บทที่ 2
วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ชีววิทยาปลาดุก

ปลาดุก (*Clarias spp.*) เป็นปลาพื้นเมืองที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศและมีการเพาะเลี้ยงมานานกว่า 20 ปี ปลาดุกที่พบในประเทศไทยมีด้วยกันสองสกุลคือ *Clarias* และ ปลาดุก *Propagorus* (เฉิดฉัน อมาตยกุล และคณะ 2538) โดยเฉพาะปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*) มีแหล่งกำเนิดทั่วไปในน่านน้ำจืดในเขตร้อนแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น อินเดีย พม่า ลาว ไทย กัมพูชา เวียดนาม อินโดนีเซีย และหมู่เกาะบอร์เนียว ฟิลิปปินส์ ปลาดุกอุยเป็นปลาพื้นเมืองของไทย มีลักษณะเนื้อและรสชาดดี ปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมได้ดี ในปีพ.ศ.2530 เกษตรกรนำเอาปลาในตระกูลแคทฟิชเข้ามาจากประเทศลาว ซึ่งมีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกามีชื่อว่า african shape tooth catfish (*Clarias gariepinus*) เป็นปลาที่มีการเติบโตรวดเร็ว กินอาหารได้ทุกชนิด มีความต้านทานโรคและทนทานต่อสภาพแวดล้อม (Tavaratmaneegul และคณะ, 1996) กรมประมงให้ชื่อว่าปลาดุกเทศ จากนั้นสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดได้ศึกษาชีววิทยาและเพาะขยายพันธุ์ปลา โดยนำมาผสมข้ามสายพันธุ์ระหว่างปลาดุกอุยเพศเมียกับปลาดุกเทศเพศผู้ กรมประมงให้ชื่อว่าปลาดุกพันธุ์ผสม หรือ ปลาดุกบิ๊กอุย (*Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*) ลูกผสมที่ได้มีการเจริญเติบโตดี เลี้ยงง่าย ทนทานต่อโรค และราคาค่อนข้างสูง (Tavaratmaneegul และคณะ, 1996)

ปลาดุกเป็นปลาน้ำจืดไม่มีเกล็ด พบตามแหล่งน้ำจืดทั่วไป มีหนวด 4 คู่อยู่ริมฝีปาก ซึ่งหนวดสามารถรับความรู้สึกได้ดี ดังนั้นปลาดุกจึงใช้หนวดมากกว่าตาเมื่อหาอาหารตามหน้าดิน (ประพันธ์ ธาราเวทย์, 2543) ส่วนครีบอกแต่ละข้างก็จะมีก้านครีบที่แข็งแรงอยู่ข้างละ 1 อัน มีลักษณะสำคัญ คือ จะมีปลายแหลม และเป็นรอยหยักคล้ายฟันเลื่อยตลอดก้านครีบหรือเรียกว่าเงี่ยง (ไชยา อุ้ยสูงเนิน, 2532) ผิวหนังสีน้ำตาล เนื้อสีเหลือง สำหรับในประเทศไทยถิ่นอาศัยของปลาดุกจะอยู่ตามลำคลอง หนองบึง ทั่วทุกภาค ปลาดุกสามารถอาศัยอยู่ตามแหล่งน้ำซึ่งเป็นพื้นโคลน น้ำค่อนข้างกร่อย หรือแม้แต่บริเวณที่มีน้ำเพียงเล็กน้อย ทั้งนี้เพราะปลาดุกมีอวัยวะพิเศษที่ช่วยในการหายใจ (ไชยา อุ้ยสูงเนิน, 2543; ประพันธ์ ธาราเวทย์, 2543) โดยทั่วไปปลาดุกกินอาหารจำพวกตัวอ่อนของแมลงน้ำ ไรน้ำ แมลง กุ้ง และลูกปลา (กรมประมง, 2535; ประพันธ์ ธาราเวทย์, 2543) ปลาดุกมีนิสัยค่อนข้างดุ ตกใจง่าย ไม่ชอบอยู่ในที่มีแสงสว่างมากเกินไป ชอบหากินในตอนกลางคืนและอาศัยอยู่ได้อย่างหนาแน่นในพื้นที่แคบ (ประพันธ์ ธาราเวทย์, 2543) ส่วนปลา

ดุกบิ๊กอุยมีลักษณะก้ำกึ่งระหว่าง ปลาดุกอุยและปลาดุกยักษ์ ลักษณะภายนอกลำตัวและหางจะมีลายจุดประสีขาว ลักษณะคล้ายของปลาดุกอุยเมื่อตอนเล็ก แต่พอโตเต็มที่จุดประนี้จะค่อยๆหายไป กะโหลกท้ายทอยแหลมเป็นหยัก 3 หยัก หัวมีขนาดใหญ่ คอดหางมีจุดประสีขาวขนาดเล็ก เมื่ออายุได้ 3 สัปดาห์ขึ้นไป อัตราการเจริญเติบโตและลักษณะจะคล้ายกับปลาดุกเทศมากขึ้น แต่เนื้อยังคงออกสีเหลืองนุ่ม รสชาดดีไม่เหลวเหมือนปลาดุกยักษ์ จึงเป็นที่ต้องการของตลาด

2. สารเมลามีน (melamine)

สารเมลามีน (melamine) เป็นพลาสติกชนิดหนึ่ง มีสารฟอร์มัลดีไฮด์หรือสารฟอร์มาลีนเป็นส่วนประกอบ (เยาวมาลย์ ค้าเจริญ, 2550) ถูกสังเคราะห์ขึ้นครั้งแรกโดย Liebig ในปี ค.ศ. 1834 ซึ่งได้มาจากการเปลี่ยนแปลงของ ไดไซอะนามัย (dicyanamide) เป็นแคลเซียมไซยานาไมด์ (calcium cyanamide) โดยการให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิละลายได้เป็นแอมโมเนียและเมลามีน (FDA, 2007)

สารเมลามีนมีสูตรโครงสร้างทางเคมีคือ $C_3H_6N_6$ มีชื่อเรียกทางเคมี 2, 4, 6 - triamino - 1, 3, 5 triazine (EFSA, 2007; FDA, 2007; Chang และคณะ, 2009) เป็นสารตัวกลางที่ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอะมิโนเรซินและพลาสติก โดยทั่วไปพบในรูปของผลึกสีขาว ละลายน้ำได้เล็กน้อย (EFSA, 2007; Chang และคณะ 2009) พบการปนเปื้อนในธรรมชาติได้ เนื่องจากมีการใช้ยาฆ่าแมลงที่มีส่วนประกอบของสารไซโรมาซีน (FAO, 2007) ซึ่งสารนี้มีสูตรโครงสร้างเหมือนกับสารเมลามีน เมื่อสัตว์กินเข้าไปหรือพืชดูดซึมสารเข้าไป สารไซโรมาซีนจะแตกตัวได้เป็นเมลามีน (Markey and Zeigler, 2007) ปัจจุบันมีการนำสารเมลามีนมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น นำมาผลิตเป็นเรซินพลาสติก (Wang และคณะ 2010) สารทำความสะอาด (Chen และคณะ 2009) กาว เม็ดสี หมึกพิมพ์ (Yuchang และคณะ 2010) น้ำยาดับเพลิง ยารักษาพยาธิเม็ดเลือด african trypanosomiasis และปุ๋ยประเภท nitrogen-fixing fertilizer (ดวงจันทร์ เฮงสวัสดิ์, 2552; Barrett and Gilbert, 2006; WHO, 2009) วงการปศุสัตว์นำเมลามีนมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนที่ให้ไนโตรเจน (non protein nitrogen) ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Colby และ Robert, 1985) แต่ไม่เป็นที่ยอมรับ เนื่องจากขบวนการไฮโดรไลซิสของเมลามีนจะให้ไนโตรเจนไม่สมบูรณ์ (Newton and Utley, 1978) และในปี ค.ศ. 1970 องค์การคุ้มครองสิ่งแวดล้อมของสหรัฐ (EPA) ได้ประกาศห้ามใช้ปุ๋ยที่มี melamine - base และ urea - base เพราะไม่ปลอดภัยสำหรับผลิตอาหาร และห้ามนำเข้าสหรัฐอเมริกา เนื่องจากเมลามีนเป็นสารก่อมะเร็ง ในส่วนของอาหารสัตว์จะมีการนำเอาพลาสติกที่เหลือมาป่นเป็นผงสีขาวผสมในอาหารสัตว์ โดยใช้ชื่อว่า "ไบโอโปรตีน" หรือ " โปรตีนเทียม" แทนชื่อเมลามีน (เยาวมาลย์ ค้าเจริญ, 2550; ดวงจันทร์ เฮงสวัสดิ์, 2552) เพื่อเพิ่มค่าโปรตีนให้กับวัตถุดิบคุณภาพต่ำไม่ผ่าน

เกณฑ์มาตรฐานให้ได้ค่าโปรตีนตามเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด และพบว่ามีราคาถูกกว่าโปรตีนอื่นที่เป็นพวกธัญญพืชหรือเนื้อสัตว์เกือบ 5 เท่า ซึ่งจะสามารถลดต้นทุนในการผลิตได้มาก (ดวงจันทร์ เฮงสวัสดิ์, 2552)

ประมาณเดือนมีนาคม 2550 ได้มีการเรียกคืนอาหารสัตว์เลี้ยงที่จำหน่ายในประเทศแถบอเมริกา ยุโรป แอฟริกาใต้ เนื่องจากมีรายงานว่าแมวและสุนัขตายด้วยอาการไตวายเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะในประเทศสหรัฐอเมริกา องค์การอาหารและยา (USFDA) ได้รับรายงานเกี่ยวกับสัตว์เลี้ยงตายเนื่องมาจากกินอาหารมีการปนเปื้อนเมลามีน หลังจากตรวจพบอาหารสัตว์มีส่วนผสมของวีทกลูเต็น (wheat gluten) ปนเปื้อนด้วยสารเมลามีนที่นำเข้ามาจากประเทศจีน และห้องปฏิบัติการขององค์การอาหารและยาของสหรัฐ (USFDA) และคณะสัตวแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยคอร์แนล (Cornell School of Veterinary University) ตรวจพบสารพลาสติกที่รู้จักกันในชื่อว่า สารเมลามีน (FDA, 2007) และตรวจพบผลึกของสารเมลามีน (melamine crystal) ในไตของสัตว์ที่ตาย (FDA, 2007) โดยพบว่าสาเหตุการป่วยและตายของสุนัขและแมวเกิดเนื่องจากการสะสมผลึกเมลามีนจะไปขัดขวางการทำงานของไต สัตว์ป่วยมีอาการเบื่ออาหาร อ่อนแรง อาเจียน (Kun Chao Chen และคณะ 2009; Yuchang และคณะ 2010) และล้มตายในที่สุด ส่วนความเป็นพิษของเมลามีนพบว่าเมื่อรวมกับกรดไซยานูริก (cyanuric acid) ในรูปของเมลามีนไซยานูเรต (melamine cyanurate) มีความเป็นพิษมากกว่าเมลามีน (melamine) หรือ กรดไซยานูริก (cyanuric acid) เดี่ยวๆ (Babayan and Aleksandryan, 1985)

2.1 อนุพันธ์ของเมลามีน ประกอบด้วยสารอนุพันธ์เมลามีนประกอบด้วยกรดไซยานูริก (cyanuric acid), แอมมิไลด์ (ammelide) และ แอมมิลีน (ammeline) ดังนี้

2.1.1 กรดไซยานูริก (cyanuric acid) มีชื่อเรียก 1, 3, 5 - Triazine-2, 4, 6 (1*H*, 3*H*, 5*H*) -trione, 9CI *s* –Triazine - 2, 4, 6 - triol, 8CI isocyanuric acid trihydroxycyanidine มีสูตรโมเลกุลคือ $C_3H_3N_3O_3$ น้ำหนักโมเลกุล 129.075 กรัม/โมล มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ 32.55 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะเป็นผลึกแข็งสีขาวมีน้ำเป็นองค์ประกอบ ไม่มีกลิ่น จุดหลอมละลาย 360 องศาเซลเซียส ละลายได้ดีในเอทธานอลร้อน ละลายได้ปานกลางในน้ำ มีความหนาแน่น 1.77 (FDA, 2007)

2.1.2 แอมมิไลด์ (ammelide) มีชื่อเรียก ammelide, melanuric acid, cyanuric acid monoamide 6 – Amino - 1, 3, 5 – triazine - 2, 4 (1*H*,3*H*) -dione, 9CI โดยมีสูตรโมเลกุลคือ $C_3H_4N_4O$ น้ำหนักโมเลกุล128.09 กรัม/โมล มีไนโตรเจนเป็น องค์ประกอบ 43.74 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะเป็นผงผลึกมีน้ำเป็นองค์ประกอบ (FDA, 2007)

2.1.3 แอมมิลีน (ammeline) มีชื่อเรียกทางเคมีว่า 4, 6 – diamino -1, 3, 5 – triazin – 2 (1*H*) - one, 9CI, 6 – diamino – *s*triazin – 2 - ol, 8CI cyanuric acid diamide ammeline มีสูตรโมเลกุล $C_3H_5N_5O$ น้ำหนักโมเลกุล 127.105กรัม/โมล มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ 55.10 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะเป็นผลึกที่มีโซเดียมคาร์บอเนตเป็นองค์ประกอบ (Na_2CO_3 aq.) จะอยู่รูปเกลือหากอยู่ในน้ำจะไม่คงสภาพ (FDA, 2007)

2.2 การปนเปื้อนเมลามีนและอนุพันธ์ในอาหารสัตว์

มีการนำผงเมลามีนป่นมาผสมลงในอาหารสัตว์ เพื่อเพิ่มปริมาณของโปรตีน (FDA, 2007; Reimschuessel และคณะ 2010) และต้องการลดต้นทุนการผลิต (ดวงจันทร์ เฮงสวัสดิ์, 2552) การใส่เมลามีน 2.5 กิโลกรัม/ตันสามารถเพิ่มโปรตีนได้ 1.04 เปอร์เซ็นต์ผู้ผลิตใช้ผสมในวัตถุดิบอาหารสัตว์อย่างแพร่หลายในจีน ต่อมาคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐมีการตรวจพบเมลามีนใน วีทกลูเต็น (wheat gluten) 500 ตัวอย่างจาก 800 ตัวอย่าง และมีการตรวจสอบสารเมลามีนปนเปื้อนในข้าวโปรตีนเข้มข้น (rice protein concentration) 27 ตัวอย่างจาก 85 ในอาหารที่นำไปเลี้ยงสุกรในรัฐแคลิฟอร์เนีย, อิลินอย, แคนซัส, นอร์ทแคโรไลนา, นิวยอร์ก และยังตรวจพบสารเมลามีนในปัสสาวะสุกรด้วย (FDA, 2007) และในรัฐอินเดียนาได้ตรวจพบสารเมลามีนในวีทกลูเต็น (wheat gluten) ที่นำมาเลี้ยงไก่ในฟาร์ม (FDA , 2007) นอกจากนี้ FDA ยังตรวจพบการปนเปื้อนของสารเมลามีนในวีทกลูเต็น (wheat gluten) ที่ขนส่งทางเรือมายังประเทศโคลัมเบียและแคนาดา โดยนำมาผสมในอาหารปลา และอาหารยังได้ส่งมาสหรัฐอเมริกาเพื่อนำมาเลี้ยงปลาถึง 197 แห่ง และสถานที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อการค้าอีก 2 แห่ง (FDA, 2007)

2.3 การตรวจวิเคราะห์

วิธีการตรวจสอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน ซึ่งอาจแสดงถึงการปนเปื้อนของเมลามีนได้

2.3.1 วิธี LC-MS/MS (liquid chromatrography - mass spectrometry) ปัจจุบันเป็นวิธีที่น่าเชื่อถือมากที่สุด มีความไวและความจำเพาะสูง สามารถหาปริมาณเมลามีนในระดับต่ำ ได้ในตัวอย่างหลายชนิด วิธีนี้สามารถหาการตกค้างของสารเมลามีนและกรดไซยานูริกได้โดย วิธีนี้สามารถตรวจวัดระดับความเข้มข้นได้ระหว่าง 0.25-5.0 ไมโครกรัม/กรัม แต่ถ้ามีระดับความเข้มข้นที่มากกว่านี้จะต้องทำการเจือจางก่อน (Sherri และคณะ, 2008)

2.3.2 วิธี GC-MS (gas chromatography - mass spectrometry) เป็นวิธีที่ใช้ตรวจสอบปริมาณสารเมลามีนและอนุพันธุ์ มีรายงานว่าที่ระดับ 10 ไมโครกรัม/กรัม โดยตัวอย่างจะถูกสกัด ด้วยอะซีโตรไนไตรท์, น้ำและไดเอททิลลามีน องค์การอาหารและยาของสหรัฐ (USFDA) ใช้วิธีนี้ในการตรวจสอบเบื้องต้นและในการยืนยัน (screening and confirmation) (Jonathan และ

คณะ, 2008) เป็นวิธีที่ได้รับการรับรองจากคณะกรรมาธิการยุโรป (European commission) (Kim และคณะ, 2008)

2.3.3 วิธี spectrophotometry, liguid chromatography และ gas chromatograpy เป็นวิธีตรวจสอบปริมาณเมลามีนในอาหาร เช่นมันฝรั่ง มันหมู และเครื่องดื่มพวกกาแฟ น้ำส้ม นมและน้ำมะนาว ที่ระดับ 0.54, 0.72, 1.42 และ 2.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ ซึ่งปกติในเครื่องดื่มกำหนดให้มีสารดังกล่าวเจือปนได้ไม่เกิน 0.05 มิลลิกรัม เมลามีนที่เกินมานั้นเกิดจากการหลุดลอกของภาชนะที่มีส่วนประกอบเมลามีนเรซินและฟอร์มาลิน การหลุดลอกนั้นเกิดมาจากสภาวะที่ร้อนเกินไปและสภาวะที่เป็นกรด (Ishiwata และคณะ, 1987)

2.3.4 วิธี gas chromatograpy และ hight performance light chromatography ใช้ในการตรวจหาเมลามีนและสารอนุพันธ์ โดยสามารถตรวจหาน้ำนมปนเปื้อนเมลามีนเป็นวิธีแยกองค์ประกอบของสารใช้เวลาในการตรวจประมาณ 1-2 ชั่วโมง (Beistein และคณะ 1981; Sugita และคณะ, 1990) พบว่าวิธีนี้มีขั้นตอนยุ่งยาก ใช้เวลานานและสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายมาก

2.3.5 ประเทศไทยสามารถตรวจวิเคราะห์หาสารเมลามีนโดยวิธีอีไลซา (ELISA) หรือ enzyme - linked immunosorbent assay : สามารถใช้หาระดับปริมาณของสารเมลามีนได้ในผลิตภัณฑ์บางประเภท เช่น นม นมผง โปรตีนจากแป้งข้าวสาลี พบว่าวิธีนี้เมลามีนจะถูกสกัดจากตัวอย่างโดยใช้โวเทค (vortex) หรือ โซนิเคชั่น (sonication) จากนั้นใช้ปิเปต (pipett) ดูดสารสกัดไปใส่ในแอนติบอดี-โคท (antibody-coat) ไมโครวอล (microwall) ทราบปริมาณเมลามีนโดยการเทียบดูสีจากการเกิดปฏิกิริยาโดยการอ่านและวัดค่าออฟติคอล เดนซิตี้ (optical density) จากเครื่องไมโครเพลท รีดเดอร์ (microplate reader)

2.4 ความเป็นพิษต่อสัตว์

2.4.1 ความเป็นพิษของเมลามีน

พบว่าสารเมลามีนไม่ใช่สารที่เกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติ และไม่ใช่สารที่ใช้ผสมลงไปในอาหารเพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีนโดยตรง (Chang และคณะ, 2010) และพบว่าสารเมลามีนทำให้เกิดนิ่วและเหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็งที่ท่อปัสสาวะ (FDA, 2007) ความเป็นพิษในสุนัขจะขับถ่ายออกมามาก ปัสสาวะมีความถ่วงจำเพาะลดลง มีเมลามีนในปัสสาวะสูงขึ้น และพบเกล็ดเล็กสีขาวเกิดขึ้นที่ไตและปัสสาสะ โดยน้ำปัสสาวะจะมีสีขาวขุ่นมีโปรตีน และมีเลือดถูกขับออกมาด้วย (เยาวมาลย์ ค้าเจริญ, 2550; FDA, 2007) ไก่ที่กินอาหารปนเปื้อนเมลามีนทำให้อุ้งเท้าอักเสบเป็นแผลเน่า ม้ามโต และไข่ที่ผสมแล้วฟักเป็นตัวได้เพียง 50 เปอร์เซ็นต์ (ดวงจันทร์ เฮงสวัสดิ์, 2552) ไตจะมีขนาดใหญ่กว่าปกติ 3-4 เท่า มูลที่ถ่ายออกมาเหนียวติดอุ้งเท้าทำให้เกิดการระคายเคืองและเน่า (เยาวมาลย์ ค้าเจริญ, 2550 และนันทิยา ตัณฑชุณห์, 2552) จากการผ่าซากสุกรป่วยและตาย

เนื่องจากได้รับเมลามีน พบว่ามีการสะสมของผลึกเมลามีนที่ไต ไตมีสีเหลืองสดเป็นลักษณะของไตวาย บางตัวมีจุดเลือดออกที่ชั้นนอกและชั้นในของไต และมีการหนาตัวของผนังท่อปัสสาวะต่อมน้ำเหลืองที่ขาหนีบบวม ส่วนผลทางจุลพยาธิวิทยาพบเนื้อเยื่อตับอักเสบ และพบลักษณะคล้ายผลึกสีน้ำตาลเกาะอยู่ที่ท่อไต ซึ่งลักษณะดังกล่าวบ่งบอกว่าได้รับสารพิษที่มีฤทธิ์ต่อไต (ภานุวัฒน์ แย้มสกุล และกิตติกร บุญศรี, 2551) ถ้าสูดดมเข้าไปจะทำให้โพรงจมูกอักเสบ ผิวหนังเป็นจุดแดง (เยาวมาลย์ ค้าเจริญ, 2550) ส่วนกีบจะอักเสบ ขาเจ็บ (ดวงจันทร์ เฮงสวัสดิ์, 2552) ในกุ้งพบว่ากุ้งหัวโต (ดวงจันทร์ เฮงสวัสดิ์, 2552) ปลาดุกจะเกิดผิวสีดำ ตับและไตขยายใหญ่ และตาย (เยาวมาลย์ ค้าเจริญ, 2550; ดวงจันทร์ เฮงสวัสดิ์, 2552) ในปลานิลมีอาการตัวด่างและเกล็ดหลุด (ดวงจันทร์ เฮงสวัสดิ์, 2552) นอกจากนี้ Baynes และคณะ (2007) ทำการศึกษาถึงกลไกทางยา (phamacokinetic) ของเมลามีนหลังจากที่ให้เข้าทางเส้นเลือดดำที่ระดับความเข้มข้น 6.13 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยใช้หมูเป็นสัตว์ทดลอง หลังจากนั้น 24 ชั่วโมงทำการเก็บตัวอย่างพลาสมาแล้วนำมาทำการสกัดหาเมลามีน โดยในการวิเคราะห์ใช้เทคนิค HPLC-UV (hight performance light chromatography – ultraviolet) จากการศึกษาพบว่าครึ่งชีวิตของเมลามีนคือ 4.04 อัตราการขับออกคือ 0.11 (±0.01) ลิตรต่อชั่วโมงต่อกิโลกรัม และอัตราการแพร่กระจายคือ 0.61 (±0.04) ลิตรต่อกิโลกรัม ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้สามารถนำไปเปรียบเทียบได้กับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมเท่านั้น และในหมูพบว่าเมื่อสัตว์ทดลองได้รับเมลามีนเข้าทางปากเพียงครั้งเดียว เมลามีนจะเคลื่อนย้ายเข้าสู่ไตในเวลา 19.2 และ 20.9 ชั่วโมง เมื่อสัตว์ทดลองได้รับเมลามีนที่ความเข้มข้น 3.0 และ 5.124 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Jenifer และคณะ, 2008) นอกจากนี้พบว่ากลไกการออกฤทธิ์ทางยาของสารเมลามีนในลิงอินเดียจากที่ให้โดยทางการกินที่ระดับความเข้มข้นตามค่ากำหนดที่ได้รับต่อวัน (tolerable daily intake dose) คือ 1.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน โดยให้กินเพียงครั้งเดียวแล้วเก็บตัวอย่างเลือดและน้ำปัสสาวะนำมาวิเคราะห์เพื่อหาสารเมลามีนและกรดไซยานูริคด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทรกราฟี - แทนเดมแมสสเปคโตรเมทรี (liquid chromatrography - tandem mass spectrometry) จากการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นต่อเวลาจากชั่วโมงที่ 0-48 คือ 14, 145±2, 203 ไมโครกรัมต่อชั่วโมง ความเข้มข้นของเมลามีนในพลาสมาที่สูงที่สุด (C_{max}) คือ 1, 767±252 ไมโครกรัมต่อลิตร เวลาที่พบความเข้มข้นของสารเมลามีนที่สูงที่สุดคือ 2.67±1.16 ชั่วโมง ค่าครึ่งชีวิตของสารเมลามีนอยู่ในพลาสมา ($t_{1/2}$) คือ 4.41±0.43 ชั่วโมง จากการทดลองนี้สามารถสรุปได้ว่าหลังจากที่ลิงได้รับสารเมลามีนโดยทางการกินสารเมลามีนจะถูกขจัดอย่างรวดเร็วผ่านทางท่อปัสสาวะเป็นหลัก (Liu และคณะ, 2009)

2.4.2 ความเป็นพิษเฉียบพลัน

ในหนูไมซ์ (mice) พบว่าเมื่อให้กินสารเมลามีนปริมาณ 8,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน ส่งผลให้เกิดความเป็นพิษที่ไตอย่างรวดเร็ว ในหนูขาว (rat) จะเกิดความเป็นพิษที่ไต เมื่อให้สารปริมาณ 5,400 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน (IARC, 1999; FAO, 2006; FDA, 2008) ในหนูขาว (rat) พบว่าปริมาณสารที่กินระดับความเข้มข้น 3,161 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว ทำให้สัตว์ทดลองตายไป 50 เปอร์เซ็นต์ (Lethal Dose; LD_{50}) ส่วนการได้รับเมลามีนโดยการสูดดมหรือสัมผัสที่ผิวหนัง หรือที่ตาที่ทำให้เกิดอาการแพ้ในกระต่าย LD_{50} มากกว่า 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว (FDA, 2007)

ในปี 1980 นักวิจัยของสหภาพโซเวียต (USSR) ได้ศึกษาพิษของ เมลามีนไซยานูเรต (melamine cyanurate) ซึ่งอยู่ในรูปของเกลือโดยเกิดจาก เมลามีน (melamine) และ กรดไซยานูริก (cyanuric acid) ซึ่งใช้เป็นสารทนไฟ พบว่ามีความเป็นพิษมากกว่า เมลามีน (melamine) และ กรดไซยานูริก (cyanuric acid) เดี่ยวๆ จากการทดลองในหนูขาว (rat) และหนูไมซ์ (mice) โดยให้ผ่านทางกระเพาะอาหาร มีค่า LD_{50} เท่ากับ 4.1 กรัม/กิโลกรัมโดยการสูดดมและทำให้เกิดการแพ้ มีค่า LD_{50} เท่ากับ 3.5 กรัม/กิโลกรัมเมื่อเทียบกับ เมลามีน ค่า LD_{50} เท่ากับ 6 และ 4.3 กรัม/กิโลกรัมส่วนกรดไซยานูริก (cyanuric acid) เท่ากับ 7.7 และ 3.4 กรัม/กิโลกรัมตามลำดับ

จากการทดลองในปลา 75 ตัว สุกร 4 ตัวและแมว 1 ตัวที่ตายด้วยภาวะไตวาย โดยกลุ่มที่ 1 ให้กินอาหารที่เติมเฉพาะสารเมลามีนระดับ 400 มิลลิกรัม/กิโลกรัม กลุ่มที่ 2 ให้กินอาหารที่เติมเฉพาะกรดไซยานูริก (cyanuric acid) ระดับ 400 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และกลุ่มสุดท้ายให้กินอาหารที่มีการเติมสารเมลามีน (melamine) และ กรดไซยานูริก (cyanuric acid) ระดับละ 400 มิลลิกรัม/กิโลกรัมให้กินวันละ 1 ครั้ง นาน 3 วัน หลังจากนั้นเก็บเนื้อเยื่อไตมาตรวจ พบผลึกสีน้ำตาลทองคล้ายกับผลึกที่เจอในไตของแมวที่ตายด้วยภาวะไตวาย นอกจากนี้พบว่ายังคล้ายผลึกสีน้ำตาลทองที่พบในเนื้อเยื่อไตของ ปลา สุกร และแมว (Reimschuessel และคณะ 2008)

จากการทดลองเมลามีนในแมว 2 ตัว โดยแมวตัวแรกให้เมลามีนปริมาณ 0.2 เปอร์เซ็นต์และเพิ่มเป็น 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลานาน 10 วัน ส่วนแมวอีกตัวหนึ่งเริ่มให้สารเมลามีน (melamine) ร่วมกับกรดไซยานูริก (cyanuric acid) ในอาหารเริ่มจากให้ 0.2 และเพิ่มเป็น 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่าแมวที่ได้รับสารเมลามีน (melamine) ร่วมกับกรดไซยานูริก (cyanuric acid) พบอาการไตวายเฉียบพลันในเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจพบผลึกในท่อไต เนื้อไตบวมและมีเลือดออก ขณะแมวได้รับสารเมลามีน (melamine) หรือกรดไซยานูริก (cyanuric acid) อย่างใดอย่างหนึ่งไม่พบความผิดปกติ (Puschner และคณะ, 2007)

2.4.3 ความเป็นพิษเรื้อรัง

มีรายงานในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมพบว่าสารเมลามีน (melamine) เดี่ยวๆ มีความเป็นพิษต่ำ โดยมีค่าครึ่งชีวิตในพลาสมาอยู่ที่ 2.7 ชั่วโมงเท่านั้น (EFSA, 2007) ในหนูขาว (Rat) โดยให้กินพบว่าที่ปริมาณสารที่ทำให้สัตว์ทดลองตายไป 50 เปอร์เซ็นต์ (Lethal Dose; LD_{50}) คือ 3,161 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว และเมื่อไม่นานมานี้พบว่าปริมาณสูงสุดที่ไม่ทำให้เกิดผลข้างเคียง (no observed adverse effect level; NOAEL) ในหนูขาว (rat) โดยการให้กิน 63 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน เป็นเวลา 13 สัปดาห์, ถ้าให้กิน 240 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน เป็นเวลา 28 วัน, ถ้าให้กิน 417 มก./กก.น้ำหนักตัว/วัน เป็นเวลา 14 วัน และในหนูไมซ์ (mice) ถ้าให้กิน1,600 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน เป็นเวลา 13 สัปดาห์ (FDA, 2008)

จากการทดลองในสุนัขโดยการที่ให้กินอาหารที่ผสมสารเมลามีน (melamine) ขนาด 1,200 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วันเป็นเวลา 1 ปี พบผลึกคริสตัลในปัสสาวะแต่ไม่พบความผิดปกติใดๆ และมีรายงานการศึกษาในปี 1953 โดยการให้สุนัขกิน 3 เปอร์เซ็นต์เมลามีน (melamine) เป็นเวลา 1 ปี พบว่าปัสสาวะมีความถ่วงจำเพาะลดลง ปัสสาวะมากขึ้นและจะพบผลึกของเมลามีนในปัสสาวะ มีโปรตีนและมีเลือดปนออกมาด้วย (FDA, 2008)

นอกจากนี้พบว่า ในหนูขาวเพศผู้ ถ้าให้กิน 263 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วันโดยให้ติดต่อกันเป็นเวลา 2 ปี พบว่าทำให้เกิดนิ่วในท่อปัสสาวะ และเกิดมะเร็งที่ท่อปัสสาวะได้ (FDA, 2008)

2.4.4 กลไกการเกิดพิษ

กลไกการเกิดพิษของสารเมลามีนในสัตว์นั้นยังไม่สามารถระบุได้อย่างชัดเจน และยังไม่มีรายงานใดที่สมบูรณ์แต่มีนักวิจัยหลายท่านได้ตั้งสมมุติฐานไว้ดังนี้

2.4.4.1 สมมุติฐานที่สารอนุพันธ์ของเมลามีนทั้งสามตัวได้แก่ กรดไซยานูริก (cyanuric acid), แอมมิลีน (ammiline) และแอมมิไลด์ (ammilide) อาจจะมีการรวมกันเป็นสารเมตตาโบไลท์ (metabolite) ของเมลามีน (melamine) ในตัวสัตว์ หรือ อาจเปลี่ยนเป็นบายโปรดัก (by product) ของขบวนการเมตาโบลิซึม (metabolism) เมลามีน (mlamine) ของแบคทีเรีย (เนื่องจากกรดไซยานูริกเป็นอินเตอร์มีเดียทบายโปรดักของกระบวนการเมตตาโบลิซึมเมลามีนของแบคทีเรียอยู่แล้ว) และยังมีการตรวจพบโปรตีนของแบคทีเรียปนเปื้อนกับผลึกเมลามีนด้วย (FDA , 2007)

2.4.4.2 การสะสมของผลึกเมลามีน (melamine crystal) คือรูปของเกลือโดยเกิดจากเมลามีน (melamine) และ กรดไซยานูริก (cyanuric acid) ที่พบในไตของสัตว์เป็นสารที่ไม่ละลายน้ำ (extremely insoluble) เมื่อสะสมมากจะยับยั้งการทำงานของไต (blocking kidney

function) ส่งผลให้ไตสูญเสียหน้าที่ในการทำงาน แต่อย่างไรก็ตามผู้เชี่ยวชาญได้ออกตั้งข้อสังเกตว่าผลึกเมลามีนไซยานูเรต (melamine crystal) ที่พบในไตของสัตว์น่าจะส่งผลต่อตัวสัตว์โดยตรงมากกว่าไปยับยั้งการทำงานของไต เนื่องจากตรวจ ไม่พบความผิดปกติของไต (FDA , 2007)

2.4.4.3 ส่วนสมมุติฐานความเป็นพิษของเมลามีนในสัตว์คาดว่าเกิดมาจากเศษที่เหลือจากการผลิต (leftover) เมลามีนมีการปนเปื้อนกรดไซยานูริก (cyanuric acid) และสารปนเปื้อนอื่น ๆ ดังนั้นความเป็นพิษ น่าจะเกิดจากสารเมลามีนทำปฏิกิริยาร่วมกับสารปนเปื้อนอื่นหลังจากนำผลึกที่พบในตัวสัตว์วิเคราะห์หาองค์ประกอบ พบว่ามีส่วนประกอบคล้ายกับเศษเหลือจากกระบวนการผลิต (leftover) เมลามีนปนเปื้อนอยู่ด้วย (FDA , 2007)

2.4.4.4 ความเป็นพิษเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างเมลามีนและกรดไซยานูริกหลังจากที่สัตว์ได้รับเข้าไปในปริมาณที่สูง อาจเป็นสาเหตุของการเกิดภาวะไตวาย เนื่องจากนักวิจัยพบสารที่มีลักษณะคล้ายผลึก (spoke–like crystal) ปนเปื้อนในวัตถุดิบวีทกลูเตนท์ (wheat gluten) และข้าวโปรตีนเข้มข้น (rice protein concentrate) ในเนื้อเยื่อและปัสสาวะของสัตว์ที่ได้รับอาหารที่มีการปนเปื้อน เมื่อตรวจวิเคราะห์ผลึกพบว่ามีสารเมลามีนอยู่ 30 เปอร์เซ็นต์ ที่เหลือเป็น กรดไซยานูริก, แอมมิลีนและแอมมิไลด์ 70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลึกดังกล่าวใช้เป็นตัวบ่งชี้ว่ามีการปนเปื้อนด้วยเมลามีน (FDA , 2007)

นอกจากนี้ได้มีการรายงานถึงนักวิจัยแห่งมหาวิทยาลัย Guelph ได้ทำการทดสอบการทำปฏิกิริยาระหว่างสารเมลามีน (melamine) และ กรดไซยานูริก (cyanuric acid) ในสภาพความเป็นกรดด่าง (pH) เดียวกันกับในไตของสัตว์ พบว่ามีการสร้างผลึกลักษณะเดียวกันกับที่ตรวจพบปนเปื้อนในตัวสัตว์ โดยสรุปสมมุติฐานความเป็นพิษน่าจะเกิดมาจากสารเมลามีน (melamine) และ กรดไซยานูริก (cyanuric acid) และอาจมีสารอื่นร่วมด้วยอาจทำให้เกิดผลึกขึ้น ถ้าหากได้รับในปริมาณที่สูงจะสามารถทำลายไตและทำให้เกิดไตวายได้ (FDA , 2007)

2.5 ผลกระทบต่อผู้บริโภค

เนื่องจากยังไม่มีรายงานผู้ป่วยจากการกินอาหารซึ่งปนเปื้อนสารเมลามีน (EFSA, 2007; FDA, 2007) และไม่มีหลักฐานที่แน่ชัดว่าเมลามีนมีอันตรายต่อผู้บริโภคเนื้อสุกร เนื้อไก่ เนื้อปลา ไข่ และผลิตภัณฑ์ต่างๆ จากสัตว์ ที่เลี้ยงด้วยอาหารปนเปื้อนเมลามีน มีแต่ข้อมูลจากการศึกษาความเป็นพิษของเมลามีนและอนุพันธ์ในสัตว์ ดังนั้นหน่วยงานความปลอดภัยด้านอาหารแห่งสหภาพยุโรป (european food authority; EFSA) กำหนดค่าสูงสุดในการบริโภคโดยไม่ทำให้เกิดอันตรายต่อวันของคนและสัตว์ (tolerable daily intake; TDI) ไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ส่วนทางด้านองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (USFDA) ได้กำหนดค่า TDI ของสารเมลามีน 0.63 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน และรวมไปถึงนมผงสำหรับทารกอีกด้วย แต่

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 18 มี.ค. 2555
เลขทะเบียน 250406
เลขเรียกหนังสือ

ต่อมาได้ลดลงเป็น 0.063 มิลลิกรัมต่อวัน และองค์การอนามัยแคนาดา (health canada) กำหนดค่า TDI ของสารเมลามีน 0.35 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ทางด้านองค์การอนามัยโลก (WHO) กำหนดค่า TDI ของสารเมลามีน 0.35 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ในส่วนประเทศไทยปริมาณสารเมลามีนในอาหารตามกฎหมายสำหรับนมผงทุกชนิดไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม และไม่เกิน 2.5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมสำหรับอาหารที่มีนมเป็นองค์ประกอบ ผลการตรวจวิเคราะห์หาสารเมลามีนขององค์การอาหารและยาของไทย ในช่วงเดือนกันยายน 2551 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2552 พบว่ามีผลิตภัณฑ์ที่ไม่ผ่านตามเกณฑ์กฎหมายกำหนด 24 รายการ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่นำเข้ามาจากประเทศจีน มาเลเซียและสิงคโปร์ (นันทิยา ตัณฑชุณห์, 2552)

2.6 ผลกระทบต่ออุตสาหกรรมปศุสัตว์ไทย

ประเทศไทยเป็น 1 ใน 5 ประเทศที่จีนขายเมลามีนให้ แต่ประเทศไทยได้รับผลกระทบอย่างมากเพราะเราเป็นผู้ส่งออกทั้งไก่เนื้อ กุ้ง และหมู โดยเฉพาะกิจการฟาร์มหมู เพราะที่ผ่านมารำปลาป่น มีราคาแพง แต่คุณภาพค่อนข้างต่ำ ประกอบกับยังไม่ทราบว่ามีการปนเปื้อนเมลามีนในวัตถุดิบอาหารดังกล่าว ดังนั้นจึงมีการทดลองใช้ กากข้าวโพดตากแห้ง (DDGS) และโพลีนคลอไรด์จากประเทศจีน ทั่วไปโพลีนคลอไรด์มี 60 เปอร์เซ็นต์ แต่จากประเทศจีนมีเพียง 20 เปอร์เซ็นต์ และมีเมลามีนปนเปื้อนมาด้วย ซึ่งเป็นสิ่งที่น่าเป็นห่วงโดยเฉพาะในสูตรอาหารของพ่อแม่พันธุ์หมูเลี้ยงซึ่งต้องใช้ปลาป่นเป็นส่วนผสมค่อนข้างมาก (เยาวมาลย์ ค้าเจริญ, 2550)

3. การศึกษาค่าโลหิตวิทยา

ค่าเลือดเป็นตัวแปรสำคัญที่ใช้ในการประเมินสุขภาพและมีประโยชน์ในการตรวจวินิจฉัย เฝ้าติดตามการรักษา เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงของร่างกายจะพบว่าค่าเลือดจะมีการเพิ่มขึ้นหรือลดลง ซึ่งสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงต่างๆได้ ดังนั้นค่าเลือดจึงสามารถนำมาใช้ในการประเมินสุขภาพปลา (Biaxhall and Daisley, 1973) และความผิดปกติที่เกิดขึ้น ปัจจัยที่มีผลทำให้ค่าเลือดเปลี่ยนแปลง ได้แก่ ชนิด อายุ (Harikrishnan และคณะ 2003) เพศ ความสมบูรณ์ (Ezzat และคณะ 1974) อุณหภูมิ ความเค็ม (Rao, 1969) การจับบังคับ (Ellsaesser and Clem, 1986) การวางยา วิธีการตรวจ ผู้ตรวจ (Hardig and Hoglund, 1983) วิธีการเก็บรักษาตัวอย่าง (Korcock และคณะ 1988) การมีพยาธิภายนอก (Kaneko, 1983) การได้รับสารพิษ (Luskova และคณะ 2002) และ ปลามีอาการป่วย (Waagbo และคณะ 1988) โดยการตรวจวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา ประกอบด้วยการตรวจวัดระดับฮีโมโกลบิน (hemoglobin) ค่าปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น หรือ ฮีมาโตรคริต (pack cell volumn; PCV) การนับเซลล์เม็ดเลือดแดง (red blood cell count) การหาค่าดัชนีเม็ดเลือดแดง

(red blood cell indices) การนับเรติคูโลซัยท์ (reticulocyte) (สาคร พรประเสริฐ, 2551) โดยในสัตว์ป่วยนิยมตรวจ ดังนี้

3.1 การวัดค่าปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นหรือฮีมาโตรคริต (pack cell volumn; PCV or hematocrit) หมายถึง ปริมาณของเม็ดเลือดแดงเป็นเปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตรของเลือด การวัดปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่นมีประโยชน์มากกว่าการนับจำนวนเม็ดเลือดแดง เพราะทำได้รวดเร็ว ไม่ต้องใช้เทคนิคพิเศษอะไรและค่าที่ได้แม่นยำกว่าการนับเม็ดเลือดแดง (ธรรมศักดิ์ ประสานพานิช , 2516) ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (hematocrit) สามารถบ่งบอกถึงการเปลี่ยนแปลงรวมถึงภาวะความผิดปกติของสัตว์ โดยอาศัยลักษณะต่างๆในการพิจารณา คือ ลักษณะสีของพลาสมา อาจบอกถึงภาวะดีซ่านอันเกิดมาจากความเสียหายของตับหรือเกิดการอุดตันของท่อน้ำดีและดีซ่านอาจเกิดมาจากการแตกของเม็ดเลือดแดง ส่วนจำนวนเม็ดเลือดแดงอัดแน่น บอกถึงภาวะขาดน้ำ การสูญเสียเลือด

3.2 การตรวจเม็ดเลือดขาว (white blood Cell : WBC หรือ leukocyte)

เม็ดเลือดขาวมีหน้าที่สำคัญคือ ต่อต้านการติดเชื้อ กำจัดสิ่งแปลกปลอมออกจากร่างกาย ป้องกันร่างกายจากการบุกรุกของสิ่งก่อโรค และช่วยกำจัดสารพิษ เม็ดเลือดขาวแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

1. แกรนูลา ลิวโคไซต์ (granular leukocyte) เป็นเซลล์ที่มีแกรนูล (granule) ทั้งไลโซโซม (lysosome) และ ซีครีทอรี เวสซิเคิล (secretory vesicle) มีนิวเคลียส (nucleus) เป็นกลีบ (lobe) เรียกว่า โพลีมอร์โฟนิวเคลียร์ (polymorphonuclear) และพบว่ามีไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ค่อนข้างมากเมื่อเทียบกับนิวเคลียส (nucleus) เม็ดเลือดขาวเหล่านี้สร้างมาจากไขกระดูก แบ่งตามการติดสีของแกรนูล (granule) ได้เป็น 3 ชนิด คือ นิวโทรฟิล (neutrophil), เบโซฟิล (basophil), อีโอสิโนฟิล (eosinophil)

2. อแกรนูลา ลิวโคไซต์ (agranular leukocyte) เป็นเซลล์ที่มีไลโซโซม (lysosome) แต่ไม่มีแกรนูล (granule) ที่เป็นซีครีทอรี เวสซิเคิล (secretory vesicle) นิวเคลียส (nucleus) พบว่ามีลักษณะกลมหรือเกือบกลม ไม่แบ่งเป็นกลีบเหมือนพวกแรกไซโตพลาสซึม (cytoplasm)ใส ได้มาจากการสร้างของลิมฟอยด์ ทิชชู (lymphoid tissue) เช่น ม้าม (spleen) และต่อมน้ำเหลือง (lymph node) เม็ดเลือดขาวในกลุ่มนี้ได้แก่ ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) และ โมโนไซต์ (monocyte) ตามปกติแล้วโมโนไซต์ (monocyte) พบว่าจะมีขนาดใหญ่กว่าและทำหน้าที่กำจัดเชื้อโรคต่างๆ ได้ดีกว่าลิมโฟไซต์ (lymphocyte)

เม็ดเลือดขาวสามารถใช้ในการตรวจวินิจฉัย หรือพยากรณ์ความรุนแรงหรือระยะเวลาในการเกิดของโรคนั้นๆได้ การตรวจเม็ดนับเลือดขาวทำได้โดย

- การนับจำนวนเม็ดเลือดขาว (white blood cell count)

มีหลักการ คือ ทำการเจือจางเลือดด้วยน้ำยานับเม็ดเลือดขาว ซึ่งจะไปสลายเม็ดเลือดแดงที่ไม่มีนิวเคลียส แต่คงสภาพเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงที่มีนิวเคลียสไว้ ในสัดส่วนที่เหมาะสม จำนวนเม็ดเลือดขาวที่นับได้บนแผ่นแก้วนับเม็ดเลือด ซึ่งทราบปริมาณแน่นอน สามารถคำนวณกลับไปเป็นจำนวนเม็ดเลือดขาวในเลือดได้ ในปัจจุบันนิยมใช้การตรวจแบบวิธีตรวจนับด้วยมือ (manual method) เป็นวิธีที่ง่ายและใช้งบประมาณไม่มาก หลังจากการนับ และนำมาประเมินแล้ว จำนวนเม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้นอาจเกิดจากติดเชื้อในกระแสเลือด โรคเบาหวาน เนื้องอก มะเร็งเม็ดเลือดขาว ส่วนภาวะเม็ดเลือดขาวลดลงอาจเกิดมาจากติดเชื้อไวรัสหรือแบคทีเรียชนิดรุนแรง โรคเลือด ภาวะช็อก

4. ระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์น้ำ

ระบบภูมิคุ้มกัน (immune system) พบว่าเป็นระบบที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับภูมิต้านทานของร่างกายสัตว์ ประกอบไปด้วย เซลล์หลายชนิดทำหน้าที่ในการป้องกันกำจัดสิ่งแปลกปลอม กำจัดเซลล์ที่หมดอายุเซลล์ที่ทำหน้าที่มีอยู่หลายกลุ่มได้แก่ ลิมโฟไซต์ (lymphocytes) และฟาโกไซต์ (phagocytes) ในภาวะปกติเซลล์เหล่านี้ส่วนใหญ่จะอยู่ในเนื้อเยื่อน้ำเหลือง (lymphoid tissue) เลือด (blood) น้ำเหลือง (lymph) และไขกระดูก (bone marrow) ยกเว้นพลาสมาเซลล์ (plasma cell) ซึ่งไม่พบในน้ำเหลือง (วิบูลย์ศรี พิมมลพันธ์, 2537)

ระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์มีกระดูกสันหลังรวมทั้งปลาแบ่งออกได้เป็น 2 แบบ คือภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง (non-specific immune) ซึ่งเป็นภูมิคุ้มกันที่มีอยู่แล้วตามธรรมชาติและเป็นภูมิคุ้มกันด่านแรกที่จะกำจัดเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอมทุกชนิดที่เข้ามาในร่างกายโดยที่ไม่จำเพาะเจาะจงต่อเชื้อ ซึ่งได้แก่ ไลโซไซม์ (lyzozyme) คอมพลีเมนต์ (complement) ฟาโกไซติกเอนไซม์ (phagocytic enzyme) และโปรตีน (protein) อื่นๆ ส่วนภูมิคุ้มกันอีกแบบเป็นภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (specific immune) เป็นภูมิคุ้มกันที่มีความจำเพาะต่อชนิดเชื้อโรคและสามารถจดจำเชื้อโรคชนิดนั้นๆ หากเกิดซ้ำขึ้นได้แก่ แอนติบอดี (antibody) ในสัตว์มีกระดูกสันหลังชั้นสูงมีการพัฒนาภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะได้ดีกว่าปลามาก ดังนั้นภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะทำงานได้รวดเร็วและมีผลต่อสิ่งแปลกปลอมทุกชนิดจึงมีบทบาทสำคัญในการป้องกันตัวเองของปลา (Tort และคณะ 2004; Watts และคณะ, 2001) ระบบภูมิคุ้มกันของปลามีความไวต่อสิ่งแวดล้อมอย่างมาก (Maule และคณะ, 1989) ซึ่งการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันถูกควบคุม โดยการทำงานของระบบประสาทและฮอร์โมนเช่นเดียวกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ความเครียดจากสิ่งแวดล้อมก่อให้เกิดภาวะการณ์กดภูมิคุ้มกัน (Narnaware and Baker, 1996; Sunyer และคณะ 1995; Tort และคณะ, 1996) ระบบ

ภูมิคุ้มกันที่ไม่จำเพาะมีความสำคัญมากในสัตว์ชั้นต่ำรวมทั้งปลา โดยทำหน้าที่ยับยั้งหรือขัดขวางเชื้อโรคจนกว่าร่างกายสร้างระบบภูมิคุ้มโรคแบบจำเพาะขึ้นมา ซึ่งการเปลี่ยนแปลงการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันนิยมใช้เป็นดัชนีของภาวะเครียดและการศึกษาความเป็นพิษจากสารเคมีและยาในปลา (Anderson, 1990) ระบบภูมิคุ้มกันในปลาที่มีกระดูกขากรรไกรมีบางส่วนที่คล้ายคลึงกับในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น ขบวนการฟาโกไซโตซีส เมื่อเกิดกระบวนการอักเสบจะมี แกรนูโลไซต์เข้าร่วมก่อนตามมาด้วยการเพิ่มจำนวนของแมคโครฟาจ และลิมโฟไซต์ ส่วนใหญ่สุขภาพปลาจะขึ้นอยู่กับภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะซึ่งภูมิคุ้มกันชนิดนี้ไม่จำเป็นต้องได้รับแอนติเจนหรือเชื้อโรคก่อนที่จะเกิดการตอบสนองการทำงานของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมออกจากร่างกายของสิ่งมีชีวิตนั้นต้องอาศัยการทำงานของทั้งระบบภูมิคุ้มกันทางด้านเซลล์ (CMIR) และภูมิคุ้มกันทางด้านสารน้ำ (HIR) (Verihacetal, 1995) พบว่าภูมิคุ้มกันที่เกี่ยวข้องกับเซลล์ประกอบ ด้วยเซลล์ทำหน้าที่ในการจับสิ่งแปลกปลอม ได้แก่ แมคโครฟาจและนิวโทรฟิล (ชนกันต์ จิตมนัส, 2545) ปลาสามารถผลิตเซลล์ที่เรียกว่า นอนสเปซิฟิกไซโตทอกซิกเซลล์ (NCC) ซึ่งจะทำหน้าที่คล้ายกับเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีความสามารถในการทำลายเซลล์ที่ติดไวรัสหรือพวกเซลล์มะเร็ง (NK cell) (ชนกันต์ จิตมนัส, 2545) ส่วนภูมิคุ้มกันที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองจำเพาะต่อแอนติเจน ไม่ว่าเป็นภูมิคุ้มกันที่เป็นของเหลวในน้ำเลือดหรือภูมิคุ้มกันสารน้ำ (humural immunity) โดยการทำงานของ บีลิมโฟไซต์ (B - lymphocyte) และภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำมีหลายชนิด เช่น คอมพลีเมนต์ (complement) จะช่วยในการกลืนกินของเซลล์ ไลโซไซม์ช่วยในการทำลายผนังแบคทีเรีย ในส่วนไซโตคาย (cytokine) ช่วยส่งสัญญาณในการกระตุ้นและยับยั้งการทำงานของเซลล์ภูมิคุ้มกันชนิดต่างๆ (ชนกันต์ จิตมนัส, 2545)

ในสิ่งแวดล้อมบางอย่างปลาป่วยและตายเป็นจำนวนมากโดยระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายไม่สามารถช่วยได้สิ่งที่มีผล ได้แก่

- การเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมพบว่ามีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันปลา เช่น เมื่อปลาเรนโบเทราท์ (rainbow trout) ขาดออกซิเจนทำให้ภูมิคุ้มกันต่ำลง (Angeldis และคณะ, 1987)
- อุณหภูมิ ในที่อุณหภูมิต่ำ การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันจะถูกกด โดย Ahne (1986) ทำการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิและวิธีการติดเชื้อไวรัส สปริง ไวรีเมีย คาร์ป (SVCV) ต่อการตอบสนองระบบภูมิคุ้มกันแบบสารน้ำในปลาคาร์ป พบว่าหลังจากที่ทำให้ปลาติดเชื้อโดยการฉีดที่เชื้ออุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส ปลาไม่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันแบบสารน้ำได้
- เมื่อปลาเกิดความเครียด เกิดมาจากการเคลื่อนย้าย การเลี้ยงหนาแน่น การขนส่งปลา ร่างกายจะหลั่ง คอร์ติซอล (cortisol) ซึ่งจะไปยับยั้งการเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาวกดการ

ทำงานของ ลิมโฟไซต์ และขบวนการอักเสบจะส่งผลทำให้ภูมิคุ้มกันลดต่ำลงได้ (Ainswort และคณะ 1991)

- โลหะหนัก สารพิษและยา โลหะหนักทำให้เกิดโลหิตจาง จะกดภูมิคุ้มกัน ส่วนพวกคราบน้ำมันกดการเคลื่อนที่และการเก็บกินของแมคโครฟาจ
- เชื้อก่อโรค เช่น *Aeromonas Salmonisida* จะกดภูมิคุ้มกัน

5. วัคซีน

วัคซีน คือ เชื้อก่อโรค ส่วนของเชื้อก่อโรค หรือเชื้อก่อโรคที่เปลี่ยนแปลงคุณสมบัติไป เมื่อฉีดเข้าร่างกายของสัตว์ทดลองแล้วสามารถทำให้สัตว์ทดลองสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคนั้นๆ และรวมถึงชีวภัณฑ์ซึ่งเตรียมมาจากจุลชีพ หรือส่วนประกอบที่ได้รับการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติ เมื่อนำเข้าสู่ร่างกายของสัตว์ทดลองด้วยวิธีการฉีดหรือกินจะไม่ทำให้สัตว์ทดลองเกิดโรค แต่จะกระตุ้นให้สัตว์ทดลองมีภูมิคุ้มกันที่สามารถป้องกันอาการป่วยจากโรคนั้นๆ (รัชนี อัตถิ และอนุทิน หาญวีระพล, 2532)

5.1 ชนิดของวัคซีน วัคซีนที่ใช้ในสัตว์น้ำโดยทั่วไปมี 3 ชนิด (ชนกันต์ จิตมนัส, 2544) มีดังนี้

5.1.1 วัคซีนเชื้อตาย หรือ วัคซีนที่ฆ่าเชื้อแล้ว (inactivated vaccine) คือวัคซีนที่ผลิตจากเชื้อหรือจุลชีพที่ตายหรือทำให้หมดพิษด้วยวิธีการใช้ความร้อนหรือสารเคมีเช่น ฟอร์มาลิน อะซีโตน (ethyleneimine, EI) หรือรังสี วัคซีนเชื้อตายนี้สามารถแบ่งย่อยได้อีกหลายชนิด ได้แก่วัคซีนที่ผลิตได้จากเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Vibrio anguillarum.* และ *V. ordalii.* (ชนกันต์ จิตมนัส, 2545) ซึ่งเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (broth bacterin) และ แอดจูแวน วัคซีน (adjuvant vaccine) เป็นต้น (รัชนี อัตถิ และอนุทิน หาญวีระพล, 2532) การทำวัคซีนที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวนั้นจะผสมสารที่มีผลต่อการฆ่าเชื้อ (inactivating agent) ก่อนผลิตเป็นวัคซีนสำเร็จรูปโดยไม่มีส่วนผสมของสารอื่น ส่วนแอดจูแวนท์ (adjuvant vaccine) เป็นวัคซีนเชื้อตายที่สามารถผสมสารบางอย่างนอกจากสารที่มีผลในการฆ่าเชื้อลงไปด้วย เช่น อะลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ (aluminiumhydroxide) ยีสต์ (yeasts) เบต้ากลูแคน (ß-glucan) ออยล์ เบส แอดจูแวน (oil base adjuvant) (รัชนี อัตถิ และอนุทิน หาญวีระพล, 2532; Matsuyama และคณะ,1992 ; Pascho และคณะ, 1997) หรือสารสังเคราะห์ชนิดอื่นๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของวัคซีนให้มีความต้านทานโรคสูงขึ้น เนื่องจากแอดจูแวนมีผลทำให้การกระจายตัวของวัคซีนเป็นไปอย่างช้าๆ สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้เป็นเวลานาน และลดโอกาสในการสร้างความรุนแรงหลังการให้วัคซีน (รัชนี อัตถิ และอนุทิน หาญวีระพล, 2532)

5.1.2 วัคซีนเชื้อเป็น (live attenuated vaccine) หมายถึง วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อจุลชีพที่ยังมีชีวิต เมื่อนำเข้าสู่ร่างกายของสัตว์ทดลองเชื้อจะเพิ่มจำนวนมากขึ้นโดยไม่ทำให้เกิดโรคแต่จะกระตุ้นให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกัน เช่นในการแยกเชื้อไวรัสจากปลาป่วยมาเลี้ยงในเซลล์สัตว์ทดลองภายใต้สภาวะทางห้องปฏิบัติการเป็นเวลานานจนทำให้เชื้อลดความรุนแรงลง จากนั้นนำไปฉีดให้สัตว์ทดลองเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เช่น วัคซีนป้องกันโรคอินเฟกเชียส แพนครีเอไตตีส นิโครซีส (infecious pancreatitis necrosis) ในปลาแซลมอนหรือวัคซีนป้องกันโรคไวรัสในปลาดุกอเมริกัน (ชนกันต์ จิตมนัส, 2545) วัคซีนชนิดนี้สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกัน โดยเซลล์เม็ดเลือดขาวทำหน้าที่เกี่ยวกับการกำจัดเชื้อไวรัสและแบคทีเรีย (รัชนี อัตถิ และอนุทิน หาญวีระพล, 2532) การให้วัคซีนชนิดนี้ทำได้ไม่ยากและไม่จำเป็นต้องใช้ในปริมาณมากเนื่องจากสามารถเพิ่มจำนวนได้ในสัตว์น้ำ อย่างไรก็ตามอาจมีข้อจำกัดการใช้วัคซีนในพื้นที่ที่ไม่มีการระบาดของเชื้อวัคซีนอาจจะเปลี่ยนสภาพเป็นเชื้อที่รุนแรงได้

5.1.3 วัคซีนที่ผลิตโดยเทคโนโลยีชีวภาพ หมายถึงวัคซีนที่ได้จากการดัดแปลงสายพันธุ์ของเชื้อหรือจุลชีพก่อนการนำมาเข้ากระบวนการผลิตวัคซีนสำเร็จรูปซึ่งอาจมีหรือไม่มีส่วนประกอบของสารอื่นร่วมด้วย (ชนกันต์ จิตมนัส, 2544)

5.2 วิธีการให้วัคซีน การให้วัคซีนในสัตว์น้ำซึ่งเป็นที่นิยมกันมี 3 วิธีคือ

การใช้วัคซีนแต่ละวิธีให้ระดับในการป้องกันโรค ผลกระทบข้างเคียง ความเป็นไปได้ในการปฏิบัติ และต้นทุนในการผลิตแตกต่างกัน ปริมาณและความสามารถ แอนติบอดีในการจับตัวกับแอนติเจน ซึ่งเป็นดัชนีชี้วัดการตอบสนองต่อวัคซีน ส่วนความสามารถในการป้องกันโรคขึ้นกับประสิทธิภาพของวัคซีนที่ผลิต ความพร้อมของปลา และสิ่งแวดล้อมอื่นๆ ที่มีผลต่อระดับภูมิคุ้มกันในปลา (ชนกันต์ จิตมนัส, 2544)

5.2.1 การฉีด เป็นการนำวัคซีนที่อยู่ในรูปของสารละลาย โดยน้ำเกลือที่ระดับความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลาย ที่นิยมฉีดได้แก่ การฉีดเข้าทางช่องท้อง (intraperitonial injection, IP) และการฉีดเข้าทางกล้ามเนื้อ (intramuscular injection, IM) ซึ่งวิธีการฉีดเข้าทางช่องท้องเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมาก (Nakanishi และคณะ, 2002) ทราบถึงปริมาณการให้วัคซีนที่แน่นอน แต่วิธีการฉีดอาจทำให้ปลาเครียด เปลืองเวลาและไม่เหมาะสมกับปลาขนาดเล็ก (ชนกันต์ จิตมนัส, 2544)

5.2.2 การให้วัคซีนทางปาก (oral administration) โดยการผสมวัคซีนลงไปในอาหาร ซึ่งเป็นวิธีการที่ง่ายและใช้ได้สำหรับในปลาทุกขนาดและใช้ได้กับปลาจำนวนมาก แต่การให้วัคซีนโดยวิธีนี้จะให้ผลป้องกันโรคค่อนข้างต่ำ เนื่องจากแอนติเจนบางชนิดถูกทำลายในกระเพาะอาหารและลำไส้ส่วนต้นของปลา (ชนกันต์ จิตมนัส, 2545; Ellis, 1988) มีการแก้ไขปัญหาดังกล่าวโดย

พัฒนาเทคนิคการเคลือบแอนติเจนด้วยโพลี แลคติก โค ไกลโคไลด์ โพลีเมอร์ (poly lactic co - glycolide polymer) เป็นต้น (Ellis, 1995) การให้วัคซีนทางปากได้มีการปรับปรุงโดยการพัฒนารูปแบบของอาหารที่ใช้เพื่อป้องกัน การถูกย่อยสลายแอนติเจนโดยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของปลาพบว่าปลาสร้างแอนติบอดีได้ดีขึ้น

5.2.3 การให้วัคซีนโดยการแช่ (immersion) เป็นการทำให้สารละลายวัคซีนดูดซึมผ่านทางผิวหนังหรือทางเหงือกเป็นวิธีที่นิยมใช้มากในปลาขนาดเล็ก เพื่อให้ประสิทธิภาพในการดูดซึมแอนติเจนเข้าสู่ตัวปลาได้มากที่สุดโดยอาศัยหลักการออสโมติก (osmotic) หรือ ไฮเปอร์ออสโมติก อินฟิลเตรชั่น (hyperosmotic infiltration) โดยการนำปลาเข้าไปแช่ในน้ำเกลือก่อน จากนั้นจึงนำไปแช่ในวัคซีน ซึ่งขึ้นอยู่กับปริมาณของแอนติเจนที่มากพอ วิธีการและระยะเวลาในการสัมผัสกับแอนติเจน (Horn, 1997) ตำแหน่งที่วัคซีนเข้าสู่ร่างกายปลาโดยการแช่มีอยู่ 2 ทาง คือ ทางเหงือก และทางเส้นข้างลำตัว (Ellis, 1988) ซึ่งทั้งสองบริเวณจัดเป็นบริเวณสำหรับการแลกเปลี่ยนก๊าซ และรับความรู้สึกที่บริเวณเส้นข้างตัวมีเซลล์พิเศษเรียกว่า นิวโรแมส (neuromast) รวมตัวกันเป็นแถวซึ่งภายในประกอบด้วยขน ไคโนซิเลีย (kinocilia) และ ไมโครวิลไล (microvilli) หรือ สเตอริโอ ซิเลีย (stereo cilia) ที่มีคุณสมบัติที่ไวต่อการสัมผัส การผ่านเข้าออกของน้ำสามารถสัมผัส กับเส้นเลือดฝอยซึ่งกระจายอยู่เป็นจำนวนมากที่บริเวณเส้นข้างตัว

6. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Cremonezzi และคณะ (2004) ทำการศึกษาการใช้เมลามีนเกิดการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ ที่บริเวณเนื้อเยื่อบุผิวทางเดินปัสสาวะ (urothelium) ของหนูและศึกษาการลดสภาวะดังกล่าวด้วยการให้กินอาหารที่มีส่วนผสมของ 6 เปอร์เซ็นต์ ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acids; PUFA) 4 ชนิดคือ น้ำมันปลา (fish oil enriched in n-3 PUFA), น้ำมันข้าวโพด (corn oil enriched in n-6) น้ำมันโอลีน (olein n-9 oleic acid) และ 98 เปอร์เซ็นต์ กรดสเตียริก (stearic acid) ทำการทดลองในหนูวิสต้า (wistar) 275 ตัว ผลการศึกษาพบว่าการที่หนูได้รับอาหารที่ผสมกรดไขมันไม่อิ่มตัว (PUFA) สามารถพัฒนาเนื้อเยื่อบุผิวทางเดินปัสสาวะ (urothelium) ในหนูซึ่งเกิดการชักนำของสารเมลามีนที่ให้ และพบว่าการให้อาหารที่มีส่วนผสมของกรดไขมันที่มี n-3 PUFA สามารถป้องกันการเกิดผลดังที่ได้กล่าวมา

Baynes และคณะ, (2007) ทำการศึกษาถึงกลไกทางยา (phamacokinetic) ของเมลามีนหลังจากที่ให้เข้าทางเส้นเลือดดำที่ความเข้มข้น 6.13 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ใช้หนูเป็นสัตว์ทดลองแล้วเก็บตัวอย่างพลาสมา หลังจาก 24 ชั่วโมงเพื่อนำมาทำการสกัดหาเมลามีนโดยในการวิเคราะห์ใช้เทคนิค HPLC-UV จากการศึกษาพบว่าครึ่งชีวิตของเมลามีนคือ 4.04 อัตราการขับออกคือ 0.11 (±0.01) ลิตร

ต่อชั่วโมงต่อกิโลกรัม และอัตราการแพร่กระจายคือ 0.61 (±0.04) ลิตรต่อกิโลกรัมซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้สามารถนำไปเปรียบเทียบได้กับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมเท่านั้น

EFSA. (2007) ได้รายงานถึงสารเมลามีน และอนุพันธ์ เกี่ยวกับความเป็นพิษ รวมถึงสถานการณ์การปนปื้นในอาหารสัตว์ หลังจากที่ได้มีรายงานเกี่ยวกับการป่วยและตายของสุนัขและแมวในประเทศสหรัฐอเมริกา ส่งผลให้มีการเรียกคืนสินค้าที่นำเข้าจากประเทศจีนหลาย 100 ยี่ห้อ หลายหน่วยงาน เช่น WHO, US-FDA, EFSA ได้มีการประชุม กำหนดมาตรการเพื่อหาแนวทางป้องกัน รวมทั้งการเฝ้าระวังตรวจเข้มวัตถุดิบอาหารที่นำเข้าด้วย

Puschner และคณะ, (2007) ได้ทำการศึกษาพิษของเมลามีน พิษของกรดไซยานูริก และพิษของเมลามีนร่วมกับกรดไซยานูริก ทดลองในแมวเริ่มจากการให้เมลามีนในอาหารแมว 2 ตัวในปริมาณ 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แล้วผสมกรดไซยานูริก ในอาหารแก่แมวตัวหนึ่งในปริมาณ 0.2 เปอร์เซ็นต์แล้วเพิ่มเป็น 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 10 วัน ส่วนแมวอีกตัวหนึ่งเริ่มจากไม่ให้สารใดแล้วให้เมลามีนร่วมกับกรดไซยานูริก ในอาหารเริ่มจาก 0.2 แล้วเพิ่มเป็น 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองนี้ได้ผลว่าแมวที่ได้รับเมลามีนร่วมกับกรดไซยานูริก เกิดอาการไตวายเฉียบพลันใน 48 ชั่วโมง ตรวจพบผลึกในท่อไตฝอย เนื้อไตบวม และมีเลือดออก (severe renal interstitial edema & hemorrhage) ขณะที่แมวที่ได้รับเมลามีนหรือกรดไซยานูริกอย่างใดอย่างหนึ่งไม่พบความผิดปกติของไต

Wendy และคณะ, (2007) ได้ทำการทดสอบหาการตกค้างของสารเมลามีนในเนื้อเยื่อปลาดุกโดยใช้เครื่อง triple quadrupole LC-MS-MS เพื่อหาปริมาณและยืนยันปริมาณของสารเมลามีนที่ตกค้าง โดยสกัดสารเมลามีนออกจากเนื้อเยื่อปลาดุกใช้ 50:50 อะซิโตรไนไตรท์:น้ำ และ 1 เปอร์เซ็นต์กรดไฮโดรคลอริก ล้างทำความสะอาดโดยใช้ โอเอซิส แมกซ์ เอสพีอี และสารสกัดแยก นำมาวิเคราะห์หาตัวสารด้วยเครื่อง LC-MS-MS โดยใช้ เอชไอวาร์ไอซี โครมาโตรกราฟ และวิเคราะห์หาตัวสารด้วยปฏิกิริยาอิเลคโตรสเปรย์ ไอออไนเซชั่น (electrospray ionization) ในโหมดของประจุบวก (positive ion mode) ประจุตัวเหนี่ยวนำที่ใช้ของสารเมลามีนเท่ากับ 127 m/z และค่าที่ใช้หาปริมาณและทำการยืนยัน คือ 85 และ 68 m/z ตามลำดับ เนื้อเยื่อของปลาดุกที่ใช้ทำให้มีความเข้มข้นที่ระดับ 10, 25, 50, 100 และ 500 นาโนกรัมต่อกรัม (ppb) ค่าเฉลี่ยที่ได้ (17 ตัวอย่าง) เท่ากับ 76.3 เปอร์เซ็นต์ แล้วทำการวิเคราะห์หาตัวสารด้วยปฏิกิริยาอิเลคโตรสเปรย์ ไอออไนเซชั่น (eletrospray ionization) ในโหมดของทั้งประจุลบ และโหมดของประจุบวก

Chrisine และคณะ, (2008) ได้ทำการทดลองเพื่อพัฒนาวิธีการตรวจหากรดไซยานูริกในเนื้อเยื่อปลาดุก, ปลานิล, ปลาแซมอน, ปลาเทราท์ และกุ้ง โดยกรดไซยานูริกถูกสกัดจากเนื้อกุ้งและปลาโดยใช้กรดอะซิติกและกำจัดไขมันออกโดยใช้เฮกเซน ทำการแยกสารโดยคอลัมน์แยก

สกัดสารด้วยสารกราไฟต์คาร์บอนดำ (graphetic carbon black solid-phase extraction column) แล้วทำการแยกกรดไซยานูริก ที่ตกค้างโดยใช้คอลัมน์แยกสกัดสารด้วยกราไฟต์ (porous graphitic carbon LC column) หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์หาสารโดยใช้ปฏิกิริยา อิเลคโตรสเปรย์ ไอออนไนเซชั่น (eletrospray ionization) ในโหมดของประจุ จากการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยของค่าจำกัดในการตรวจหาของวิธีการ the avervage method limit (MDL) สำหรับในปลาดุก ปลานิล และปลาเทราท์ คือ 3.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และในส่วนของปลาแซลมอล คือ 7.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนของกุ้ง คือ 3.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

Jenifer และคณะ, (2008) ได้ศึกษาประมาณระยะเวลาที่สารเมลามีนจะเคลื่อนย้ายเข้าสู่เนื้อเยื่อ โดยศึกษาในด้านกายวิภาคใช้กลไกทางยา (pharmacokinetic model) เป็นพื้นฐาน และใช้หมูเป็นสัตว์ทดลอง ผลการศึกษาพบว่าเมื่อสัตว์ทดลองได้รับเมลามีนเข้าทางปากเพียงครั้งเดียว เมลามีนจะเคลื่อนย้ายเข้าสู่ไตในเวลา 19.2 และ 20.9 ชั่วโมง เมื่อสัตว์ทดลองได้รับเมลามีนที่ความเข้มข้น 3.0 และ 5.124 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

Jonathan และคณะ, (2008) ได้ทำการตรวจหาสารเมลามีนและอนุพันธุ์ของสารเมลามีน ได้แก่ แอมมิลีน แอมมิไลด์และกรดไซยานูริก โดยใช้เครื่อง GC-MS ค่าต่ำสุดที่มีการรายงานที่ระดับ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมากกว่าในหลายประเภทที่ทำการทดสอบโดยใช้เครื่อง GC-MS นำตัวอย่างมาทำการสกัดโดยใช้ อะซิโตรไนไตรท์, น้ำและไดเอททิลลามีน ทำการวิเคราะห์ข้อมูล ใช้โดยไตรเมททิลซิลเลอร์ (trimethylsily) ทำการวิเคราะห์ เมื่อตัวอย่างให้ผลเป็นบวกที่ระดับต่ำที่ได้มีการรายงาน แล้วนำข้อมูลเชิงปริมาณมาแสดงในตัวอย่างมาทดสอบ วิธีการทดสอบนี้ทำการประเมินในข้าวสาลี ข้าวโปรตีน โปรตีนจากถั่วเหลือง อาหารสัตว์เลี้ยงทั้งชนิดเปียกและชนิดแห้ง

Michael และคณะ, (2008) ได้ทำการตรวจสอบหาการตกค้างของสารเมลามีนและกรดไซยานูริกในอาหาร โดยใช้เครื่อง LC-MS/MS เวอร์ชั่น 1 วิธีนี้เป็นวิธีที่น่าเชื่อถือมาก ในขั้นตอนการทำทั้งสารเมลามีนและกรดไซยานูริกจะถูกสกัดจากเนื้อเยื่อโดยใช้ 50:50 อะซิโตรไนไตรท์: น้ำเป็นส่วนผสมในสารสกัด จากนั้นนำส่วนที่ได้จากการสกัดไปทำให้สะอาด โดยการสกัดอีกครั้งด้วยของเหลว และทำการสกัดต่อโดย โซลิดเฟส แอดแทรกชั่น (SPE) ในการสกัดทำให้สะอาดในครั้งสุดท้ายทั้งสารเมลามีนและกรดไซยานูริกและนำไปสกัดเป็นขั้นตอนในการสกัดเอาของเหลวที่เป็นสารส่วนเกินออก วิธีนี้ปริมาณของสารเมลามีนในเนื้อเยื่อและพวกที่เป็นของเหลวที่ใช้ในการทดสอบ คือ 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมส่วนพวกที่เป็นของแข็งใช้ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมส่วนกรดไซยานูริกใช้ 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในเนื้อเยื่อและพวกที่เป็นของเหลว ใช้ในการทดสอบ

คือ 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมส่วนผงแข็ง ใช้ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเทคนิคที่ใช้หาสารตกค้างเป็นผลทางห้องปฏิบัติการ เป็นที่ยอมรับและน่าเชื่อถือมากในปัจจุบัน

Rachel และคณะ, (2008) ได้ทำการตรวจความผิดปกติทางพยาธิวิทยาคลินิก พยาธิวิทยาและความเป็นพิษในแมว 70 ตัวที่ได้รับสารเมลามีนและกรดไซยานูริกปนเปื้อนในอาหาร อาการที่พบคือ แมว 43 ตัวไม่กินอาหาร อาเจียน ปัสสาวะมาก กินน้ำมาก และอ่อนแรง หลังจากกิน อาหารปนเปื้อนเมลามีนและกรดไซยานูริกเป็นเวลา 7 – 11 วัน หลังจากนั้นนำแมว 68 ตัวมาทำการตรวจวิเคราะห์ค่าทางเคมีในซีรั่ม พบภาวะที่มีของเสียในเลือด (azotemia) 38 ตัว และทำการเก็บเนื้อเยื่อไตในแมว 13 ตัวมาตรวจทางพยาธิวิทยาพบผลึกคริสตัลในปัสสาวะ ท่อไตเกิดการตายและบริเวณรอบๆ เส้นเลือดใต้แคปซูลเกิดการอักเสบ

Sherri และคณะ, (2008) ทำการทดสอบหาการตกค้างสารเมลามีนและกรดไซยานูริกในอาหารสำหรับทารก โดยใช้เครื่อง LC-MS/MS เป็นวิธีที่หาสารตกค้างของกรดไซยานูริกและสารเมลามีนได้ถูกพัฒนาโดย the Center For Veterinary Medicine (CVM) พบว่ามีการประยุกต์เพื่อหาสารตกค้างในสูตรอาหารของทารก วิธีนี้เริ่มต้นทำการสกัดโดยใช้ 2.5 เปอร์เซ็นต์ กรดฟอร์มิค แล้วทำการกรองแยกเป็นชั้นๆ แล้วนำมาปั่นและทำการเจือจางตามลำดับแล้วทำการวิเคราะห์ข้อมูลเหมือนกันโปรแกรมโครมาโตรกราฟิก (chromatographic) ใช้สวิสต์เทอร์ริโอโทนิค (zwitterionic) HILIC LC column ทำการแยกแล้ววิเคราะห์หาตัวสารด้วยปฏิกิริยาอิเลคโตรสเปรย์ไอออไนเซชั่น (electrospray ionization) ในโหมดของทั้งประจุลบคือกรดไซยานูริกส่วนในโหมดของประจุบวกคือสารเมลามีน และส่วนประกอบที่แสดงออกมาทำการตัดสินโดยดูส่วนของเส้นโค้งที่เกิดขึ้นจากตัวอย่างที่สกัดออกมาจากอาหารสำหรับทารกที่ทำให้เข้มข้นระหว่าง 0.25 ถึง 5 มิลลิกรัมต่อกรัม ช่องที่ได้จากกลุ่มตัวอย่าง (38 ตัวอย่าง) ที่ทำให้เข้มข้นแล้วอยู่ที่ 70-114 เปอร์เซ็นต์ (RSD 4.5-22.7 เปอร์เซ็นต์) และ 72-110 เปอร์เซ็นต์ (RSD 5.7-24.9 เปอร์เซ็นต์) สำหรับกรดไซยานูริกและสารเมลามีน ส่วนระดับของสารเมลามีนและกรดไซยานูริกที่ตรวจหาปริมาณและทำการยืนยัน คือ 0.25 มิลลิกรัมต่อกรัม

ณัฐพงศ์ อัครินาจิรโชติ และคณะ, (2552) รายงานการป่วยและตายของสุกรในฟาร์มขนาด 3,000 แม่ ในเขตจังหวัดราชบุรี ได้นำสุกรจำนวน 3 ตัวและตัวอย่างเลือดสุกรจำนวน 6 ตัวมาตรวจ ช่วงอายุ 6-9 สัปดาห์ ที่มีอัตราการป่วยถึง 100 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการตายมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ มาส่งตรวจ จากลักษณะภายนอกพบว่าสุกรขนหยาบ ผอม มีภาวะขาดน้ำ พบจุดเลือดออกใต้ผิวหนัง ข้อบวม ผลการชันสูตรพบปอดบวมน้ำ ลำไส้เล็ก กระเพาะอาหาร ต่อน้ำเหลืองที่ขั้วปอด และเยื่อแขวนลำไส้อักเสบ ม้ามมีเลือดคั่งและเนื้อตาย ไตบวมผิดรูป พบผลึกสีเหลืองสะสมทั้งด้านในและนอกของเนื้อไต ผลการเพาะเชื้อแบคทีเรียพบเชื้อ (*E.coli* และ

Streptocccu spp.) ผลการตรวจทางจุลพยาธิพบการขยายใหญ่ อักเสบและมีผลึกสีน้ำตาลสะสมที่ท่อไต ส่วนผลทางโลหิตวิทยาและเคมีคลินิกพบว่า ยูเรียไนโตรเจน ครีเอตินิน และ พลาสม่าโปรตีนสูงกว่าค่าอ้างอิง ผลการตรวจปัสสาวะ มีค่าความถ่วงจำเพาะต่ำ พบโปรตีนและกลูโคสในปัสสาวะ สุกรบางตัวมีค่าเม็ดเลือดขาวสูงกว่าปกติ ผลการตรวจวัตถุดิบใช้ในการอาหารพบว่าปนเปื้อนของสารเมลามีนมากกว่า 4,000 พีพีเอ็ม จากอาการทางคลินิก รอยโรคและผลทางห้องปฏิบัติการ สรุปได้ว่าป่วยจากภาวะไตวายซึ่งอาจเกิดจากการปนเปื้อนของสารเมลามีนในวัตถุดิบที่ใช้ผสมอาหาร

นันทิยา ตัณฑชุณห์ และคณะ, (2552) ได้ทำการศึกษาพบว่าเมลามีนเป็นสารอินทรีย์เคมีสังเคราะห์ สารชนิดนี้ใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ในชีวิตประจำวัน เช่น ภาชนะใส่อาหาร ที่ผ่านมามีรายงานเมลามีนปนเปื้อนในอาหารสัตว์และผลิตภัณฑ์นมทำให้สัตว์เลี้ยงและทารกป่วยและเสียชีวิตด้วยไตวาย เนื่องจากเมลามีนจับกับกรดไซยานูริกเกิดสารประกอบเชิงซ้อนไม่ละลายน้ำตกตะกอนในไต เกิดนิ่วในไตและไตวาย เมลามีนที่มีปริมาณไนโตรเจนสูงทำให้ผลตรวจวิเคราะห์เข้าใจผิดว่าผลิตภัณฑ์นั้นมีโปรตีนสูง เมื่อสูดดมหรือสัมผัสจะทำให้ระคายเคือง ส่วนโพรงจมูก ตา และผิวหนังเกิดการอักเสบ

ปริญทิพย์ วงศ์ไทย และคณะ, (2552) รายงานเกี่ยวกับการป่วยและตายของกบขุนในฟาร์มในช่วงเดือนสิงหาคม และกันยายน พบว่าฟาร์มกบขุนจำนวน 6 ฟาร์ม ทั้งบ่อปูน และบ่อดินเขตจังหวัดนครปฐม ชุมพร และจังหวัดใกล้เคียง มีปัญหากบขุนทยอยตายในช่วง 2 เดือน กบขุนอายุ 2–3 เดือน สามารถกินอาหารได้ตามปกติ แต่มีการขยายใหญ่และสะสม น้ำในช่องท้อง ขาหลังอ่อนแรง ขาแดง จากการผ่าซากพบการคั่งของน้ำลักษณะคล้ายน้ำล้างเนื้อสะสมในช่องทอง จุดเลือดออกและเนื้อตายกระจายทั่วตับและไต มีการอักเสบชนิดไฟบรินของเยื่อหุ้มหัวใจ ไต และตับ ทำการเพาะเชื้อแบคทีเรียจากอวัยวะที่พบโรคบน blood agar และ mac conkey agar พบมีการเจริญเติบโตของ *Streptocccus spp.* และ *Aeromonas ssp.* และทำการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาพบการเสื่อมและผลึกสีน้ำตาลในท่อไตคล้ายเมลามีน ฟาร์มใช้อาหารสำเร็จรูปของบริษัท สาเหตุของความผิดปกตินำจะเกิดจากภาวะไตวายและภาวะเครียด นำไปสู่การติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อน

Chang และคณะ, (2009) ได้รายงานการป่วยและตายของเด็ก ช่วงฤดูร้อนในปี 2008 หลังจากที่ได้รับอาหารมีส่วนผสมของแป้ง ซึ่งมีสารเมลามีนปนเปื้อนในอาหารและนม สาเหตุการป่วยคาดว่าอาจเกิดเมื่อเมลามีนถูกดูดซึมที่ระบบทางเดินอาหาร ตกตะกอนในไตรวมตัวเป็นผลึกเป็นสาเหตุให้ไตสูญเสียการทำงาน โดยจากเหตุการณ์ดังกล่าวทำให้องค์การอนามัยโลก ลงมติกำหนดค่าปริมาณที่ได้ต่อวัน (tolerable daily intake doe, TDI) ใหม่ กำหนดลดลงเท่ากับ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว

Chen และคณะ, (2009) ได้ศึกษาวิธีการตรวจวิเคราะห์หากรดไซยานูริกในอาหารสัตว์โดยใช้วิธีอัลตร้าโซนิค เอ็กแทรคชั่น (ultrasonic extraction) ร่วมกับเทคนิค HPLC โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ในการทดลองพบว่าเมททานอล (methanol) เป็นสารสกัดที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการสกัดไซยานูริก ที่ปนเปื้อนในอาหารสัตว์พบว่าพลังงานอัลตร้าโซนิก (ultrasonic) ใช้เวลาในการสกัดแยกลดลงน้อยกว่า 30 นาที ซึ่งใช้เวลาสั้นกว่าวิธีการแมกนิติก – สเตอร์เรอร์ เอ็กแทรคชั่น (magnetic – stirring extraction) ซึ่งใช้เวลานานถึง 240 นาที ภายใต้การใช้เทคนิค HPLC พบว่าตอบสนองเป็นเส้นตรงกับกรดไซยานูริก ที่ความเข้มข้นจาก 0.008 ถึง 4.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีขีดจำกัดที่ 0.002 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรวิธีนี้เป็นอีกวิธีหนึ่งที่แนะนำในการตรวจหากรดไซยานูริกในอาหารสัตว์

Ching และคณะ, (2009) ได้ทำการศึกษาการตรวจโรคไตซึ่งมีความสัมพันธ์กับการได้รับเมลามีนโดยศึกษาเกี่ยวกับกลไกการเกิดนิ่วในคนโดยศึกษาในเด็กที่มีอายุน้อยกว่า 3 ปี ตรวจพบการอุดตันของท่อปัสสาวะหลังจากที่ดื่มนมปนเปื้อนสารเมลามีนผลการศึกษาพบว่าสารเมลามีนส่งผลให้ระดับครีเอทินินและยูรีนสูงขึ้น

Hsich และคณะ, (2009) ทำการประเมินความเป็นพิษของสารเมลามีนโดยศึกษาในค่าต่ำกว่าค่าที่กำหนดที่ได้รับต่อวันที่ได้มีการกำหนดไว้ โดยเป็นการเฝ้าระวังภัยให้เด็กทั่วโลกทางด้านองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกากำหนดให้ค่าต่ำกว่าค่าที่กำหนดที่ได้รับต่อวัน ซึ่งมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน ได้กำหนดไว้ที่ 0.63 ต่อมาลดลงเป็น 0.063 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน ในขณะที่องค์การอนามัยโลกได้กำหนดไว้ที่ 0.5 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อน้ำหนักตัวต่อวันและจากการศึกษาครั้งได้ค่าต่ำกว่าค่าที่กำหนดที่ได้รับต่อวัน (TDI) คือ 0.0081 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อน้ำหนักตัวต่อวัน

Kun Chao Chen และคณะ, (2009) รายงานว่าในปี 2004 และปี 2007 มีการเกิดภาวะไตวายในสัตว์เลี้ยงจำนวน 16 ตัว หลังจากที่ได้รับสารเมลามีนปนเปื้อนในอาหาร ในปี 2004 พบภาวะในไตวายในสุนัข 2 ตัว และในปี 2007 พบในแมว 10 ตัว และสุนัข 4 ตัว หลังจากทำการตรวจสอบความผิดปกติทางพยาธิวิทยาและความเป็นพิษของสารเมลามีนในสัตว์เลี้ยงทั้ง 16 ตัว พบระดับยูเรียในเลือดสูง เบื่ออาหาร อาเจียน ปัสสาวะบ่อย อ่อนแรงและระดับฟอสเฟตในเลือดสูงขึ้น แต่ระดับซีรั่มเอนไซม์ตับอยู่ในระดับปกติ สัตว์เลี้ยงทั้ง 16 ตัว ตายเพราะภาวะยูเรียในเลือดสูง และพบผลึกคริสตัลในท่อไตส่วนท้าย

Nilubol และคณะ, (2009) ได้รายงานเกี่ยวกับกลุ่มอาการป่วยและความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับสุกรในประเทศไทยในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ – พฤษภาคม 2550 โดยสุกรจะน้ำหนักตัวลดลง สีตัวเหลืองซีด และอัตราการตายสูง หลังจากนั้นจึงได้นำสุกรที่มีอาการอังกล่าวอายุ 5 – 6 สัปดาห์ มา

ทำการวินิจฉัยต่อในห้องปฏิบัติการ จากผลการผ่าซากพบว่า ไตของสุกรที่มีลักษณะบวมพอง สีเหลืองซีดและพบการรวมตัวกันของผลึกคริสตัลที่ผิวหน้าตัด เมื่อนำเนื้อเยื่อมาวินิจฉัยด้วยเทคนิคทางพยาธิวิทยาพบว่า เนื้อเยื่อของไตได้รับความเสียหายและพบการตายของเซลล์ (necrosis) โดยสามารถสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนในส่วนต้น และท้ายของไต นอกจากนี้ยังพบว่ามีผลึกคริสตัลสีเหลืองกระจายอยู่ทั่วไปในท่อดังกล่าว ผลจากการตรวจค่าเคมีในเลือด พบว่าค่ายูเรียไนโตเจนและครีเอตินินเพิ่มสูงขึ้น บ่งบอกถึงการเสื่อมการทำงานของไต และผลจากการตรวจวิเคราะห์สารด้วยเทคนิค GC-Mass พบว่าผลึกที่พบคือสารเมลามีนและสารอนาล็อกอื่นๆ เช่น กรดไซยานูริค เป็นต้น การศึกษาครั้งนี้จึงสรุปได้ว่าสารเมลามีน และกรดไซยานูริคที่ปนเปื้อนมากับอาหารเป็นสาเหตุที่ทำให้สุกรเกิดภาวะไตวาย และป่วยดังกล่าว

Ronald และคณะ, (2009) ได้ทำการทดลองในหนู โดยผสมลงไปในอาหารหนูในระดับ 10 เปอร์เซ็นต์, 20 เปอร์เซ็นต์, 50 เปอร์เซ็นต์ และ 50 – 100 เปอร์เซ็นต์ ให้กินเป็นเวลา 3 เดือน แล้วทำการวิเคราะห์ข้อมูล พบว่าหนูที่กินอาหารปนเปื้อนระดับ 50 – 100 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ระดับยูเรียไนโตรเจน และครีเอทินินเพิ่มสูงขึ้น พบผลึกของเมลามีนและกรดไซยานูริกมีหลายขนาด ทำให้เซลล์มีการอักเสบ ท่อไตขยายขนาด เซลล์ระหว่างท่อไตเกิดการตาย เมื่อตรวจดูระบบภูมิคุ้มกันทางพยาธิวิทยามีการเพิ่มขึ้นของแอนติเจน (antigen cell) เป็นจำนวนมากในไต พบในกลุ่มการทดลองที่ระดับ 50 – 100 เปอร์เซ็นต์ สรุปได้ว่าปัจจัยที่ส่งผลให้เกิดความเป็นพิษที่ไต คือ สารเมลามีน กรดไซยานูริก และปัสสาวะที่มีความเป็นกรด

Reimschuessel และคณะ, (2010) ทำการประเมินผลึกเมลามีนไซยานูเรตในไตหลังจากที่ปลาดุกและปลาเทราท์กินสารเมลามีนและกรดไซยานูริก โดยให้กินเพียงครั้งเดียวและให้กินซ้ำหลายครั้ง ให้กินสารเมลามีนและกรดไซยานูริก ร่วมกันในปริมาณ 0.1 – 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ของน้ำหนักตัว กินเพียงครั้งเดียว หรือกินซ้ำในวันที่ 4, 14 และ 28 ในปลาดุกปริมาณสูงสุดที่สารเมลามีนไม่ก่อให้เกิดผลข้างเคียง ($NOAEL_S$) คือ กินเพียงครั้งเดียว ให้ซ้ำในวันที่ 4 และ 14 กินในปริมาณ 10, 2.5 และ 0.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักตัวตามลำดับ ส่วนในปลาเทราท์ปริมาณสูงสุดที่สารเมลามีนไม่ก่อให้เกิดผลข้างเคียง ($NOAEL_S$) คือให้กินในปริมาณ 2.5, 2.5 และ 0.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักตัว โดยให้กินเพียงครั้งเดียว กินซ้ำในวันที่ 4 และ14 นอกจากนี้พบว่าปลาดุกเมื่อให้กินซ้ำในวันที่ 28 ปริมาณ 0.1 มิลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักตัว ไม่พบผลึกคริสตัลในไต

Wang และคณะ, (2010) ทำการศึกษาการแทรกซึมผ่านของสารเมลามีนไปยังรกและส่งผลกระทบสู่ตัวอ่อนและแม่หนูที่กำลังท้อง การทดลองนี้ได้แบ่งแม่หนูทดลองออกมาเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 6 ตัว ทำการสุ่มให้กินสารเมลามีนวันละ 1 ครั้ง ในระดับ 0 เปอร์เซ็นต์ ในกลุ่มควบคุม, 40

เปอร์เซ็นต์ในกลุ่มระดับเมลามีนต่ำ และ 400 เปอร์เซ็นต์ ในกลุ่มระดับเมลามีนสูง หลังจากนั้นนำมาตรวจระดับเอนไซม์ตับพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติใน 3 กลุ่มการทดลอง แต่ระดับครีเอทีนิน, กรดยูริกในพลาสมา และระดับไนโตรเจนในเลือดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$)

Yuchang และคณะ, (2010) รายงานการประเมินระดับการปนเปื้อนของสารเมลามีนในสิ่งแวดล้อมและอาหาร รวมถึงความเสี่ยงที่มีการปนเปื้อนไปถึงอาหารของผู้บริโภคด้วย ทำการตรวจสอบในน้ำ ดินและธัญพืช เก็บตัวอย่างมาจาก 21 จังหวัดในประเทศจีน เก็บตัวอย่างดินและน้ำทิ้งมาจากสถานที่ใกล้ที่ตั้งโรงงานเมลามีน หลังจากตรวจสอบพบว่าระดับความเข้มข้นของสารเมลามีนใน น้ำทิ้งและดินสูงที่สุด คือ 226.716 และ 41.136 มิลลิกรัม/กิโลกรัมตามลำดับ และ 6 ใน 94 แหล่งน้ำที่เก็บตัวอย่างมาตรวจพบระดับเมลามีนเข้มข้น 21 – 198 ไมโครกรัม/ลิตร และเลือก 1 ฟาร์มจาก 124 ฟาร์ม ที่มีระยะทางไกลจากโรงงาน 150 กิโลเมตร พบว่ามีการปนเปื้อนเมลามีน 176 ไมโครกรัม/ลิตร เลือกตัวอย่างธัญพืช 3 ตัวอย่าง จาก 557 ตัวอย่างมีการปนเปื้อนมากกว่า 1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และระดับเมลามีนสูงสุดที่พบ คือ 2.05 มิลลิกรัม/กิโลกรัมโดยพบในข้าวสาลี ส่วนในอาหารสัตว์ที่มีสารเมลามีนปนเปื้อน 2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พบว่ามีการตกค้างของสารเมลามีนในเนื้อสัตว์ต่ำกว่า 122 ไมโครกรัม/กิโลกรัม แต่สารเมลามีนจะมีการตกค้างมากถ้าได้รับอาหารที่มีการปนเปื้อนเมลามีนมากกว่า 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พบว่าในไตไก่มีการตกค้างถึง 4,483 ไมโครกรัม/กิโลกรัม