZW 為母鳥，ZZ 為公鳥，為非侵入性方法中最準確的方式，缺點為需要一定數量 DNA、可能會有污染和實驗室操作之誤差。

(四) 內視鏡法

生殖系統尚未發育完全的幼鳥可能有主觀誤差，然而此方式為性別鑑定眾多方式中最準確的方法，唯一的缺點為較具侵入性且需要全身麻醉 (Joyner, 1994; Griffiths et al., 1998)。

第三章 材料與方法



第一節 實驗對象

(一) 實驗動物

收集由台北市野鳥保護協會圈養、民眾意外拾獲和台灣大學校園和北部山區捕捉之金背鳩。收集及採樣時間由 2014 年 2 月至 2015 年 2 月，共有亞成鳥 8 隻，成鳥 36 隻，其中母鳥 25 隻，公鳥 19 隻。

(二) 健康評估

每隻個體參與實驗前需進行檢疫和下列檢查項目：每隻金背鳩皆先飼養觀察一個月，確認精神食慾狀況並進行預防性驅除體內和體外寄生蟲，至少兩次糞檢為陰性才停藥。健康檢查項目包含基本理學檢查：體態、羽毛狀況、眼耳口鼻及泄殖腔外觀檢查、腹腔觸診、心肺音和氣囊部聽診，必要時以放射線或超音波影像協助診斷以排除疾病的可能。經由以上確認為健康個體才納入實驗對象。飼養期間每日觀察精神食慾，並定期監控體重和檢查糞便。每隻實驗對象需人工圈養至少三個月再進行採樣。

(三) 圈養環境

圈養期間提供實驗對象乾淨、通風及日照充足的飼養空間。每個飼養籠舍長寬高約為 60 x 40 x 45 公分，一個籠舍飼養兩隻。飼養期間每日提供凡賽爾賽鴿飼料、凡賽爾賽鴿營養土 (Colombine Ideal-Bloc 5+1) 及乾淨飲水。



第二節 實驗材料

(一) 血液生化及蛋白質電泳之建立

1. 肝素抗凝管 (Lithium Heparin tube) : (Greiner bio-one Co, VACUETTE[®], USA)
2. EDTA 抗凝管 (EDTA tube) : (Becton, Dickinson and Company, BD Microtainer[®] tube with K_2 EDTA, USA)
3. 胰島素針 (Insulin 1 ml Syringe U-100, with 29G needle, TERUMO[®], Japan)
4. 微型離心機 (Labnet, Spectrafuge[®] Mini Centrifuge, USA)
5. 毛細管 Micro-Haematocrit-tubes, Assistent
6. 毛細管離心機 (H-240, HSANGTAI[®], TAIWAN)
7. 血容比判讀盤 (Capillary Micro-Hematocrit Reader)
8. 全自動血球計數儀 (TOA Medical Electronic Co., Sysmex K-1000, Japan)
9. 乾式血清生化分析儀 (VITROS[®] 350 Chemistry system, JANSON-JANSON COMPANY ORTHO-CLINICAL DIAGNOSTIC, USA)
10. 蛋白質電泳分析儀 (QuickScan 2000 with Window[®], Helena Laboratories, Texas)
11. 血球稀釋管 (Red blood cell diluting pipette)
12. 血球計數盤 (Hemocytometer Reichert Bright-Line 1490, Hausser Scientific Horsham, USA)
13. 血球染色液 Natt and Herrick's solution : 如表 2 所列之化學藥品以蒸餾水溶解後，稀釋至 1000ml，放置隔夜後再以 2 號濾紙 (Whatman No. 2) 過濾後使用 (Campbell et al., 2007)
14. 自動血液抹片 Wright-Giemsa 染色機 (Hematek[®] Slide Stainer, Siemens healtycare diagnostics Ltd., USA)
15. 電解質分析儀 (Vetlyte[®] Electrolyte Analyzer, IDEXX Laboratories, Inc., USA)
16. 國祥 NIKON 研究級電動顯微鏡及數位影像系統 (NIKON ECLIPSE 80p microscope, Digital color microscope camera DS-Fi1)
17. 內視鏡 Karl Storz, Hopkins Telescope, 1.9mm, length 10cm
18. 統計軟體 : Microsoft Excel 2010, 統計軟體 SPSS 18.0 (另稱 PASW) 進行分析



表 2. Natt and Herrick's solution 染色液成分表

Chemicals	Amount
NaCl	3.88g
Na ₂ SO ₄	2.5g
Na ₂ HPO ₄ •12H ₂ O	2.91g
KH ₂ PO ₄	0.25g
Formalin (37%)	7.5ml
Methyl violet 2B	0.1g

(二) 總蛋白化學方法 (biuret method) 與屈光鏡法之相關性

1. 肝素抗凝管 (Lithium Heparin tube) : (Greiner bio-one Co, VACUETTE[®], USA)
2. 屈光鏡 (FHK No. 2596, Japan)
3. 乾式血清生化分析儀 (VITROS[®] 350 Chemistry system, JANSON-JANSON COMPANY ORTHO-CLINICAL DIAGNOSTIC, USA)
4. 胰島素針 (Insulin 1 ml Syringe U-100, with 29G needle, TERUMO[®], Japan)
5. 微型離心機 (Labnet, Spectrafuge[®] Mini Centrifuge, USA)
6. 毛細管 Micro-Haematocrit-tubes, Assistant
7. 毛細管離心機 (H-240, HSANGTAI[®], TAIWAN)



第三節 實驗方法

- (一) 體重測量：採樣當日辨識個體後，量秤並記錄體重，克數以電子秤記錄至最小 1 公克為一單位。
- (二) 保定採血：所有血液樣本皆統一於 10:00 至 14:00 採樣完成，以避免日夜週期的變因影響血檢數值。助手協助保定讓動物背側躺，以 1ml 無菌胰島素針筒 29 針頭自翼靜脈 (basilic vein) 採取 1 ml 血液，分別置入 EDTA 及肝素抗凝管中搖勻，分別進行全血球計數及血漿生化分析。
- (三) 全血球計數
 1. 血容比 (PCV)：使用毛細管吸取 EDTA 抗凝管血液，吸取血量占毛細管四分之三，至於毛細管離心機以 12000 rpm 離心三分鐘後以血容比判讀盤進行測量。
 2. 血球計數：使用紅血球稀釋管抽取 EDTA 抗凝管血液與 Natt and Herrick's solution，將血液以染劑進行 1:200 倍稀釋，充分混合後靜置 5 分鐘，再次搖勻後將紅血球稀釋管前端液體丟棄，使用後端混合液適量滴入血球計數盤，以顯微鏡低倍檢視血球是否分布均勻，接著以 400 倍視野進行紅血球和白血球計數。紅血球為計算中央方格 1 mm 乘 1 mm 平方面積中四個角落及中央共 80 小格之總數；白血球則計算整個 3 mm 乘 3 mm 平方面積內共 400 小格內的數目。紅血球於視野下呈現橢圓形型態，白血球則呈現藍色濃染。之後紅血球數目再乘以 10000，白血球數目加 10% 再乘以 200，即為血液中每 μL 所含的數目 (Campbell et al., 2007)。
 3. 血球分類：將新鮮未抗凝血液抽取後馬上製成血液抹片，以自動血液抹片染色機進行 Wright-Giemsa 染色，並使用顯微鏡油鏡 1000 倍觀察，選擇均勻推開之單層血球區域依照白血球型態將白血球分為異嗜球、嗜酸性球、嗜鹼性球、淋巴球和單核球，計算 100 顆並統計各類白血球比例。
 4. 血紅素 (Hb)：將 EDTA 抗凝血搖勻後以全自動血球計數儀進行氰化血紅素法測量血紅素濃度。
 5. 平均血球大小 (mean cell volume, MCV)、平均血球血紅素含量 (mean cell hemoglobin, MCH)、平均血球血紅素濃度 (mean cell hemoglobin concentration,


MCHC) 皆分別以 RBC、PCV 及 Hb 計算得知，計算公式如下 (Campbell et al., 2007) : $MCV (fl) = PCV (\%) \times 10 / RBC$; $MCH (pg) = Hb (g/dl) \times 10 / RBC$; $MCHC (g/L) = Hb (g/dl) \times 100 / PCV (\%)$ 。

(四) 血液生化學分析：採血後將肝素抗凝管內樣本以微型離心機進行 8000rpm、1 分鐘離心後抽取上層血漿後，以乾式血清分析儀和電解質分析儀分析下列項目：總蛋白 (TP)、血糖 (Glucose)、膽固醇 (Cholesterol)、三酸甘油脂 (Triglyceride)、尿酸 (Uric acid)、麩胺醯轉移酶 (GGT)、天門冬酸鹽轉胺酶 (AST)、肌酐激酶 (CK)、尿素氮 (BUN)、血鈣 (Ca)、血磷 (P)、血鈉 (Na)、血鉀 (K)、血氯 (Cl)，共 14 項。取 100 μ L 血漿冷凍保存統一以蛋白質電泳分析儀檢驗白蛋白 (Albumin) 和各種球蛋白 (Alpha₁ globulin、Alpha₂ globulin、Beta globulin、Gamma globulin) 的組成比例，將比例乘以總蛋白得到各組成蛋白之血漿濃度。另外取毛細管中血漿置於屈光鏡，在室溫約攝氏 25 度下讀取數值。

(五) 性別鑑定：金背鳩無法以外觀判定性別，本實驗待血液樣本收集完成後，以體腔內視鏡 (coelioscope) 直接觀察性腺特徵鑑定性別。將個體以 isoflurane 誘導麻醉並插管維持麻醉深度，術中監控血氧、心電圖和體溫，將個體右側躺，左翅掀開暴露體側，左腳往後拉直固定，無菌操作準備於術區，在最後一肋與後腿間製作一 3-5 mm 切口，以止血鉗鈍剝進入後胸氣囊，以 1.9 mm 的零度角硬式內視鏡進入後胸氣囊後，突破氣囊間隔進入腹氣囊即可依解剖位置觀察性腺特徵，見圖 3，並快速檢視體腔內臟器外觀是否有肉眼病變，最後以可吸收縫線分別關閉肌肉層和皮膚，術後給予止痛藥和預防性抗生素三天。

(六) 統計學分析：

1. 全血球計數、血液生化和蛋白質電泳的參考值建立：實驗中出現體重下降或有明顯臨床症狀的個體一律不列入統計分析。以第三個四分位差 (Q3) 與第一個四分位差 (Q1) 的差距 (IQR) 計算，當數值低於 $Q1 - 1.5 \times IQR$ 或數值高於 $Q3 + 1.5 \times IQR$ 為極端值而去除。以柯-史法 (Kolmogorov-Smirnov test) 檢視常態分布，若 $P < 0.05$ 為非常態分布。當樣本數目大於 40，將常態分布或轉換為常態分布的數值以有母數方法分析，但因為會稍微壓縮中央 95% 數值，因此以平均值加減

- 
- 2SD 作為參考值上下限，並以有母數分法決定 90%信賴區間；當樣本數目小於 40，以數據最小值到最大值區間作為參考值範圍，並計算 90%信賴區間。
2. 將數據分別以年齡分為亞成鳥和成鳥兩組，以性別分公鳥和母鳥兩組，以體重分為三組：130-210 公克、211-260 公克和 261-310 公克。年齡、性別、體重與全血球計數及血液生化數值的相關性因為變數常態與非常態相間，因此全部使用無母數的方法檢定，年齡和性別兩項目以 Mann-Whitney Test 檢定，體重間以 Kruskal-Wallis Test 檢定，檢驗結果當 P 值小於 0.05 表示有顯著差異。體重三組間達顯著差異者，再以 2011 年國際間同意，無母數（非常態變數）事後兩兩相比之 Dunn 法，算出 q 值， $q = \text{Diff}/SE$ ，q 值大於 $q(0.05) = 2.394$ 時表示兩者有顯著差異，ex：3.74 > 2.394（Elliott et al., 2011）。
 3. 總蛋白化學方法（biuret method）與屈光鏡法之相關性使用 Pearson 相關檢定，且計算出皮爾森相關係數（Pearson correlation coefficient），另外使用回歸分析並計算出回歸直線方程式。

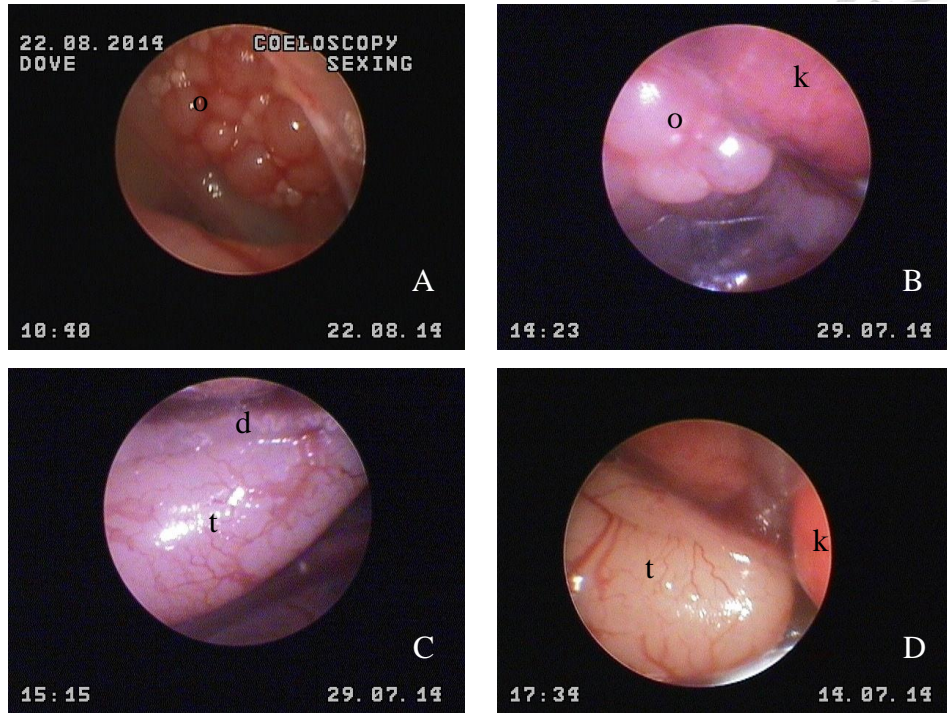


圖 3. 金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 於體腔內視鏡下的公母鳥性徵

A. 母鳥性徵：o =ovary； B. 母鳥性徵：o =ovary, k=kidney

C. 公鳥特徵：t =testis, d=ductus deferens； D. t =testis, k=kidney

第四章 結果



第一節 金背鳩的血液全血球計數及生化參考值分析

(一) 全血球計數及血液生化參考值

1. 依統計學方式建立金背鳩全血球計數及血液生化參考值，列於表 3 及表 4。
樣本數大於 40 個，以平均值加減 2 個標準差為參考值上下限，樣本數介於 20-40 個，以測量之最大和最小值作為參考值上下限。有些個體因血量不足或其他無法抗拒因素而無法完成所有檢驗項目，加上極端值去除，因此血檢項目的樣本數並非完全一致。
2. 麩胺醯轉移酶 (GGT) 檢驗中，因分析儀無法辨識濃度小於 5 U/L 的數據，故只能以 <5 表示，無法得知確切血中濃度；另外，因為樣本數小於 20，故列出所有檢驗數值供檢視。

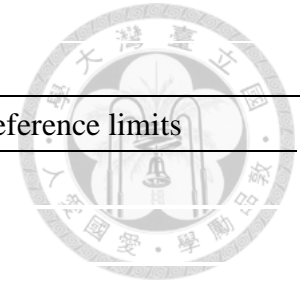


表 3. 圈養金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 的全血球計數參考值

Analyte	n	Mean	S.D.	Reference limits/ Minimum-Maximum ^a	90% CI of reference limits
PCV (%)	44	50.86	3.89	43.08-58.64	44.45-57.28
Hb (g/dL)	41	15.97	0.35	15.26-16.68	15.39-16.55
RBC (10 ⁶ /μL)	42	3.18	0.83	1.51-4.85	1.8-4.55
MCV (fL)	43	161.49	44.24	73.01-249.98	88.49-234.49
MCH (pg)	41	49.97	5.97	38.04-61.91	40.12-59.82
MCHC (g/dL)	40	31.20	3.04	25.13-37.28	26.19-36.21
WBC (μL)	44	122669.81	623.67	11422.47-13917.15	11640.76-13698.86
Heterophils (%)	44	32.23	6.36	19.50-44.96	21.73-42.73
Lymphocytes (%)	44	63.61	6.36	50.89-76.34	53.11-74.11
Basophils (%)	38	0.42	-	0-2 ^a	0.42-0.42
Eosinophils (%)	42	Rare	-	Rare	Rare
Monocytes (%)	44	3.30	0.00	3.30	3.30-3.30
Heterophils (μL)	42	4003.99	473.61	3056.78-4951.20	3222.54-4785.44
Lymphocytes (μL)	42	7885.70	1066.09	5753.52-10017.88	6126.65-9644.75
Basophils (μL)	40	55.67	0.00	55.67	55.67-55.67
Eosinophils (μL)	42	Rare	-	Rare	Rare
Monocytes (μL)	43	405.96	31.18	343.59-468.32	354.50-457.41

a. 去除極端值後樣本數少於 40 隻，因此以最大最小值 (Minimum-Maximum) 表示參考值上下限

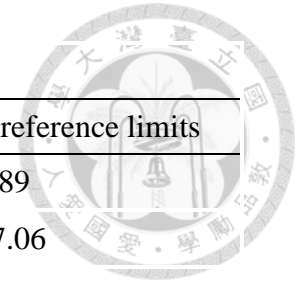


表 4. 圈養金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 的血液生化參考值

Analyte	n	Mean	S.D.	Reference limits/ Minimum-Maximum ^b / All values ^c	90% CI of reference limits
AST (U/L)	40	126.05	20.51	85.04-167.06	92.21-159.89
CK (U/L)	41	710.05	173.95	362.15-1057.95	423.03-977.06
Uric acid (mg/dL)	43	6.31	2.33	1.64-10.98	2.46-10.16
TP (g/dL)	44	3.05	0.85	1.36-4.75	1.65-4.45
Ca (mg/dL)	42	8.72	0.07	8.58-8.86	8.60-8.84
P (mg/dL)	44	4.22	1.84	0.55-7.90	1.19-7.26
Glucose (mg/dL)	42	322.48	14.85	292.78-352.17	297.97-346.98
Cholesterol (mg/dL)	33	258.61	94.05	70.52-446.70 ^b	103.43-413-78
Triglyceride (mg/dL)	32	195.41	18.38	158.64-232.18 ^b	165.07-225.74
GGT (U/L)	11	-	-	<5, <5, <5, <5, <5, <5, <5, <5, 5, 6, 8 ^c	-
BUN (mg/dL)	44	<1	-	<1	-
Na (mmol/L)	41	153.78	2.83	148.12-159.44	149.11-158.45
K (mmol/L)	43	3.21	0.42	2.36-4.06	2.51-3.91
Cl (mmol/L)	41	117.93	4.24	109.44-126.42	110.93-124.93

a. n= sample size, CI= confidence interval, AST= aspartate aminotransferase, CK= createne kinase, TP= total protein, GGT= gamma glutamyltrasferase, BUN= blood urea nitrogen

b. 去除極端值後樣本數少於 40 隻，因此以最大最小值 (Minimum-Maximum) 表示參考值上下限

c. GGT 樣本數未超過 20 無法建立參考值範圍，列出由小到大所有檢驗數值





(二) 蛋白質電泳參考值

1. 依統計學方式建立金背鳩蛋白質電泳參考值，各項蛋白比例（包含 A/G 比例）及各項蛋白血漿濃度列於表 5。
2. 金背鳩的蛋白質電泳圖形（protein electrophoretic pattern）請見圖 4。

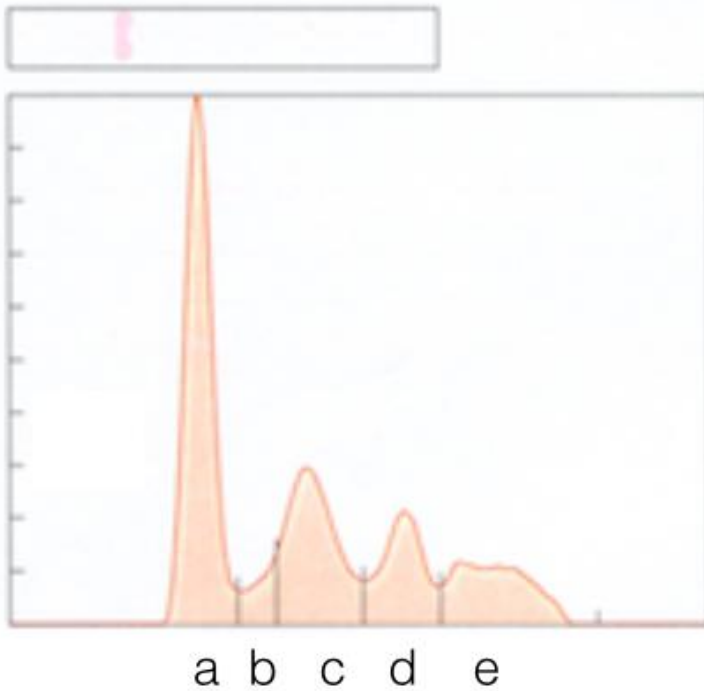


圖 4. 金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 的蛋白質電泳圖形

- a. Albumin
- b. Alpha₁ globulin
- c. Alpha₂ globulin
- d. Beta globulin
- e. Gamma globulin



表 5. 圈養金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 的蛋白質電泳參考值

Fraction/plasma concentrateon	n	Mean	S.D.	Reference limits/ Minimum-Maximum ^b	90% CI of reference limits
Albumin (%)	44	40.82	5.77	29.28-52.36	31.30-50.34
Alpha ₁ globulin (%)	36	3.65	3.13	0-9.92 ^b	0-8.82
Alpha ₂ globulin (%)	44	24.08	4.67	14.73-33.43	16.37-31.79
Beta globulin (%)	44	14.10	3.63	6.85-21.36	8.12-20.09
Gamma globulin (%)	35	13.64	0.59	12.46-14.83 ^b	12.66-14.62
A/G ratio ^a	43	0.69	0.14	0.41-0.97	0.46-0.92
Albumin (g/dL)	44	1.25	0.13	0.99-1.50	1.04-1.46
Alpha ₁ globulin (g/dL)	36	0.11	0.11	0-0.32 ^b	0-0.28
Alpha ₂ globulin (g/dL)	44	0.72	0.21	0.29-1.146	0.37-1.07
Beta globulin (g/dL)	44	0.42	0.15	0.12-0.71	0.17-0.66
Gamma globulin (g/dL)	35	0.41	0.05	0.31-0.51 ^b	0.33-0.49

a. n= sample size, CI= confidence interval, A/G ratio= albumin / globulin ration

b. 去除極端值後樣本數少於 40 隻，因此以最大最小值 (Minimum-Maximum) 表示參考值上下限



(三) 年齡與全血球計數及血液生化數值的相關性

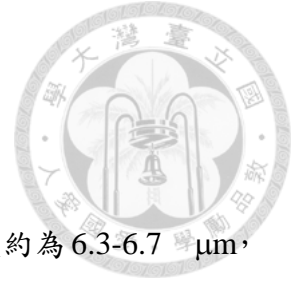
1. 全血球計數：統計結果顯示成鳥和亞成鳥間沒有顯著差異。
2. 血液生化數值：成鳥的總蛋白 (TP) 顯著高於亞成鳥 ($P=0.003$)。成鳥的膽固醇 (Cholesterol) 顯著高於亞成鳥 ($P=0.025$)。成鳥的血鈉 (Na) 和血氯 (Cl) 顯著高於亞成鳥， P 值分別為 0.000 和 0.001。成鳥的血磷 (P) 顯著低於亞成鳥 ($P<0.000$)。成鳥的血鉀 (K) 顯著低於亞成鳥 ($P<0.000$)。
3. 蛋白質電泳比例與各項蛋白濃度：成鳥的白蛋白 (Albumin) 和球蛋白 (Globulin) 血中濃度顯著高於亞成鳥， P 值分別為 0.012 和 0.000。將各項球蛋白成分分析發現成鳥的 α_2 globulin 濃度顯著高於亞成鳥 ($P=0.033$)。亞成鳥的 beta globulin 比例顯著高於成鳥 ($P=0.001$)。

(四) 性別與全血球計數及血液生化數值的相關性

1. 全血球計數：公鳥和母鳥沒有顯著差異。
2. 血液生化數值：公鳥和母鳥沒有顯著差異。
3. 蛋白質電泳比例與各項蛋白濃度：無論是比例或是血漿中濃度，公鳥和母鳥皆未達到顯著差異。

(五) 體重與全血球計數及血液生化數值的相關性

1. 體重分為三組：130-210 公克 (組別一)、211-260 公克 (組別二) 和 261-310 公克 (組別三)。
2. 全血球計數：三組體重沒有顯著差異。
3. 血液生化數值：組別三的總蛋白 (TP) 明顯高於組別一和組別二。組別三血鈉 (Na) 明顯高於組別一。組別一的血鉀 (K) 和血磷 (P) 明顯高於組別二和組別三。
4. 蛋白質電泳比例與各項蛋白濃度：組別三的血白蛋白 (Albumin) 血中濃度顯著高於組別一。組別一的血 beta globulin 比例明顯高於組別二和組別三。



第二節 金背鳩的血球染色分類及型態特徵

(一) 紅血球

紅血球呈現大小相似的橢圓狀，長度約為 12.1-13.7 μm ，寬度約為 6.3-6.7 μm ，橢圓形的細胞核位於細胞中央，細胞質在 Wright-Giemsa 染色下呈現均質橘粉紅色，細胞核為深嗜鹼性（圖 5：A）。

(二) 血栓球

血栓球為小型卵圓形，單一細胞分布或是多數聚集，長度約為 7.0-8.7 μm ，核質比高，細胞核卵圓形濃深藍色，細胞質清澈無色或淡灰色，細胞質可能一個或多個嗜酸性顆粒（圖 5：A）。血栓球需與小淋巴球做區分。

(三) 異嗜球

異嗜球呈現圓形，大小約為 9-12 μm ，嗜鹼性細胞核為兩到三分葉，通常偏向細胞的一邊，細胞質清澈無色並具有豐富的嗜酸性梭狀顆粒（圖 5：B），有些顆粒具有折射中央小體（圖 5：C）。

(四) 嗜鹼性球

嗜鹼性球為圓形，大小與異嗜球相似或偏小，約 9-11 μm ，具有不分葉淡藍色細胞核和清澈細胞質，細胞質充滿圓形深紫紅色和深藍色的小顆粒，常常蓋住大部分的細胞核（圖 5：B，D）。

(五) 嗜酸性球

圓形嗜酸性球較異嗜球略小，大小約為 8 μm ，細胞核呈現分葉狀，染色較異嗜球深，細胞質富含圓形嗜酸性顆粒，呈現擁擠的排列，但較少覆蓋細胞核（圖 5：E）。

(六) 淋巴球

金背鳩血片之大中小型淋巴球多呈圓形，核質比皆高，中央具有網狀或區塊密集的嗜鹼性細胞核，細胞質為無顆粒的弱嗜鹼性，有些周邊呈不規則形，可與無色系細胞質的血栓球做區分。大淋巴球大小約為 12-13 μm （圖 5：F）（圖 6：I），

中淋巴球大小約為 9-11 μm ，與異嗜球大小相近（圖 6：G，J），小淋巴球大小約為 6-8 μm （圖 6：H，I，J）。

（七）單核球

單核球呈現圓形或不特性形狀，大小約為 12-13 μm ，具有偏向一邊的圓型、長型或馬蹄型，淡至中度程度嗜鹼性細胞核，細胞質通常為藍灰色且偶爾具有空泡，核質比約為 50:50（圖 6：K，L）。



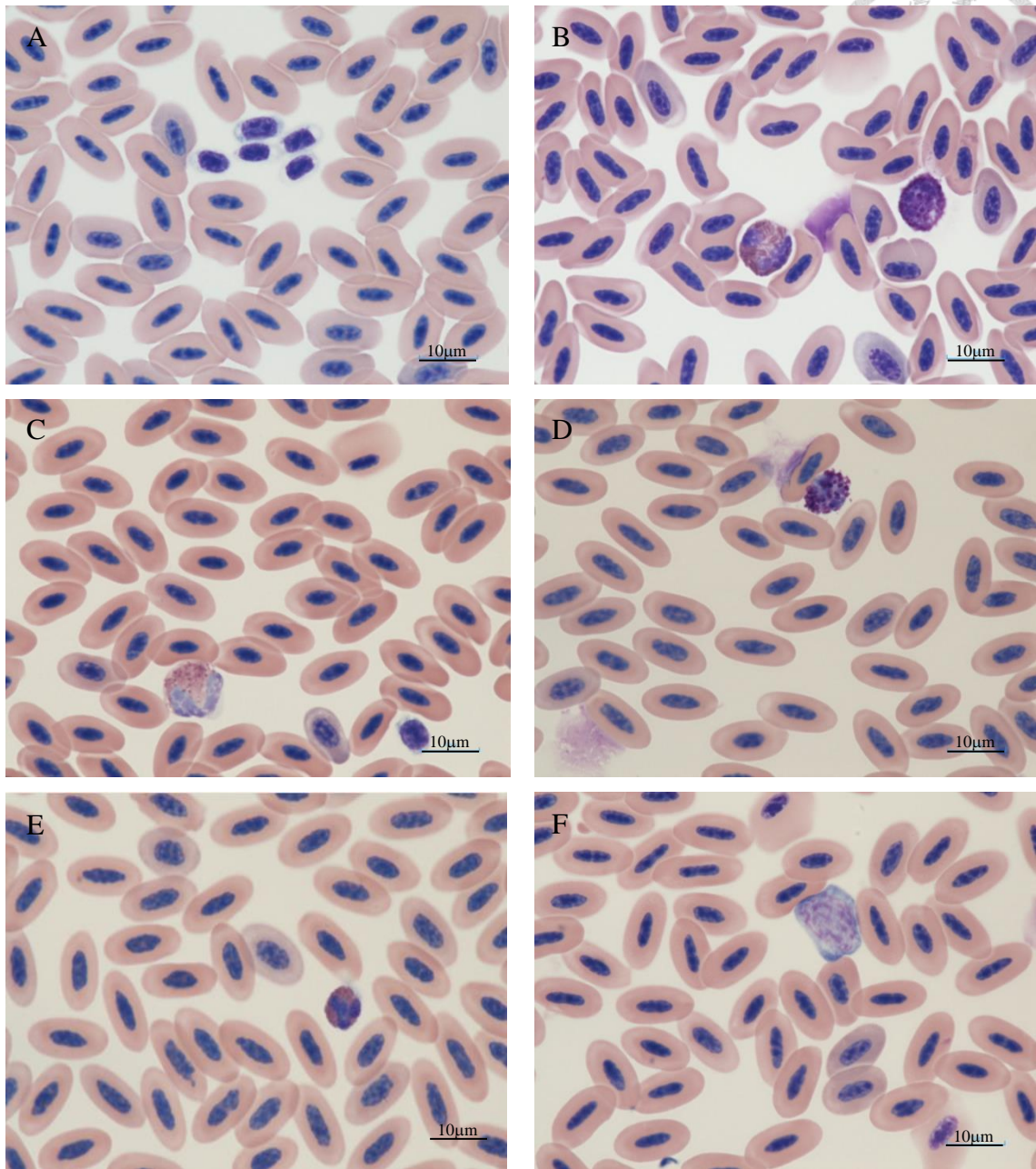


圖 5. 以 Wright-Giemsa 染色的金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 血球細胞

- A. 紅血球 (Erythrocyte) 和血栓球 (Thrombocyte)
- B. 左：異嗜球 (Heterophil)，右：嗜鹼性球 (Basophil)
- C. 具有折射中央小體的異嗜球 (Heterophil)
- D. 嗜鹼性球 (Basophil)
- E. 嗜酸性球 (Eosinophil)
- F. 大淋巴球 (Large lymphocyte)

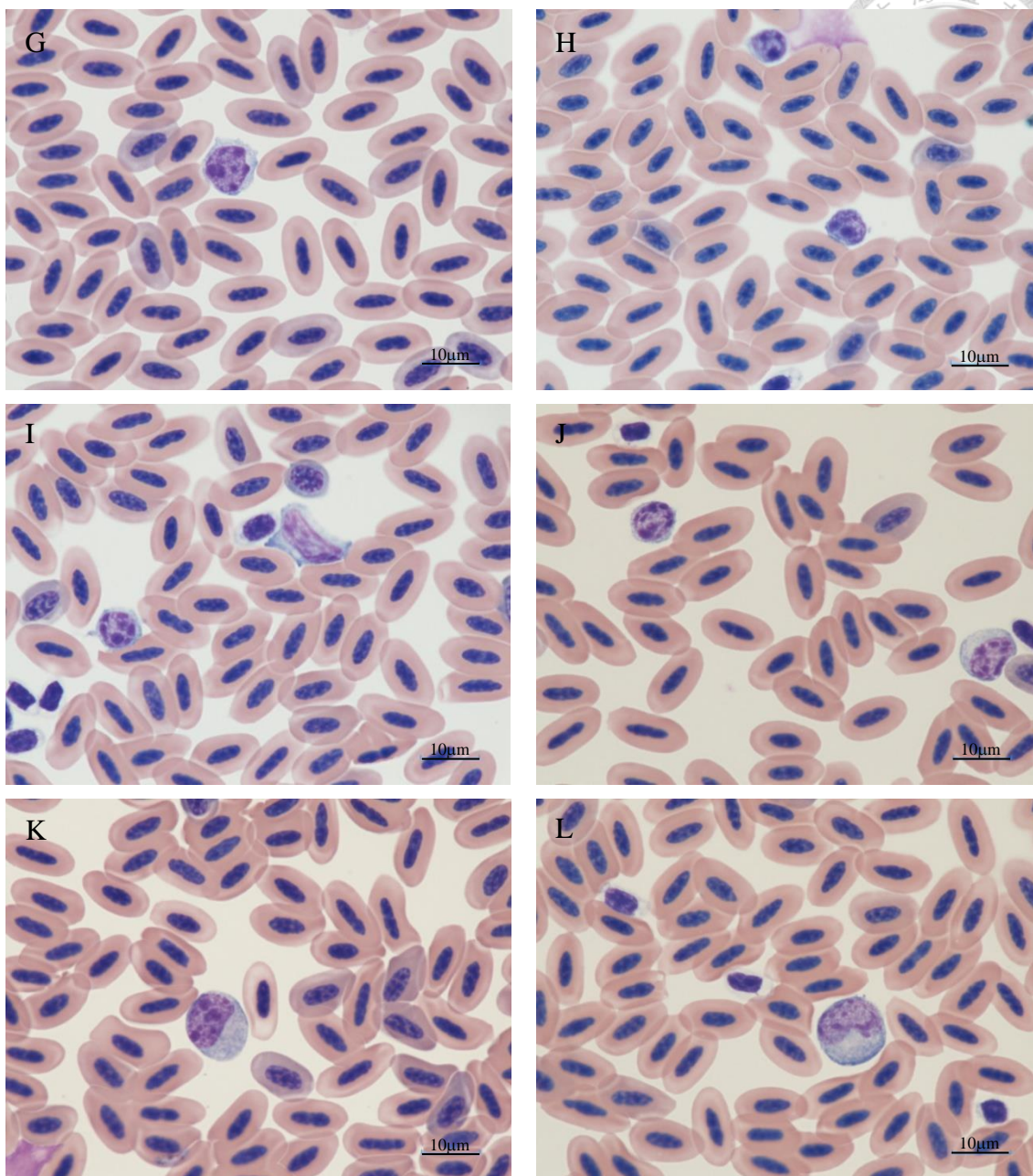


圖 6. 以 Wright-Giemsa 染色的金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 血球細胞

- G. 中淋巴球 (Medium lymphocyte)
- H. 小淋巴球 (Small lymphocyte)
- I. 左：小淋巴球 (Small lymphocyte)，右：大淋巴球 (Large lymphocyte)
- J. 左：小淋巴球 (Small lymphocyte)，右：中淋巴球 (Medium lymphocyte)
- K. 圓形細胞核之單核球 (Monocyte)
- L. 馬蹄形細胞核之單核球 (Monocyte)

第三節 總蛋白化學方法 (biuret method) 與屈光鏡法之相關性

假設 H0：biuret method 與屈光鏡法無相關，H1：biuret method 與屈光鏡法有相關，進行 Pearson 相關檢定，因為 P 值=0.000<0.05，表示兩者有相關，且皮爾森相關係數 (Pearson correlation coefficient) 為 0.832，介於 0.7-0.99 間，為高度相關。回歸分析結果與 Pearson 相關檢定相同，呈現高度相關性，P 值<0.05，回歸曲線與方程式列於圖 7。

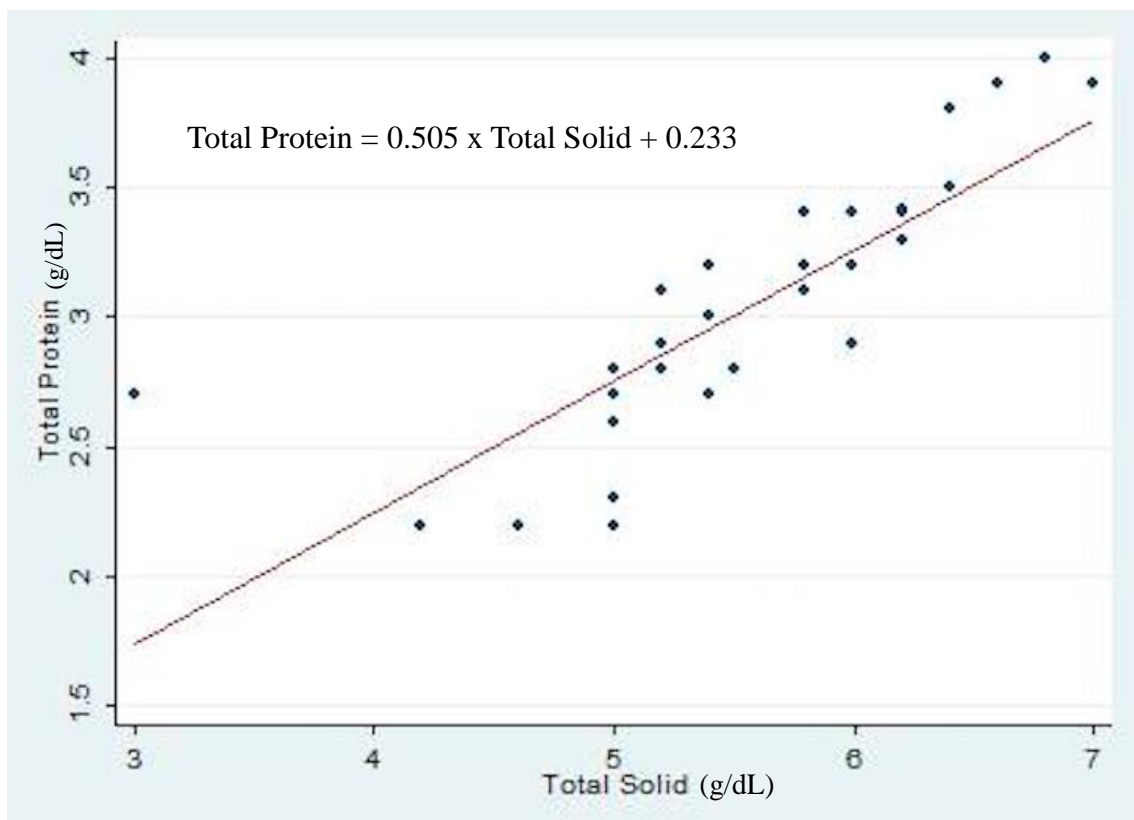


圖 7. 總蛋白測量值與屈光鏡法測量值之回歸直線及方程式

第五章 討論



第一節 血液樣本的採集與分析

本實驗目的為建立金背鳩血液生化參考值，在鳥有許多血液採集的部位，然而鳩鴿科鳥類具有豐富的頸部羽域 (cervical pterylae) 覆蓋整個頸部，且皮下具有發育良好的靜脈叢 (plexus venosus subcutaneous collaris)，在繁殖季節更加明顯，使得鳩鴿科鳥類的頸靜脈辨認不易，因此通常會選用其他採血位置，例如尺骨或是翼靜脈 (Clark et al., 2009)。本實驗選用翼靜脈 (basilic vein) 做為採血部位，此血管在良好物理保定下可快速以肉眼辨識，縮短操作時間以降低緊迫對血檢的影響，且金背鳩的翼靜脈管徑較內側跗蹠骨靜脈 (medial metatarsal vein) 明顯，採血時較不易因為回流較慢或血管塌陷，造成針筒負壓過大導致溶血。

實驗選擇物理保定可避免麻醉影響血檢數值，Le Souëf 等人 (2013) 使用 isoflurane 麻醉後採血與物理保定採血相比，麻醉下的血容比、淋巴球比例、AST、血鈣和尿酸濃度顯著較物理保定低，且臨床上病鳥的操作，除非鳥隻非常緊迫，否則多以物理保定採血為主。

鳥類缺乏豐厚的肌肉和皮下組織，採血後血腫無法全然避免，所以較小尺寸的針頭、入針準確、良好的保定和止血可減少發生率 (Clark et al., 2009)。考量到降低血腫發生與動物體型較小，本實驗選用 29 G 針頭的胰島素針，然而小針頭容易因負壓過大破裂造成溶血，因此實驗過程須避免過大的負壓，全部樣本觀察到 2 次溶血現象並予以捨棄不列入分析。

鳥類的血液量隨物種不同而有差異，一般約佔體重的 6-12%，單次可抽取最大容忍量為總血量的 10% (Campbell et al., 1994)，與金背鳩同為鳩鴿科的賽鴿單次可抽取 3% 體重的血液而無負面的影響 (Campbell et al., 2007)。本實驗每隻個體抽取血量為 1 mL，以最小個體體重 170 公克總血量約為 10.2-20.4 mL，抽取血量

仍在最大容忍範圍內。所有實驗對象在採血後除了部分出現血腫，皆沒有觀察到任何因保定採血操作造成之傷口感染，或是緊迫厭食的情況，部分血腫也自行於5-7天消失，表示本實驗採血過程及方式是可接受和應用的。






第二節 金背鳩血液學特性

Carpenter(2013)著作的鴿子(*Columba livia*)血檢值以及 Lashev 等人(2009)發表的血檢參考值,包含灰斑鳩(*Streptopelia decaocto*)、粉頭班鳩(*Streptopelia roseogrisea*)和鴿子(*Columba livia*),三種鳩鴿科鳥類和本實驗做比較後發現:金背鳩血紅素較三者高;紅血球數目較灰斑鳩和粉頭班鳩低,與鴿子相似;白血球數量、異嗜球比例與鴿子類似,但較其他兩者低,淋巴球比例與鴿子相符,較其他兩者偏高;金背鳩的嗜鹼性球和嗜酸性球和三者類似,佔白血球比例低;單核球比例較三者偏高。Lashev 等人(2009)提到此三種鳩鴿科血紅素濃度比多數鳥種高,由於金背鳩的血紅素濃度更高於這三種,因此金背鳩這種鳥種在本實驗測量值是可能為鳥類血紅素範圍的上限。

Al-Gamal 的研究(2014)發現成年賽鴿(*Columba livia domestica*)比幼鴿有顯著較高的血容比、血紅素濃度、單核球比例和淋巴球比例,有較低的嗜酸性球比例和異嗜球比例,然而於本篇論文文獻探討中提到,不同鳥種間年紀與血液學的變化趨勢可能具有差異。本實驗在分析金背鳩成鳥與亞成鳥後,發現全血球計數和白血球分類上皆沒有顯著差異,因此在金背鳩不需仿照加州神鷲(*Gymnogyps californianus*)使用亞成體和成體兩種參考值來評估。Prinzinger 等人(2010)討論年紀是否影響成年鴿子(*Columba livia*)的血檢,顯示成年鴿子隨著年紀增加,血容比和血紅素會顯著下降,然而本實驗成鳥的確切年紀未知,故無法得知是否會有類似的關係,需要更多資訊才能執行成年後不同年紀之分析。

由於雌激素抑制紅血球製造、雄性素刺激紅血球生成,因此許多鳥種皆發現公鳥具較高的 PCV、紅血球計數和血色素濃度。然而本實驗發現性別對金背鳩血液學的影響並不顯著,類似的結果也發現於澤鷲(*Circus Aeruginosus*)、普通潛鳥(*Gavia immer*)、鷗鷲(*Phalacrocorax harrisi*)和白鵝(*Cygnus columbianus*)(Lavin

et al., 1992; Milani, 2009; Compbell, 2012)。



鳥類體態反映著營養情況，與生殖、行為、和存活相關，目前有許多的評估鳥類體態的方式，但根據一篇確認各項體態評估方式有效性的研究，發現除非已確認某方式在某鳥種適用，否則單獨使用體重來評估會比主觀隨機選用某方式量測體態為佳 (Schamber et al., 2009)，因此本實驗使用體重做為體態的畫分，評估是否影響血檢數值。雖然曾有相關研究指出血容比為評估個體生理狀態的敏感指標，與個體健康及營養狀況相關，血容比與體重、胸肌發育程度和皮下脂肪呈現正相關 (Potti et al., 1999)，不過也有學者認為只有在狀況極度不佳的個體才會顯現偏低的血容比。紅血球計數與個體當下的營養和生理狀況相關 (Samour et al., 2005)。本實驗結果金背鳩的血容比與體態沒有顯著相關，如同黑美洲鷺 (Villegas et al., 2002)，紅血球計數和其他項目和體態也無顯著相關，然而以血球計數盤進行人工血球計數可能有 10% 的誤差是無法排除的 (Compbell et al., 2007)。

金背鳩白血球分類以淋巴球偏多，這與鴿子 (*Columba livia*) 以及灰斑鳩 (*Streptopelia decaocto*) 相符；嗜酸性球、嗜鹼性球和單核球比例偏少，與大部分鳩鴿科相似 (Lashev et al., 2009)。金背鳩異嗜球比淋巴球比例 (H/L ratio) 約為 0.5 和鴿子 (*Columba livia*) 相似 (Carpenter, 2013)。

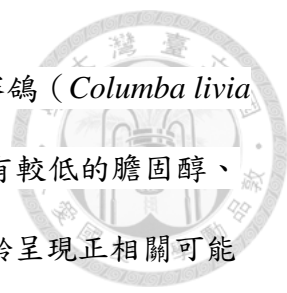


第三節 金背鳩血液生化學特性

和鴿子 (*Columba livia*) 相比，金背鳩的肌酐激酶、天門冬酸鹽轉胺酶、血糖、血鈉、血氯較高，尿酸、總蛋白濃度相近，血鉀偏低 (Carpenter, 2013)。肌酐激酶和天門冬酸鹽轉胺酶在肌肉損傷敏感性高 (Capitelli et al., 2013)，血糖在興奮或緊迫情況下會偏高 (Harr, 2002)，由於金背鳩與鴿子相較下馴化度低，捕捉出籠或操作緊迫偏高，可能造成這三項檢驗數值高過鴿子，然而也可能是物種差異。另篇研究哀班鳩 (*Zenaida macroura*) 血液生化數值也顯示天門冬酸鹽轉胺酶與血糖較鴿子高，只是此實驗為二氧化碳安樂死後心臟採血，影響的因素較多無法直接比較 (Schulz et al., 2000)。血鈉和血氯偏高可能為脫水引發，然而本實驗個體在採血時，理學檢查皆無發現脫水情形，故此差異應為物種不同造成。與奈及利亞笑班鳩 (*Streptopelia senegalensis*) 研究相比，金背鳩的血鈉和血氯介於鴿子和奈及利亞笑班鳩之間，然而奈及利亞笑班鳩的尿素氮偏高，無法排除採樣時是否有脫水情況 (Olayemi et al., 2006)。


Gayathri 等人 (1994) 研究發現公鴿子較母鴿有高的血鈉、血鉀、總蛋白、白蛋白和尿酸。珠頸斑鳩 (*Streptopelia chinensis*) 母鳥的血鉀高於公鳥。在白鴿 (*Cygnus columbianus*) 研究中，除了母鳥血鈣高於公鳥外，其他生化並無性別差異，推測為採樣時間接近產蛋期。本實驗研究結果發現性別對金背鳩的血液生化數值沒有影響，相同的結果顯示於王絨鴨 (*Somateria spectabilis*) 和加州兀鷲 (*Gymnogyps californianus*) 的研究 (Milani, 2009)。

多數鳥種幼鳥的鹼性磷酸酶、血磷和血鉀較成鳥高，可能與生長荷爾蒙較高以及肌肉骨骼生長相關，血鈣、血鈉及血氯通常較成鳥低 (Hochleithner, 1994; Harr, 2006)。Filipović 等人 (2007) 研究顯示肥育期間雞隻的總蛋白隨年齡增加，推測為成長期漸漸需要許多蛋白質結合態的胺基酸和生物活性物質且肝臟合成能力上



升所致。類似的結果也顯示於 Al-Gamal 的研究 (2014)，成年賽鴿 (*Columba livia domestica*) 比幼鴿有顯著較高的總蛋白、尿酸、血鈉和血鉀，有較低的膽固醇、三酸甘油酯、肌酐激酶、天門冬酸鹽轉胺酶和血糖。離子與年齡呈現正相關可能與腎臟發育程度有關。本實驗成鳥比亞成鳥有較高的總蛋白、膽固醇、血鈉和血鉀，有較低的血磷和血鉀，與上述年齡影響血液生化數值的趨勢相符。由 Al-Gamal 的研究 (2014) 與本篇論文文獻探討中可歸結出不同鳥種間年齡對天門冬酸鹽轉胺酶、血糖和尿酸的影響不一。在金背鳩，年齡對天門冬酸鹽轉胺酶、血糖和尿酸、三酸甘油酯和肌酐激酶的影響不顯著，但年齡對膽固醇的影響與賽鴿相反，與隱鸚 (*Feronticus eremita*) 相符 (Villegas et al., 2004)。

本實驗以體重為體態評估標準將實驗對象分成三組，可發現體態較大的組別三的總蛋白 (TP) 高過另兩組；組別三的血鈉 (Na) 高於組別一；組別一的血鉀 (K) 和血磷 (P) 高於組別二和組別三。由於亞成鳥的體態多坐落於組別一，為了討論是否為年紀間接影響體態血檢值的差異，將亞成鳥測量值去除，使用成鳥數值並依相同的體重分組方式再次分析。結果發現組別三的總蛋白 (TP) 仍然高過另兩組，其他則無顯著差異。因此可推測原始分析中血鈉 (Na)、血鉀 (K) 和血磷 (P) 的差異應該為年紀影響體態，進而間接影響血液檢測值；而體態確實會影響總蛋白 (TP) 測量值。Minias 等人 (2012) 曾提到，許多研究發現某些血液生化值和營養狀態相關，例如總蛋白和血糖與猛禽和涉禽的體重具相關性，猛禽體態好壞會影響膽固醇、血容比、尿素和總蛋白數值；但是也有研究指出血糖在食物短缺時會上升。這些不一致的研究結果可能是種別間代謝途徑的效能不同造成，因此須先證實某生化指標可作為某種鳥類身體狀態評估，才可運用於生態研究。金背鳩總蛋白 (TP) 與身體營養狀態於本實驗中證實具有相關性，與臨床上常以總蛋白作為動物營養狀態指標相符。



金背鳩成鳥體重約在 165-274 公克 (del Hoyo et al., 1997)，本實驗的金背鳩成鳥體重介於 200-305 公克，體態較野外調查高，推測為圈養情況下不需消耗能量即可取得充足及營養食物的緣故。許多文獻提出圈養和野生個體血檢的差異：野生個體血容比較圈養個體高 (Samour, 2006)；圈養白肩雕 (*Aquila adalberti*) 膽固醇、血鈣、血磷、總蛋白、白蛋白、尿素氮和天門冬酸鹽轉胺酶較野外個體高 (Dobado-Berrios et al., 1998)；野外非洲白背禿鷹肌酐激酶較圈養禿鷹高 (Naidoo et al., 2008)。顯示圈養情況下，飲食中蛋白質和外源膽固醇含量較高，較不易出現脫水，且採集較野生鳥隻不激烈掙扎相關。以金背鳩圈養下體態出現之差異，以及較為熟習人類環境的情況下，或許野生個體和圈養個體的血液學和血液生化會出現差異，需未來進一步探討。

由於樣本量的緣故，麩胺醯轉移酶只收集到 11 個測量值，且本實驗使用的機器無法測量濃度小於 5 U/L，因此無法建立完善的參考範圍，鴿子麩胺醯轉移酶的參考範圍為 0-2.9 U/L，和多數金背鳩測量值相似。同樣地，機器無法測量出濃度小於 1 mg/dL 的尿素氮，因此雖然收集了 44 個樣本，只能粗略得知金背鳩尿素氮 <1 mg/dL，可能與鴿子參考值 0.4-0.7 mg/dL 相似 (Carpenter, 2013)。



第四節 金背鳩血球型態特徵

本實驗血液抹片採取 Doneley (2010) 的建議，以非抗凝的新鮮血液製作，使用屬於 Romanowsky stain 方法的 Wright-Giemsa 染色，染色過程運用自動染色機降低手工染色的誤差 (Clark et al, 2009)。Wright-Giemsa stain 會使鳥類異嗜球、嗜酸球顆粒以及含血紅素的紅血球細胞質呈嗜酸性，使嗜鹼性球顆粒和細胞核核酸呈嗜鹼性。

顯微鏡 1000 倍油鏡視野觀察及測量金背鳩的血球型態大小，紅血球細胞長度和寬度符合大部分鳥種，與鴿子 (*Columba livra*) 紅血球 (長 $12.20 \pm 0.35 \mu\text{m}$ ，寬 $6.60 \pm 0.00 \mu\text{m}$) 相較，長度略長。(Compbell et al., 2007; Clark et al., 2009; Doneley, 2010)。

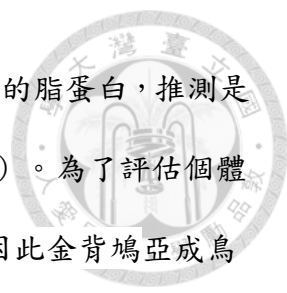
金背鳩的白血球型態和鴿形目相符，異嗜球為不規則圓形細胞，顆粒為磚紅到深棕色梭狀顆粒並佈滿多數細胞質。嗜酸性球具有許多小、圓形的嗜酸性顆粒，核分葉。嗜鹼性球具許多圓形、染色深淺不一的嗜鹼性顆粒隱蔽住細胞核，也和多數鳥種類似。金背鳩周邊循環的嗜酸性球和嗜鹼性球罕見，和 Haile 等人(2014) 發現相符：周邊循環除了猛禽之外，嗜酸性球少見於其他健康鳥類；嗜鹼性球除了燕雀鳥類外，少見於周邊循環中。金背鳩也具有大中小淋巴球，型態符合大部分鳥種 (Clark et al., 2009; Haile et al., 2014)。



第五節 金背鳩蛋白質電泳分析

蛋白質電泳是最準確評估健康和病鳥的方式，且可以測量白蛋白濃度以及白蛋白與球蛋白的比例是否異常。種別間的差異已被發現，使得鳥專科醫師持續建立種別間的正常參考值，甚至是同種別不同年齡、性別間的參考範圍 (Werner et al., 1999)。Gayathri 等人在 1994 年發現公鴿子較母鴿有較高白蛋白濃度。亞成鳥紅頸松雞 (*Phasianus colchicus*) 的公鳥與母鳥研究發現各項蛋白質比例相似，沒有顯著差異，但是開始產蛋後，紅頸松雞和叢林雞 (*Gallus gallus*) 母鳥的白蛋白比例較公鳥低 (Sibley et al., 1959)。母鳥在卵黃和蛋形成期間，球蛋白濃度大量增加、白蛋白濃度輕微增加，因此白蛋白比例和 A/G ratio 可能因此降低 (Sturkie et al., 1951; Gayathri et al., 1994; Harr, 2002)。Brandt 等人 (1950) 將球蛋白細分，發現母雞於產蛋期間的 alpha globulins 濃度於顯著高於公雞與非產蛋期母雞。本實驗除了建立正常參考值外，同時比較不同年齡與性別的差異，結果顯現性別不影響金背鳩各項電泳比例和濃度，而就作者所知，台灣目前尚未有研究調查金背鳩是否有明顯的繁殖季節，圈養過程中也沒有發現產蛋和母鳥發情的情況，因此蛋白質各項比例和濃度可能因此沒有顯著受繁殖期的影響。

年幼個體白蛋白比成年鳥低 (Hochleithner, 1994)。Al-Gamal 的研究 (2014) 發現成年賽鴿 (*Columba livia domestica*) 比幼鴿有顯著較高的總蛋白、白蛋白、球蛋白血中濃度。紅頸松雞的球蛋白比例會隨著年紀漸上升，推測為接觸抗原增加，免疫反應的影響 (Sibley et al., 1959)。本實驗觀察到成鳥的白蛋白和球蛋白顯著較亞成鳥高，與上述研究相符。針對各項球蛋白進行更進一步的分析，Brandt、Clegg 和 Andrews (1950) 觀察到家雞的總蛋白、alpha 和 gamma globulins 血中濃度會隨著年紀增加，beta globulin 濃度沒有年紀上的差異。本實驗觀察到成鳥的 alpha₂ globulin 濃度血中濃度顯著高於亞成鳥，beta globulin 濃度沒有顯著差異，



和上述結果相似，由於 alpha₁-和 alpha₂- globulins 為血漿中主要的脂蛋白，推測是因應組織需求而增加脂肪物質運輸所導致 (Filipović et al., 2007)。為了評估個體健康及生理情況，檢驗功能不同的各項球蛋白濃度是重要的。因此金背鳩亞成鳥的 beta globulin 比例而不是血中濃度顯著高於成鳥，可能重要性較低，且不確定是否因白蛋白比例較低的間接影響，需要更進一步的研究。

金背鳩總蛋白與身體營養狀態於本實驗中證實具有相關性，與臨床上常以總蛋白作為動物營養狀態指標相符，而由蛋白質電泳分析發現組別三的白色蛋白高於組別一，與總蛋白相似，故可推測體態主要的影響為總蛋白中的白蛋白濃度。另電泳顯示組別一的 beta globulin 比例明顯高於組別二和組別三，由於亞成鳥體重多坐落於組別一可能影響體態分析，因此移除亞成鳥數值後再次進行成鳥蛋白質電泳和體態的分析，結果第三組白蛋白與第一、二組有差異，球蛋白沒有影響，表示體態主要影響得蛋白值電泳項目只有白蛋白，球蛋白為亞成鳥體態較輕的間接影響。



第六節 血片金薩和劉氏染色比較

本實驗白血球分類的血液抹片以 Wright-Giemsa 染色做為判斷標準，同一採集樣本也同時進行了台大動物醫院犬貓血液抹片常見的劉氏染色 (Liu's stain) 做比較。劉氏染色是 1953 年時由台灣大學劉禎輝教授所研究發表，如同 Wright-Giemsa stain 是根據 Romanowsky stain 改良而成的一種染色方式，染色的結果也與 Wright-Giemsa stain 相似。劉氏染色液含有兩個部分，A 液含有 Eosin Y，B 液含有 Azur I 和 methylene azure。和其他的染色方式相較，具有快速染色的優點，只需要兩到三分鐘的時間即可完成 (Yue et al., 2014)。

比較兩種染色方式可發現，金背鳩異嗜球的表現有差異，請見圖 8。Wright-Giemsa stain 下金背鳩異嗜球顆粒如同其他鳥類血液抹片染色，呈現嗜酸性梭狀的顆粒。劉氏染色下，正常金背鳩異嗜球顆粒幾乎染不上顏色，只可見白色梭狀顆粒及橘紅色折射中央小體 (圖 8：B)。

引起這樣的染色效果有許多可能之因素。許多染劑會造成人為誤差，引起異嗜球脫顆粒，細胞質內出現含有橘紅色折射中央小體的空泡 (Capitelli et al., 2013)。Gunnarsson (2006) 提到太老舊的染劑可能會造成誤差，使得異嗜球的顆粒染不上顏色。Yue 等人 (2014) 發現對於細胞質和顆粒的變化，劉氏染色較 Wright-Giemsa stain 差，因此雖然劉氏染色較為快速，但 Wright-Giemsa stain 的品質較佳。這樣的染色差異也在台大動物醫院大動物暨野生動物科非犬貓門診的其他鳥種中發現。

由於劉氏染色可能出現異嗜球細胞質顆粒染色之誤差，造成正常染不上顆粒的異嗜球與毒性空泡變化判斷不易，所以或許劉氏染色並不適用於鳥類血液抹片染色。

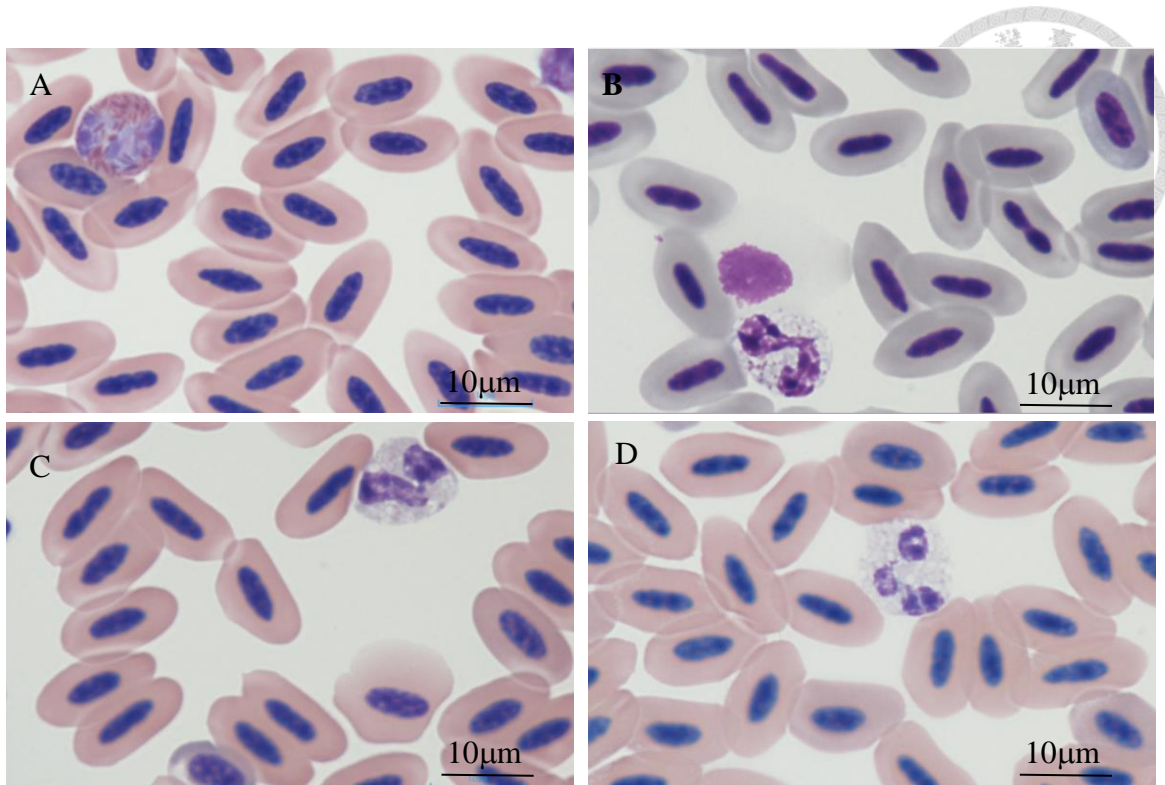
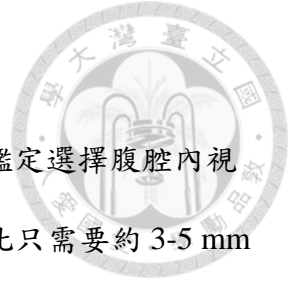


圖 8. 金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 以不同染劑染色之異嗜球型態

- A. Wright-Giemsa 染色之正常異嗜球 (Heterophil)
- B. 劉氏染色之正常異嗜球 (Heterophil)
- C. Wright-Giemsa 染色之一級毒性變化異嗜球 (Heterophil, toxic change grade I)
- D. Wright-Giemsa 染色之二級毒性變化異嗜球 (Heterophil, toxic change grade II)



第七節 腹腔內視鏡性別鑑定

鳥類性別鑑定於文獻探討闡述共有四種方式，本實驗性別鑑定選擇腹腔內視鏡法，除幼鳥外為百分之百鑑定方式。以 1.9 mm 內視鏡操作，因此只需要約 3-5 mm 的小切口即可進入觀察。公鳥性腺特徵為卵圓形睪丸 (testis) 位於腎臟頭腹側，透過體腔中隔膜甚至可看見對側睪丸；母鳥特徵為葡萄狀的卵巢 (ovary) 及懸韌帶 (suspensory ligament) 位於腎臟頭腹側 (Divers, 2010)。除性別鑑定，過程中也一同評估氣囊和體腔內臟器外觀、包含肺臟、肝臟、消化道、腎臟前中葉等，觀察結果所有個體皆未發現明顯肉眼病變，因此此法除了提供精準性別判定外，也可再次確認實驗對象健康情況。本實驗所有個體術後恢復良好，每隻麻醉時間約為 20 分鐘，甦醒時觀察到 3 隻個體出現輕微皮下氣腫，於 3-4 天後自行恢復，沒有任何傷口感染、緊迫厭食或死亡的情況。性別鑑定為實驗設計最後一步，可避免血檢值受到影響。



第八節 屈光鏡檢驗總蛋白之應用

屈光鏡主要是檢測血漿中的總固體量 (total solid) 來估計血漿總蛋白濃度，以屈光鏡估計總蛋白濃度已被廣泛使用在牛、狗、馬、貓、魚類、野生哺乳類和鳥。脂血、溶血、高膽紅素血症、氮血症、嚴重高血糖、高血鈉、高血氯和投予膠體溶液會影響總固體量，進而干擾總蛋白的估計，因此血漿樣本的品質很重要。一般而言，非蛋白質的固體量較不會變動，故將總固體量減掉非蛋白質固體量 (1.5 g/dL) 可得到總蛋白量 (Briend-Marchal et al., 2005; Melillo, 2013)。一篇以 156 隻狗和 84 隻貓的研究，發現排除肉眼觀察到的脂血和溶血情況下，屈光鏡和 biuret 方法具有高度相關，是一個可替代 biuret 方法的好選擇 (Briend-Marchal et al., 2005)。Hayes 等人在狗的研究中發現屈光鏡值小於 58 g/L 可強烈指出動物有低蛋白血症 (Hayes et al., 2011)。在鳥類醫療中，由於屈光鏡只需要非常少量的血漿，甚至可以採取離心後的毛細管上端血漿做為樣本，因此即使很小的鳥也可以採集足夠量估計總蛋白 (Melillo, 2013)。回顧鳥類的研究，有研究發現雞、鴨、紅頸松雞 (*Phasianus colchicus*)、金剛鸚鵡、錐尾鸚鵡 (conure) 和火雞的屈光鏡數值和 biuret 方法相關性高；然而也有研究顯示非洲灰鸚鵡和玄鳳 (cockatiel) 兩方法相關性不高。屈光鏡法無法應用於鴿子的血清檢體，推測可能是鴿子血糖較高或是檢驗機器廠牌不同的緣故 (Harr, 2002; Cray et al., 2008; Caprita et al., 2013)。Lumeij 等人 (1996) 使用鴿子血漿檢體，發現屈光鏡法數值較 biuret 方法高，然而因為相關係數 r 為 0.89，故可使用校正公式粗略估計總蛋白量。研究指出，哺乳類血糖高過 700 mg/dl 屈光鏡可能不準確 (Andreasen et al., 1988; Hochleithner, 1994)；然而另研究發現顯著增加血糖 (從 64 到 649 mg/dL)，屈光鏡讀值只有些微上升 (8.0 到 8.4 mg/dL)。Cray 等人 (2008) 發現鸚鵡血糖和尿酸與屈光鏡數值相關性不大。金背鳩血糖範圍 292.78-352.17 mg/dl，小於 700 mg/dl 應可嘗試運用，



且 Schmidt 等人(2008)研究中提到，屈光鏡檢驗蛋白的相關性和準確度應該要依不同鳥種建立，並盡可能減少檢體誤差，例如脂血症。

本實驗使用血漿做為檢驗樣本，將肉眼可見之脂血症和溶血樣本屏除，結果發現化學方法檢驗數值與屈光鏡檢驗數值兩者無論是 Pearson 相關檢定、回歸分析或皮爾森相關係數皆呈現高度相關。由於屈光鏡數值為總固體量，因此可能受血糖、膽固醇、三酸甘油脂、血鈉和血氯的影響，因此另外針對此五項目與屈光鏡數值再進行相關性分析，發現皆未達到顯著差異，表示總蛋白才是顯著影響屈光鏡數值的項目。而由回歸分析可粗略得知兩者數值的換算公式為：化學方法 = 屈光鏡數值 $\times 0.505 + 0.233$ 。故本實驗證實金背鳩在未出現脂血症和溶血的情況下可使用屈光鏡做為血漿中總蛋白濃度的估計，而或許也可建立一總固體量的參考範圍可更直觀的判定，請見表 6。

表 6. 圈養金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 血漿總固體參考值

Analyte	n	Mean	S.D.	Minimum-maximum	90% CI of reference limits
TS (g/dL)	36	5.69	0.57	4.2-7	4.76-6.63

- a. TS= total solid, n= sample size, CI= confidence interval
- b. 去除極端值後樣本數少於 40 隻，因此以最大最小值 (Minimum-Maximum) 表示參考值上下限

第六章 結論

本研究以臨床表現健康之圈養金背鳩四十四隻，物理保定採取翼靜脈血液，使用 Wright-Giemsa 自動染色機染色，建立血液生化及蛋白質電泳參考值。

金背鳩白血球分類以淋巴球偏多，嗜酸性球、嗜鹼性球和單核球比例偏少，異嗜球比淋巴球比例 (H/L ratio) 約為 0.5。和鴿子相比，金背鳩的肌酐激酶、天門冬酸鹽轉胺酶、血糖、血鈉、和血氣較高，前三項可能為緊張興奮引發或物種差異，而實驗中理學檢查無脫水現象，故較高的血鈉和血氣應為物種差異。

分析金背鳩成鳥與亞成鳥數據，發現成鳥有較高的總蛋白、白蛋白、球蛋白、膽固醇、血鈉和血氣，亞成鳥有較高的血磷和血鉀，可能與荷爾蒙變化、肌肉骨骼生長、腎臟和肝臟發育程度以及接觸抗原較多寡有關。金背鳩總蛋白與身體營養狀態於本實驗中證實具有相關性，其中主要的影響為白蛋白，與臨床上常以總蛋白和白蛋白作為動物營養狀態指標相符。本實驗亦發現性別對金背鳩血液生化和蛋白質電泳的影響並不顯著。

本實驗證實金背鳩在未出現脂血症和溶血的情況下，可使用屈光鏡做為血漿中總蛋白濃度的估計，而或許也可建立一血漿總固體量的參考範圍可更直觀的判定。

由於劉氏染色可能出現異嗜球細胞質顆粒染色之誤差，造成正常染不上顆粒的異嗜球與毒性空泡變化判斷不易，所以或許劉氏染色並不適用於鳥類血液抹片染色，建議仍以 Wright-Giemsa stain 為標準。


本研究結論對於金背鳩的臨床病理學、醫療救傷及保育工作具有重要的價值，使用的實驗方法也可提供未來其他鳥類相關研究之參考應用。

參考資料



1. 丁宗蘇、吳森雄、阮錦松、林瑞興、楊玉祥、潘致遠、蔡乙榮。2014。臺灣鳥類名錄。台灣。中華民國野鳥學會鳥類紀錄委員會。
2. 方偉宏。2010。台灣鳥類全圖鑑。台灣。貓頭鷹出版社。
3. 國立臺灣大學生態學與演化生物學研究所。2004。金背鳩。行政院國家科學委員會數位典藏國家型科技計畫。網址：
http://archive.zo.ntu.edu.tw/bird/r_bird_index.asp?bird_id=b0274，連線日期：
2015/1/22。
4. 劉小如、丁宗蘇、方偉宏、林文宏、蔡牧起、顏重威。2010。金背鳩。臺灣鳥類誌（中）：412-414。
5. 蕭木吉、李政霖。2014。台灣野鳥手繪圖鑑。台灣。台北市野鳥協會。
6. Aina, O.O., Ajibade, T. 2014. Age-related changes in haematologic parameters of cage-raised Japanese quails (*Coturnix japonica*). *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*. 6(4): 104-108.
7. Al-Gamal, M.A. 2014. Blood biochemical profile of young and adult racing pigeon (*Columba livia domestica*) in Egypt. *Middle East Journal of Applied Sciences*. 4(3): 528-538.
8. Andreasen, C.B., Latimer, K.S., Kircher, I.M., Brown, J. 1988. Determination of chicken and turkey plasma and serum protein concentrations by refractometry and the biuret method. *Avian Diseases*. 33(1): 93-96.
9. Brandt, L.W., Clegg, R.E., Andrews, A.C. 1950. The effect of age and degree of maturity on the serum proteins of the chicken. *Journal of Biological Chemistry*. 191:


- 105-111.
10. Briend-Marchal, A., Medaille, C., Braun, J.P. 2005. Comparison of total protein measurement by biuret method and refractometry in canine and feline plasma. *Revue de Médecine Vétérinaire*. 156(12): 615-619.
11. Campbell, T.W. 1994. Hematology. In : Ritchie, B.W., Harrison, G.J., Harrison, L.R. (ed). *Avian medicine and surgery: principles and application*. Wingers Publishing Inc., Lake Worth, FL, Pp. 176-198.
12. Carpenter, J.W. 2013. *Exotic animal formulary*. 4th ed. Saunders, Louis, MO, Pp. 332-361.
13. Compbell, T.W. 2012. Hematology of birds. In: Thrall, M.A., Weiser, G., Allison, R., Campbell. T.W. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. 2nd ed. Wiley-Blackwell, Singapore, Pp 238-276.
14. Campbell, T.W. 2015. Hematology. *Veterinary Clinics of North American: Exotic Animal Practice*. 18(1): 51-61.
15. Campbell, T.W., Ellis C.K. 2007. Hematology of birds. In: Compbell TW, Ellis CK. (ed). *Avian and exotic animal hematology and cytology*, 3rd ed. Blackwell, Ames, IA, Pp. 3-50.
16. Capitelli, R., Crosta, L. 2013. Analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected psittacine species. *Veterinary Clinics of North American: Exotic Animal Practice*. 16(1):71-120.
17. Caprita, R., Caprita, A., Cretescu, I., Nicu, V. 2013. Spectrophotometric and refractometric determination of total protein in avian plasma. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*. 46(2): 162-165.

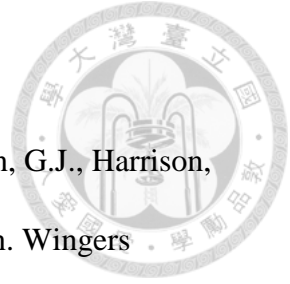
- 
18. Casado, E., Balbontin, J., Ferrer, M. 2002. Plasma chemistry in booted eagle (*Hieraaetus pennatus*) during breeding season. *Comparative Biochemistry and Physiology A*. 131: 233-241.
19. Clark, P., Boardman, W., Raidal, S. 2009. *Atlas of clinical avian hematology*. Wiley-Blackwell, Ames, IA.
20. Cray, C. 2015. Reference intervals in avian and exotic hematology. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*. 18(1): 105-116.
21. Cray, C., King, E., Rodriguez, M., Decker, L.S., Arheart, K.L. 2011. Differences in protein fractions of avian plasma among three commercial electrophoresis systems. *Journal of Avian Medicine and Surgery*. 25(2): 102-110.
22. Cray, C., Rodriguez, M., Arheart, K.L. 2008. Use of refractometry for determination of psittacine plasma. *Veterinary Clinical Pathology*. 37(4): 438-442.
23. Cray, C., Rodriguez, M., Zaias, J. 2007. Protein electrophoresis of psittacine plasma. *Veterinary Clinical Pathology*. 36(1): 64-72.
24. Cray, C., Tatum, L.M. 1998. Applications of protein electrophoresis in avian diagnostics. *Journal of Avian Medicine and Surgery*. 12(1): 4-10.
25. del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J. 1997. *Handbook of the birds of the world-volume 4: Sandgrouse to Cuckoos*. Lynx Edicions, Barcelona.
26. Divers, S. J. 2010. Avian diagnostic endoscopy. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*. 13(2): 187-217.
27. Dobado-Berrios, P.M., Tella, J.L. 1998. Effects of age and captivity on plasma chemistry values of Egyptian vulture. *The Condor*. 100: 719-725.
28. Doneley, B. 2010. Clinical techniques. In: Doneley, B. (ed). *Avian medicine and*

surgery in practice companion and aviary birds. Manson Publishing Ltd, London, Pp. 55-57.

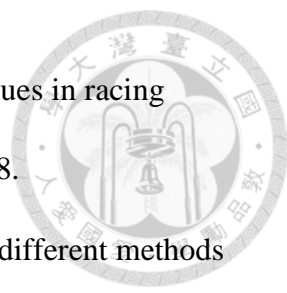


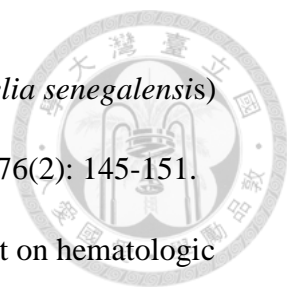
29. Dressen, P.J., Wimsatt, J., Burkhard, M.J. 1999. The effect of isoflurane anesthesia on hematologic and plasma biochemical values of American kestrels (*Faoco sparverius*). *Journal of Avian Medicine and Surgery*. 13(3): 173-179.
30. Elliott, A. C., Hynan, L. S. 2011. A SAS macro implementation of a multiple compareson post hoc test for Kruskal-Wallis analysis. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*. 102(1): 75-80.
31. Ferrer, M. 1990. Hematological studies in birds. *The Condor*. 92: 1085-1086.
32. Ferrer, M., Dobado-Berrios, P. 1998. Factors affecting plasma chemistry values of Spanish Imperial Eagle, *Aquila adalberti*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*. 120: 209-217.
33. Filipović, N., Stojević, Z., Milinković-Tur, S., Ljubić, B.B., Zdelar-Tuk, M. 2007. Changes in concentration and fractions of blood serum proteins of chickens during fattening. *Veterinarski Arhiv*. 77(4): 319-326.
34. Friedrichs, K.R., Barnhart, K.F., Blanco-Chavez, J.,Freeman, K.P., Harr, K.E., Szladovits, B., Walton, RM. 2011. Guildlines for the determination of reference intervals (RI) in veterinary species. Retrieved March 8, 2015, from <http://www.asvcp.org/pubs/pdf/RI%20Guidelines%20For%20ASVCP%20website.pdf>.
35. Friedrichs, K.R., Harr, K.E., Freeman, K.P., Szladovits, B., Walton, RM., Barnhart, K.F., Blanco-Chavez, J. 2012. ASVCP reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics.

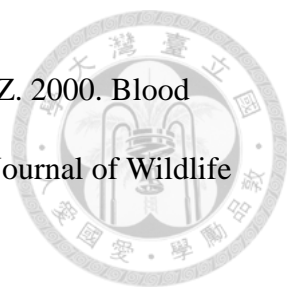
- 
- Veterinary Clinical Pathology. 41(4):441-453.
36. Garcia-Rodriguez, T., Ferrer, M. Recio, F., Castroviejo, J. 1987a. Circadian rhythms of determined blood chemistry values in Buzzard and Eagle Owls. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*. 88: 663-669.
37. Garcia-Rodriguez, T., Ferrer, M. Recio, F., Castroviejo, J. 1987b. Metabolic responses of *Buteo buteo* to long-term fasting and refeeding. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*. 87(2): 381-386.
38. Gayathri, K.L., Hegde, S.N. 1994. Sexual differences in blood values of the pigeon, *Columba livia*. *Comparative Biochemistry Physiology*. 109B: 219-224.
39. Griffiths R., Double, M.C., Orr, K., Dawson, R.J. 1988. A DNA test to sex most birds. *Molecular Ecology*. 7: 1071-1075.
40. Gunnarsson, M. 2006. Avian hematology. Retrieved March 30, 2015, from http://ex-epsilon.slu.se:8080/archive/00000869/03/Avian_hematology.pdf.
41. Haile, Y., Chanie, M. 2014. Comparative aspects of the clinical hematology of birds: a review. *British Journal of Poultry Sciences*. 3 (3): 88-95.
42. Harr, K.E. 2006. Diagnostic value of biochemistry. In: Harrison G.J., Lightfoot T.L. (ed). *Clinical avian medicine*. Spix Publishing Inc, Plam Beaxh, FL, Pp. 668-686.
43. Hayes, G.M., Mathews, K., Floras, A., Dewey, C. 2011. Refractometric total plasma protein measurement as a cage-side indicator of hypoalbuminemia and hypoproteinemia in hospitalized dogs. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 21(4): 356-362.
44. Horowitz, G.L. 2014. Establishment and use of reference values. In: Burtis, C.A., Bruns, D.E. (ed). *Tietz fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnostics*.



- 7th ed. Elsevier Saunders, Louis, MO, Pp. 60-71.
45. Hochleithner, M. 1994. Biochemistry. In: Ritchie, B.W., Harrison, G.J., Harrison, L.R. (ed). Avian medicine and surgery: principles and application. Wingers Publishing Inc., Lake Worth, FL, Pp. 223-245.
46. Joyner, K.L. 1994. Theriogenology. In: Ritchie, B.W., Harrison, G.J., Harrison, L.R. (ed). Avian medicine and surgery: principle and applications. Wingers Publishing Inc., Lake Worth, FL, Pp. 748-804.
47. Kilgas, P., Tilgar, V., Mägi, M., Mänd, R. 2007. Physiological condition of incubating and brood rearing female great tits *Parus major* in two contrasting habitats. Acta Ornithologica. 42(2): 129-136.
48. Krautwald-Junghanns, M. 2007. Aids to diagnosis. In: Coles, B.H. (ed). Essentials of avian medicine and surgery 3rd ed. Blackwell Publishing, Oxford, MS, Pp. 56-102.
49. Lashev, L., Hubenov, H., Nikolov, Y., Lasheva, V., Mihailov, R. 2009. Comparison of some haematological parameters between three bird species from the *Columbidae* family - short communication. Veterinarski Arhiv. 79(4): 409-414.
50. Lavin, S., Cuenca, R., Velarde, R., Vinas, L. 1992. Hematology and blood chemistry of the March Harrier (*Circus Aeruginosus*). Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. 130(3): 493-495.
51. Le Souëf, A.T., Holyoake, C.S., Vitali, S.D., Warren, K.S. 2013. Hematologic and Plasma Biochemical Reference Values for Three Species of Black Cockatoos (*Calyptorhynchus* species). Journal of Avian Medicine and Surgery. 27(1): 14-22.

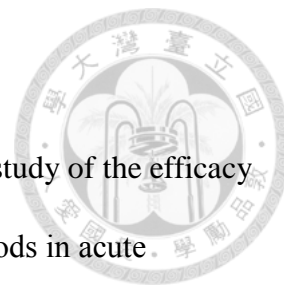
- 
52. Lumeij, J.T., de Bruijne, J.J. 1985. Blood chemistry reference values in racing pigeons (*Columba livia domestica*). *Avian Pathology*. 14: 401-408.
53. Lumeij, J.T., de Bruijne, J.J., Kwant M.M. 1990. Comparison of different methods of measuring protein and albumin in pigeon sera. *Avian Pathology*. 19(2): 255-261.
54. Lumeil, J.T., Maclean, B. 1996. Total protein determination in pigeon plasma and serum: comparison of refractometric methods with the biuret method. *Journal of Avian Medicine and Surgery*. 10(3):150-152.
55. Melillo, A. 2013. Applications of serum protein electrophoresis in exotic pet medicine. *Veterinary Clinics of North American: Exotic Animal Practice*. 16(1): 211-225.
56. Milani, J.F. 2009. Hematology and plasma chemistry reference values, body mass scores, and fecal bacteriological analysis in tundra swans, *Cygnus columbianus*. Master's thesis. School of Veterinary Medicine. University of California.
57. Minias, Piotr., Kaczmarek, Krzysztof. 2012. Concentrations of plasma metabolites as predictors of nestling condition in the Great Cormorant (*Phalacrocorax carbo sinensis*). *Ornis Fennica*. 90:142-150.
58. Mitchell, E.B., Johns, J. 2008. Avian hematology and relates disorders. *Veterinary Clinical Pathology*. 27:102-106.
59. Naidoo, V., Diekmann, M., Wolters, K., Swan, G.E. 2008. Establishment of selected baseline blood chemistry and hematologic parameters in captive and wild-caught African white-backed vultures (*Gyps africanus*). *Journal of Wildlife Diseases*. 44(3): 649–654.
60. Olayemi, F.O., Ojo, E.O., and Fagbohun, O.A. 2006. Haematological and plasma

- 
- biochemical parameters of the Nigerian laughing dove (*Streptopelia senegalensis*) and the Nigerian duck (*Anas platyrhynchos*). *Veterinarski Arhiv*. 76(2): 145-151.
61. Parga, M.L., Pendl, H., Forbes, N.A. 2001. The effect of transport on hematologic parameters in trained and untrained harris's hawks (*Parabuteo unicinctus*) and peregrine falcons (*Falco peregrinus*). *Journal of Avian Medicine and Surgery*. 15(3): 162-169.
62. Potti, J., Moreno, J., Merino, S., Frias, O., Roderiguez, R. 1999. Environmental and genetic variation in the haematocrit of fledgling pied flycatchers *Ficedula hypoleuca*. *Oecologia*. 120: 1-8.
63. Powers, L.V., Pokras, M. 1994. Hematology and occurrence of hemoparasites in migrating sharp-shinned hawks (*Accipiter striatus*) during fall migration. *Journal of Raptor Research* 28(3): 178-185.
64. Prinzinger, R., Misovic, A. 2010. Age-correlation of blood values in the Rock Pigeon (*Columba livia*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*. 156: 351–356.
65. Samour, J. 2006. Diagnostic value of hematology. In: Harrison G.J., Lightfoot T.L. (ed). *Clinical avian medicine*. Spix Publishing Inc, Plam Beaxh, FL, 22:628-667.
66. Schamber, J.L., Esler, D., Flint, P.L. 2009. Evaluating the validity of using unverified indices of body condition. *Journal of Avian Biology*. 40: 49-56.
67. Schmidt, E.M. dos Santos., Paulillo, A.C., Dittrich, R.L., Hoppe, E.G.L., Bertoli, R.S. 2008. Determination of ring-necked pheasant (*Phasianus colchicus*) serum protein concentrations by refractometry and the biuret method. *International Journal of Poultry Science*. 7(7): 672-673.

- 
68. Schulz, J.H., Bermudez, J.A., Tomlinson, J.L., Firman, J.D., He, Z. 2000. Blood plasma chemistries from wild mourning doves held in captivity. *Journal of Wildlife Diseases*. 36(3): 541–545.
69. Scope, A., Filip, T., Gabler, C., Resch, F. 2002. The influence of stress from transport and handling on hematologic and clinical chemistry blood parameters of racing pigeons (*Columba livia domestica*). *Avian Diseases*. 46(1): 224-229.
70. Sibley, C.G., Johnsgard, P.A. 1959. Variability in the electrophoretic patterns of avian serum proteins. *The Condor*. 61(2): 85-95.
71. Solberg, H.E. 1999. Establishment and use of reference values. In: Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (ed). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, PA, Pp.229-238.
72. Sturkie, P.D., Newman, H.J. 1951. Plasma proteins of chickens as influenced by time of laying, ovulation, number of blood samples taken, and plasma volume. *Poultry Science*. 30: 240.
73. Villegas, A., Guzman, J. M.S., Corbacho, C., Corbacho, P., Vargas, J.M. 2004. Blood values of bald ibis (*Feronticus eremite*) in captivity: comparative ranges and variability with age, sex and physical condition. *Journal of Ornithology*. 145: 98-104.
74. Villegas, A., Sanchez, J.M., Costillo, E., Corbacho, C. 2002. Blood chemistry and haematocrit of the black vulture (*Aegyptius monachus*). *Comparative Biochemistry Physiology A*. 132: 489-497.
75. Werner, L.L., Reavill, D.R. 1999. The diagnostic utility of serum protein electrophoresis. *Veterinary Clinics of North American: Exotic Animal Practice*. 2(3):

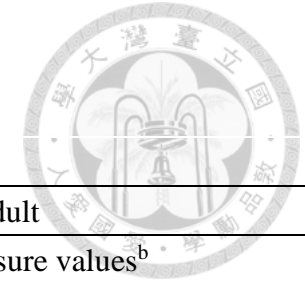
651-62.

76. Yue, Q.F., Xiong, B., Chen, W.X., Liu, X.Y. 2014. Comparative study of the efficacy of Wright-Giemsa stain and Liu's stain in the detection of Auer rods in acute promyelocytic leukemia. *Acta Histochemica*. 116: 1113–1116.



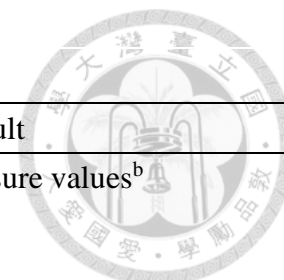
附錄一

圈養金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 的成鳥與亞成鳥全血球計數數值



Analyte	Adult					Subadult	
	n	Mean	S.D.	Minimum- Maximum ^a	90% CI of reference limits	n	All measure values ^b
PCV (%)	36	51.03	1.41	45-57	48.69-53.36	8	44, 48, 48, 49.5, 50, 51, 54.5, 56
Hb (g/dL)	35	16.33	1.27	13-23.6	14.23-18.43	8	12.5, 14.5, 14.8, 14.9, 15.9, 16.6, 17.6, 20
RBC (10 ⁶ /μL)	36	3.19	0.90	1.81-4.88	1.70-4.68	8	2.36, 3.01, 3.09, 3.26, 3.36, 3.49, 3.83, 4.18
MCV (fL)	36	165.75	54.71	112.70-254.14	75.48-256.02	8	122.00, 130.55, 137.54, 151.84, 159.47, 162.20, 181.23, 186.44
MCH (pg)	35	52.48	23.36	38.01-75.23	13.94-91.02	8	35.65, 15.40, 47.32, 47.56, 48.17, 52.22, 52.97, 56.96
MCHC (g/dL)	35	31.88	3.42	28.26-42.91	26.23-37.52	8	28.41, 29.17, 29.22, 29.90, 30.21, 31.43, 34.58, 40
WBC (μL)	35	12396.89	4548.12	5772-22866	4889.50-19898.27	8	8880, 9990, 10212, 11100, 17538, 18426, 22200, 24864
Heterophils (%)	36	32.78	0	15-55	32.78-32.78	8	15, 17, 18, 22, 28, 34, 51, 53
Lymphocytes (%)	36	63.03	2.83	34-80	58.36-67.69	8	44, 48, 62, 65, 73, 78, 78, 82,
Basophils (%)	31	0.42	0	0-2	0.419-0.419	8	0, 0, 0, 0, 0, 1, 2, 3
Eosinophils (%)	34	0.00	0	0-0	0-0	8	0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0
Monocytes (%)	36	3.31	2.83	0-7	0-7.97	8	1, 2, 3, 3, 3, 4, 5, 5

圈養金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 的成鳥與亞成鳥全血球計數數值 (續)



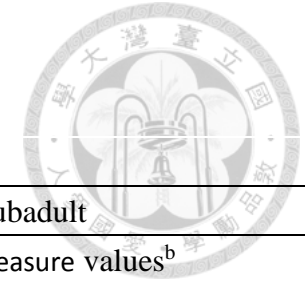
Analyte	Adult					Subadult	
	n	Mean	S.D.	Minimum- Maximum ^a	90% CI of reference limits	n	All measure values ^b
Heterophils (μL)	35	4009.26	1182.51		2058.12-5960.40	8	1531.8, 1698.3, 2442, 2486.4, 4475.52, 6264.84, 8944.38, 11766
Lymphocytes (μL)	35	7758.51	3577.73	3574.2-	1855.25-13661.77	8	5772, 7792.2, 8103, 8373.84, 8418.24, 9768, 11424.12, 19393.92
Basophils (μL)	32	50.44	0	0-253.08	50.44-50.44	8	0, 0, 0, 0, 0, 102.12, 177.6, 333
Eosinophils (μL)	35	241.72	0	0-0	0-0	8	0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0
Monocytes (μL)	35	390.03	212.13	0-892.44	40.01-740.05	8	175.38, 204.24, 333, 444, 499.5, 666, 737.04, 745.92

a. 樣本數介於 20-40 隻，故以最大最小值為參考範圍

b. 未超過 20 無法建立參考值範圍，列出由小到大所有檢驗數值

附錄二

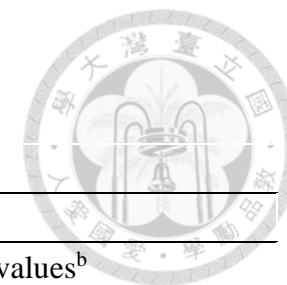
圈養金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 成鳥與亞成鳥的血液生化數值



Analyte	Adult					Subadult	
	n	Mean	S.D.	Minimum-Maximum ^a / All measure values ^b	90% CI of reference limits	n	All measure values ^b
AST (U/L)	35	135.54	10.61	70-207 ^a	118.04-153.04	8	84, 99, 103, 105, 117, 125, 136, 141
CK (U/L)	35	707.74	29.70	408-1085 ^a	658.74-756.75	8	472, 544, 682, 788, 870, 985, 1554, 1700
Uric acid (mg/dL)	36	6.50	2.33	2.3-9.8 ^a	2.65-10.35	8	2.8, 3.2, 3.9, 5.1, 5.5, 8.3, 8.5, 14.4
TP (g/dL)	36	3.16	0.71	2.3-4.0 ^a	1.99-4.32	8	2.2, 2.2, 2.2, 2.6, 2.6, 2.7, 2.8, 3.5
Ca (mg/dL)	36	8.61	0.50	6.4-9.4 ^a	7.80-9.43	8	6.1, 8.5, 8.7, 8.7, 8.8, 8.8, 9.4, 9.7
P (mg/dL)	33	3.44	0.14	2.0-5.8 ^a	3.21-3.67	8	4.6, 5.4, 5.6, 6.4, 6.5, 6.8, 7.0, 8.6
Glucose (mg/dL)	35	322.69	34.65	245-390 ^a	265.52-379.86	8	286, 298, 302, 308, 316, 317, 322, 346
Cholesterol (mg/dL)	29	268.48	94.05	172-352 ^a	113.31-423.66	4	122, 176, 192, 258
Triglyceride (mg/dL)	29	198.17	18.38	144-281 ^a	167.84-228.51	4	124, 184, 198, 288
GGT (U/L)	7	-	-	<5, <5, <5, <5, <5, 5, 8 ^b	-	4	<5, <5, <5, 6
BUN (mg/dL)	36	<1	-	<1 ^a		8	<1, <1, <1, <1, <1, <1, <1, <1
Na (mmol/L)	33	155.00	4.24	147-164 ^a	148.00-162.00	8	144, 145, 147, 147, 149, 149, 154, 15
K (mmol/L)	35	2.97	1.20	2.0-4.1 ^a	0.99-4.95	8	3.1, 3.5, 4.0, 4.2, 4.5, 4.7, 4.7, 5.2
Cl (mmol/L)	35	118.89	3.54	112-128 ^a	113.05-124.72	8	109, 112, 112, 114, 114, 115, 116, 119

a. 樣本數介於 20-40 隻，故以最大最小值為參考範圍

b. 未超過 20 無法建立參考值範圍，列出由小到大所有檢驗數值



附錄三

圈養金背鳩 (*Streptopelia orientalis*) 成鳥與亞成鳥的蛋白質電泳數值

Fraction/plasma concentrateon	Adult					Subadult	
	n	Mean	S.D.	Minimum- Maximum ^a	90% CI of reference limits	n	All measure values ^b
Albumin (%)	36	40.96	4.67	31.63-50.30	33.26-48.66	8	31.1, 33.4, 34.2, 36.4, 39.5, 40.0, 44.5, 55.1
Alpha ₁ globulin (%)	29	3.87	1.06	1.75-5.99	2.12-5.62	8	1.6, 1.6, 1.9, 2.7, 3.5, 4.0, 6.2, 6.6
Alpha ₂ globulin (%)	36	24.13	0.57	23.00-25.26	23.20-25.06	8	4.5, 21.0, 24.5, 25.0, 25.2, 28.5, 29.7, 29.8
Beta globulin (%)	36	13.22	4.10	5.02-21.42	6.45-19.99	8	13.0, 16.6, 18.2, 18.2, 20.5, 21.0, 22.7, 26.1
Gamma globulin (%)	28	13.84	1.06	11.72-15.96	12.09-15.59	8	11.9, 12.0, 12.8, 13.1, 13.3, 15.0, 15.0, 17.3
A/G ratio	36	0.7	0.07	0.56-0.84	0.59-0.82	8	0.5, 0.5, 0.5, 0.6, 0.7, 0.7, 0.8, 1.2
Albumin (g/dL)	36	1.3	0.13	1.04-1.55	1.09-1.51	8	0.68, 0.80, 0.88, 0.89, 1.07, 1.16, 1.17, 1.54
Alpha ₁ globulin (g/dL)	29	0.31	0.05	0.02-0.21	0.04-0.19	8	0.04, 0.04, 0.04, 0.07, 0.08, 0.14, 0.17, 0.17
Alpha ₂ globulin (g/dL)	36	0.75	0.23	0.29-1.21	0.23-1.13	8	0.08, 0.13, 0.55, 0.62, 0.63, 0.65, 0.68, 0.77
Beta globulin (g/dL)	36	0.41	0.23	0-0.87	0.03-0.79	8	0.34, 0.40, 0.40, 0.45, 0.50, 0.53, 0.58, 0.91
Gamma globulin (g/dL)	27	0.41	0.07	0.27-0.55	0.30-0.53	8	0.08, 0.29, 0.30, 0.33, 0.33, 0.37, 0.42, 0.47

a. 樣本數介於 20-40 隻，故以最大最小值為參考範圍

b. 未超過 20 無法建立參考值範圍，列出由小到大所有檢驗數值