

## **Effect of simultaneous noise and carbon monoxide exposure on rabbits' auditory brain stem response**

Motalebi Kashani M<sup>1</sup>, Mortazavi SB<sup>1\*</sup>, Khavanin A<sup>1</sup>, Alameh A<sup>2</sup>, Mirzaei R<sup>3</sup>, Akbari M<sup>4</sup>

1- Department of Occupational Health, Faculty of Medicine, University of Tarbiat Modares, Tehran, I. R. Iran

2- Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Tarbiat Modares, Tehran, I. R. Iran

3- Department of Occupational Health, Faculty of Health, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, I. R. Iran

4- Department of Audiology, Faculty of Rehabilitation, Iran University of Medical Sciences, Tehran, I. R. Iran

Received September 21, 2009; Accepted November 7, 2009

### **Abstract:**

**Background:** Noise induced hearing loss (NIHL) is one of the most important occupational diseases worldwide. NIHL has been found to be potentiated by some of air pollutants. Exposure to noise plus carbon monoxide is common in occupational and environmental settings. This study was performed to evaluate the effect of noise and carbon monoxide exposure simultaneously on rabbits' hearing system by Auditory Brain stem Response (ABR) assessment.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 24 male adult white rabbits were divided to four groups: control group, noise exposure group, noise plus carbon monoxide exposure group and carbon monoxide exposure group. Auditory Brain stem Responses of the four groups were determined: before exposure, 1 hour after exposure and 14 days after exposure by click and tone burst stimulus.

**Results:** The latency mean time of V wave in the ABR test for the group exposed to noise plus carbon monoxide, 1 hour after exposure at 1, 2, 4 and 8 KHz frequency were respectively  $5.43 \pm 0.08$ ,  $5.50 \pm 0.07$ ,  $5.71 \pm 0.07$  and  $5.75 \pm 0.07$  millisecond. These values were significantly more than the same values in the other groups.

**Conclusion:** NIHL may be potentiated by carbon monoxide in the simultaneous exposure. Thus, it seems occupational and environmental exposure to noise plus carbon monoxide may increases hearing loss risk.

**Keywords:** Noise-induced hearing loss, Carbon monoxide, Brain stem auditory evoked potentials

\* Corresponding Author.

Email: sbmortazav@modares.ac.ir

Tel: 0098 21 82883845

Fax: 0098 21 82883825

Conflict of Interests: *No*

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences Winter 2010; Vol 13, No 4, Pages 261-270

# بررسی تأثیر مواجهه همزمان با صدا و مونوکسید کربن بر عملکرد پاسخ شنیداری ساقه مغز خرگوش

مسعود مطلبی کاشانی<sup>۱</sup>، سید باقر مرتضوی<sup>۲\*</sup>، علی خوانین<sup>۳</sup>، عبدالامیر علامه<sup>۴</sup>، رمضان میرزایی<sup>۵</sup>، مهدی اکبری<sup>۶</sup>

## خلاصه

**سابقه و هدف:** افت شنوایی ناشی از صدا یکی از مهمترین بیماری‌های ناشی از کار در جهان است و برخی از آلاینده‌های موجود در هوا می‌توانند این افت را تقویت نمایند. با توجه به اینکه در بسیاری از تماس‌های شغلی و زیست محیطی، مواجهه توأم با صدا و مونوکسید کربن وجود دارد، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر مواجهه همزمان با صدا و مونوکسید کربن بر سیستم شنوایی خرگوش از طریق بررسی عملکرد پاسخ شنیداری ساقه مغز حیوان انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** مطالعه به روش تجربی بر روی ۲۴ سر خرگوش سفید نر بالغ در ۴ گروه انجام گرفت. گروه‌ها شامل گروه کنترل، گروه در معرض صدا، گروه در معرض توأم صدا و مونوکسید کربن و گروه در معرض مونوکسید کربن بودند. در کلیه گروه‌ها، امواج حاصل از پتانسیل برانگیخته ساقه مغز با محرک کلیک و تون پرست در سه مقطع زمانی: قبل از مواجهه، یک ساعت پس از آخرین مواجهه و ۱۴ روز پس از آخرین مواجهه ثبت گردید و نتایج با استفاده از آزمون‌های آنالیز واریانس و t زوجی تجزیه و تحلیل گردید.

**نتایج:** متوسط زمان تأخیر تشکیل موج پنجم برای گروهی که در مواجهه توأم با صدا و مونوکسید کربن بودند، یک ساعت پس از آخرین مواجهه در فرکانس‌های ۱، ۲، ۴ و ۸ کیلوهرتز به ترتیب برابر با  $0/43 \pm 0/08$ ،  $0/50 \pm 0/07$ ،  $0/57 \pm 0/07$  و  $0/75 \pm 0/07$  میلی ثانیه بود که این مقادیر از مقادیر مشابه در سایر گروه‌ها بیشتر بود ( $P < 0/01$ ).

**نتیجه گیری:** مطالعه حاضر نشان داد مواجهه توأم با مونوکسید کربن و صدا در فرکانس‌های ۴-۱ کیلو هرتز می‌تواند افت شنوایی ناشی از صدا را تقویت نماید و لذا پیش بینی می‌شود در محیط‌های کاری پر سر و صدا، حضور مونواکسید کربن بتواند احتمال افت شنوایی ناشی از صدا را افزایش دهد.

**واژگان کلیدی:** افت شنوایی ناشی از صدا، مونوکسید کربن، پاسخ شنیداری ساقه مغز

فصلنامه علمی - پژوهشی فیض، دوره سیزدهم، شماره ۴، زمستان ۱۳۸۸، صفحات ۲۷۰-۲۶۱

## مقدمه

صدا شایع‌ترین عامل زیان آور فیزیکی در محیط‌های کاری و محیط زیست محسوب می‌گردد؛ به طوری که افت شنوایی ناشی از صدا (Noise Induced Hearing Loss; NIHL) به عنوان یکی از ده بیماری مهم ناشی از کار در جهان معرفی شده است [۱]. این افت از نوع حسی - عصبی بوده و به دو شکل افت

شنوایی موقت یا برگشت پذیر (Temporary Threshold TTS) و Shift; و افت شنوایی ماندگار یا برگشت ناپذیر (PTS) (Permanent Threshold Shift; PTS) از سوی دیگر مطالعات نشان داده است که مواجهه همزمان با صدا و برخی از مواد شیمیایی نظیر حلال‌ها، فیوم فلزات سنگین و مونواکسید کربن می‌تواند افت شنوایی ناشی از صدا را تقویت و یا تشدید نماید [۳]. مونوکسید کربن به عنوان یکی از مهمترین آلوده کننده‌های هوا در محیط زیست و در محیط‌های صنعتی محسوب می‌شود. مهمترین منابع تولید مونوکسید کربن در محیط زیست، وسائط نقلیه موتوری و صنایع می‌باشند. همچنین مواجهه شغلی با این ماده در بسیاری از صنایع نظیر صنایع ریخته گری، ذوب آهن، ذوب مس، صنایع فولاد و تولید سیمان و نیز در برخی فعالیت‌های شغلی نظیر جوشکاری و آهنگری گزارش شده است [۴]. انستیتوی ملی ایمنی و بهداشت حرفه‌ای در آمریکا (NIOSH) برآورد نموده که نزدیک به یک میلیون کارگر در آمریکا در محیط‌های کار خود در معرض مقادیر بسیار زیاد گاز مونواکسید کربن قرار دارند [۵]. مواجهه با گاز مونواکسید کربن در برخی مشاغل مانند

<sup>۱</sup> دانشجوی مقطع دکتری بهداشت حرفه‌ای، گروه بهداشت حرفه‌ای، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

<sup>۲</sup> دانشیار، گروه بهداشت حرفه‌ای، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

<sup>۳</sup> استادیار، گروه بهداشت حرفه‌ای، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

<sup>۴</sup> استاد، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

<sup>۵</sup> استادیار، گروه بهداشت حرفه‌ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان

<sup>۶</sup> مربی، گروه شنوایی شناسی، دانشکده علوم توانبخشی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

\* نشانی نویسنده مسوول:

تهران، تقاطع بزرگراه جلال آل احمد و شهید چمران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی، گروه بهداشت حرفه‌ای

تلفن: ۰۲۱ ۸۲۸۸۳۸۴۵ | دور-تلفن: ۰۲۱ ۸۲۸۸۳۸۲۵

پست الکترونیک: sbmortazav@modares.ac.ir

کارتبذی دریاقت: ۸۸/۶/۳۰ | کارتبذی پذیرش نهایی: ۸۸/۸/۱۶

شود، ppm ۳۲۰ است [۶]. در مطالعات فوق الذکر با توجه به اثر تقویت‌کنندگی مونوکسید کربن بر افت شنوایی ناشی از صدا در فرکانس‌های بالا، حیوانات در مواجهه با صدای اکتاوباند با مرکزیت ۱۳/۶ KHz قرار گرفته‌اند که مواجهه با چنین فرکانس‌هایی در محیط‌های صنعتی و محیط زیست نادر است. همچنین شنوایی حیوانات در فرکانس‌های بالاتر از ۱۲ KHz و از طریق بررسی پتانسیل‌های برانگیخته شنوایی (Auditory evoked Potential) مورد سنجش قرار گرفته است. با توجه به اینکه بیشترین آسیب‌های شنوایی در محیط کار در فرکانس‌های ۱۰۰۰ تا ۴۰۰۰ هرتز رخ می‌دهد [۱۲]، بررسی اثر مونوکسیدکربن بر تقویت افت شنوایی ناشی از صدا در این فرکانس‌ها ضروری به نظر می‌رسد. بسیاری از کارگران در محیط‌های شغلی خود در مواجهه توأم با صدا و مونوکسید کربن قرار دارند و در صورتی که مونوکسید کربن بتواند در فرکانس‌های آسیب‌رسان شغلی نیز موجب تقویت افت شنوایی ناشی از صدا گردد، تجدید نظر در بیان مقادیر تماس مجاز با صدا در محیط‌هایی که مواجهه توأم صدا و مونوکسید کربن برای کارگران وجود دارد، اجتناب‌ناپذیر خواهد بود. لذا، با توجه به محدودیت مطالعه بر روی انسان، این پژوهش با هدف بررسی اثر مواجهه توأم مونوکسید کربن و صدا در فرکانس‌های ۴۰۰۰-۱۰۰۰ هرتز بر افت شنوایی ناشی از صدا از طریق بررسی عملکرد پاسخ شنیداری ساقه مغز بر روی مدل حیوانی (خرگوش) انجام گرفت.

#### مواد و روش‌ها

این پژوهش به روش تجربی در مدل حیوانی، بر روی خرگوش‌های نر سفید بالغ (سه ماهه، نژاد نیوزیلندی با محدوده وزنی ۱۵۰۰-۲۲۰۰ گرم) در آزمایشگاه بهداشت حرفه‌ای دانشگاه تربیت مدرس انجام گرفت. حیوانات از انستیتو تحقیقاتی پاستور ایران تأمین گردیده و در حیوانخانه دانشگاه تربیت مدرس مطابق با شرایط استاندارد توصیه شده (از نظر دما، غذا، نور و تهویه) نگهداری شدند و موارد مندرج در بیانیه هلسینکی در خصوص کار با حیوانات آزمایشگاهی در مورد آنان رعایت گردید. خرگوش‌ها با توجه به نوع مداخلات به چهار گروه به این شرح تقسیم شدند: گروه ۱: حیواناتی که هیچ‌گونه مواجهه‌ای با عوامل زیان‌آور صدا و مونوکسید کربن نداشتند؛ گروه ۲: حیواناتی که در مواجهه تنها با صدا قرار داشتند؛ گروه ۳: حیواناتی که در مواجهه همزمان با صدا و مونوکسید کربن قرار داشتند و گروه ۴: حیواناتی که در مواجهه تنها با مونوکسید کربن قرار داشتند. حجم نمونه در هر گروه بر اساس نتایج مطالعات قبلی و نیز نتایج

مامورین آتش‌نشانی در زمان‌های کوتاه حتی به بیش از ppm ۱۰۰۰ می‌رسد [۶]. در کشور ما نیز به دلیل وجود فرآیندهای سنتی (نظیر کوره‌های آجرپزی، ریخته‌گری‌های سنتی و ...) و نیز استفاده گسترده از سوخت‌های فسیلی و ماشین‌آلات فرسوده، می‌توان پیش‌بینی نمود که تعداد زیادی از کارگران در معرض مواجهه توأم با مقادیر زیاد صدا و مونوکسید کربن در محیط کار خود قرار دارند. در مطالعه Fechter و همکاران نشان داده شد که مواجهه تنها با مونوکسید کربن نمی‌تواند افت شنوایی دائم ایجاد کند، لیکن چنانچه موش صحرائی در مواجهه توأم و همزمان با صدا و مونوکسید کربن قرار گیرد، مونوکسیدکربن می‌تواند اثر تقویت‌کننده بر افت شنوایی ناشی از صدا داشته باشد و موجب گسترش افت شنوایی ناشی از صدا گردد [۷]. در مطالعه انجام شده توسط young و همکاران، نشان داده شد که بیشترین اثر تقویت‌کنندگی مونوکسید کربن در تغییر آستانه شنوایی موش صحرائی در فرکانس‌های بالا (بیشتر از ۱۰ کیلو هرتز) ظاهر می‌شود [۸]. در مطالعه Chen و همکاران بر روی موش صحرائی مشخص شد که میانگین افت شنوایی ناشی از مواجهه با صدای ۱۰۰ دسی بل به مدت ۲ ساعت ۱۷ دسی بل بوده است؛ در حالی که میانگین افت شنوایی ناشی از مواجهه توأم با صدای ۱۰۰ دسی بل و مونوکسید کربن به غلظت ppm ۱۲۰۰ (به مدت ۲ ساعت) برابر با ۲۴ دسی بل است [۹]. در مطالعه دیگر Chen و همکاران بر روی موش صحرائی نشان داده شد که اگرچه صدای متناوب اثرات کمتری نسبت به صدای مداوم در ایجاد افت شنوایی ناشی از صدا دارد، لیکن مواجهه توأم حیوانات با صدای متناوب و مونوکسید کربن موجب می‌شود تا مونوکسید کربن اثر صدای متناوب در ایجاد افت شنوایی ناشی از صدا را تقویت کند [۱۰]. در مطالعه Rao و Fechter اثر شدت صدا بر میزان تقویت افت شنوایی ناشی از صدا توسط مونوکسید کربن بررسی گردید که نتایج نشان داد با افزایش شدت صدا به بیشتر از ۱۰۰ دسی بل، اثر تقویت‌کنندگی مونوکسید کربن بر افت شنوایی ناشی از صدا کمتر خواهد بود و بیشترین اثر تقویت‌کنندگی مونوکسید کربن در تماس با صدای ۱۰۰ دسی بل رخ می‌دهد [۱۱]. Fechter و همکاران نیز در مطالعه‌ای اثر غلظت مونوکسید کربن بر تقویت افت شنوایی ناشی از صدا را مورد بررسی قرار دادند و مشخص شد که در غلظت‌های بین ppm ۵۰۰ تا ۱۵۰۰ ارتباط خطی میان غلظت مونوکسید کربن و تقویت افت شنوایی ناشی از صدا دیده می‌شود و کمترین غلظت مونوکسید کربن که موجب تقویت افت شنوایی ناشی از صدا در شرایط مورد مطالعه (صدای ۱۰۰ دسی بل اکتاوباند با مرکزیت ۱۳/۶ KHz به مدت ۸ ساعت مواجهه) می‌-

آزمایشات مقدماتی، تعداد ۶ سر تعیین شد [۹-۶]. مواجهه حیوانات با عوامل زیان آور در یک اتاقک از جنس طلق پلی کربنات به ابعاد  $90 \times 60 \times 50$  سانتیمتر انجام شد. انتخاب جنس و ابعاد اتاقک با توجه به ایجاد شرایط پرتین (Reverberant) در داخل آن صورت گرفت؛ به طوری که میزان صدا در داخل اتاقک مستقل از فاصله باشد و حیوانات در تمام نقاط اتاقک در معرض صدای یکسان قرار داشته باشند [۱۳]. حیوانات در هر گروه به طور جداگانه جهت مواجهه با صدا و مونوکسید کربن در داخل این اتاقک قرار گرفتند. خرگوش‌ها در گروه‌های ۲ و ۳ در معرض صدا با پهنای باند ۵۷۰۰-۷۰۰ هرتز (ترکیب سه صدای اکتاوباند با مرکزیت ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ هرتز) و با تراز شدت معادل  $2 \pm 100$  دسی بل به مدت ۸ ساعت در روز و به میزان ۵ روز پیاپی قرار داشتند (زمان کل مواجهه با صدا ۴۰ ساعت بوده است). صدا با استفاده از نرم افزار Signal، با ترکیب فرکانسی مورد نظر، تولید و از طریق نرم افزار Cool edit بر روی کامپیوتر اجرا شد. صدای تولید شده از طریق یک آمپلی فایر و بلندگو در داخل اتاقک مواجهه پخش گردید. پایش میزان شدت و فرکانس صدا در داخل اتاقک بوسیله دستگاه صداسنج آنالیزوردار مدل Cel-490 ساخت کشور انگلستان انجام گرفت. میکروفون دستگاه صداسنج در داخل اتاقک قرار گرفته و میزان صدا در طول مدت مواجهه به صورت مرتب پایش و در صورت نیاز از طریق نرم افزار مربوطه ویرایش گردید. میزان صدای زمینه در حیوانخانه و آزمایشگاه برای کلیه گروه‌ها (شامل گروه کنترل) کمتر از ۴۰ دسی بل بود. خرگوش‌ها در گروه‌های ۳ و ۴ در معرض گاز مونوکسید کربن با غلظت  $40 \pm 70$  PPM به مدت ۸ ساعت در روز و به میزان ۵ روز پیاپی (۴۰ ساعت) قرار داشتند. غلظت مورد نظر در داخل اتاقک با استفاده از یک سیلندر ۵۰ لیتری مونوکسید کربن با خلوص ۹۹/۵ درصد و یک میکرو والو مدل Air Flow، به صورت دینامیک ایجاد شد. دبی تهویه اتاقک ۵۶ لیتر بر دقیقه بود که برای تعویض هوا به میزان ۱۲ بار در ساعت کافی می‌باشد. جهت همگن سازی مونوکسید کربن با هوا، این گاز قبل از ورود به اتاقک در یک ظرف شیشه‌ای وارد شده و با هوا مخلوط می‌گردد؛ همچنین از یک فن در سقف اتاقک برای اختلاط بیشتر این گاز با هوا استفاده شد. پایش غلظت مونوکسید کربن در داخل اتاقک مطابق با روش استاندارد NIOSH به شماره ۶۶۰۴ و با استفاده از دستگاه قرائت مستقیم مدل MRU صورت گرفت. غلظت مونوکسید کربن در داخل اتاقک از طریق تغییر دبی فن خروج هوا و نیز تنظیم میکرو والو، کنترل و به طور مرتب در طول مواجهه توسط دستگاه قرائت مستقیم پایش می‌گردید. غلظت

مونوکسید کربن در هوای حیوانخانه و آزمایشگاه برای کلیه گروه‌ها (شامل گروه کنترل) کمتر از ۲ ppm بود. شنوایی خرگوش‌ها از طریق بررسی پاسخ شنیداری ساقه مغز یا (ABR) ارزیابی گردید. این روش یکی از روش‌های بررسی پتانسیل‌های برانگیخته شنیداری است که نیاز به پاسخ آزمایش شونده ندارد و در مطالعه بر روی حیوانات مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۴، ۱۵]. در این روش با ارائه یک محرک صوتی به سیستم شنوایی، ۵ موج اصلی ثبت می‌شود که هر یک مربوط به یکی از بخش‌های سیستم شنوایی است. موج پنجم در ارتباط با تغییرات شدت محرک ثابت تر بوده و لذا بررسی زمان تأخیر تشکیل موج پنجم به عنوان یکی از معیارهای ارزیابی سیستم شنوایی حیوانات مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۶، ۱۷]. در این پژوهش بررسی شنوایی حیوانات با استفاده از دستگاه ABR مدل Interacoustic EP25 ساخت کشور دانمارک به دو روش Click (با طیف وسیع فرکانسی حدود ۱۰۰۰ تا ۴۰۰۰ هرتز) و Tone Burst (با طیف باریک فرکانس در فرکانس‌های ۸۰۰۰، ۴۰۰۰، ۲۰۰۰، ۱۰۰۰ هرتز) انجام شد. محرک‌های صوتی از طریق Insert Phone جاسازی شده در فوم که در مجرای گوش حیوان تعبیه شده بود با شدت ۷۰ dB ارسال گردید و برای ثبت امواج از الکتروادهای سوزنی استفاده شد. الکتروود فرمز زیر پوست گوش راست، الکتروود آبی زیر پوست گوش چپ، الکتروود Vertex زیر پوست فرق سر و الکتروود Ground زیر پوست بازوی راست حیوان وارد شد. دستگاه تعداد ۲۰۴۸ تحریک را (با فیلتر High Pass=50Hz, Low Pass=2000Hz) در هر فرکانس معدل گیری کرده و پاسخ به شکل امواج ۱ تا ۵ بر روی مانیتور رسم شد. زمان تأخیر تشکیل موج پنجم بر حسب میلی ثانیه به عنوان معیار ارزیابی وضعیت شنوایی حیوانات در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت. آزمایش ABR برای کلیه گروه‌ها در سه مقطع زمانی به این شرح انجام شد: مرحله اول: قبل از مواجهه حیوانات با عوامل زیان آور (این آزمایشات به منظور تعیین وضعیت اولیه شنوایی حیوان و مقایسه آن با بعد از مواجهه انجام گرفت)، مرحله دوم: یک ساعت پس از آخرین مواجهه حیوانات با عوامل زیان آور (این آزمایشات به منظور بررسی افت شنوایی موقت (TTS) انجام شد) و مرحله سوم: ۱۴ روز پس از آخرین مواجهه حیوانات با عوامل زیان آور (این آزمایشات به منظور بررسی افت شنوایی دائم (PTS) انجام شد). لازم به ذکر است که در بررسی شنوایی مدل حیوانی افت‌های ایجاد شده تا یک ساعت پس از مواجهه به عنوان افت موقت یا برگشت پذیر و افت‌های ماندگار تا بیش از یک هفته (شامل ۸، ۱۴ و ۲۱ روز در مطالعات مختلف) به عنوان افت دائم یا برگشت ناپذیر تعریف می‌-

مقادیر با میانگین زمان تأخیر تشکیل همین موج در سایر گروه‌ها قبل از مواجهه با عوامل زبان آور تفاوت معنی‌دار نداشت. جدول ۱ شاخص‌های آماری زمان تأخیر تشکیل موج ۵ بر حسب میلی ثانیه با محرک کلیک (فرکانس‌های ۴-۱ کیلوهرتز) را در سه مقطع زمانی: قبل از مواجهه با عوامل زبان آور، یک ساعت پس از آخرین مواجهه و ۱۴ روز پس از آخرین مواجهه با عوامل زبان آور در گروه‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد. در این جدول نتایج آزمایش ABR قبل از مواجهه یک بار با نتایج این آزمایش یک ساعت پس از مواجهه و یک بار دیگر با نتایج این آزمایش چهارده روز پس از مواجهه به طور جداگانه مقایسه شده است. مقایسه‌ها نشان داد در گروه ۲ و ۳ زمان تأخیر تشکیل موج ۵ یک ساعت پس از آخرین مواجهه و همچنین ۱۴ روز پس از آخرین مواجهه نسبت به قبل از مواجهه افزایش یافته است ( $P < 0.001$ ), در حالی که در گروه ۱ و ۴ تفاوت معنی‌داری میان این مقادیر مشاهده نمی‌گردد. به عبارت دیگر مواجهه با صدا و همچنین مواجهه توأم صدا و مونوکسید کربن موجب افت شنوایی موقت (TTS) و دائم (PTS) در حیوانات گردیده؛ لیکن مواجهه تنها با مونوکسید کربن افت شنوایی موقت یا دائم ایجاد نکرده است.

شوند [۲۱، ۱۵-۱۸]. برای انجام آزمایش ABR نیاز به بیهوش کردن حیوانات می‌باشد. برای این منظور از مخلوط کتامین ۱۰ درصد و گزلیازین ۲ درصد استفاده شد. مخلوطی از ۶۰ درصد کتامین و ۴۰ درصد گزلیازین تهیه و ۰/۶ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن خرگوش از طریق زیرجلدی در ناحیه ران تزریق شد که این مقدار برای بیهوش کردن حیوان به مدت حدود ۱ ساعت کفایت می‌کند. پس از جمع‌آوری داده‌ها ابتدا جهت تعیین نرمالیتی آنها از آزمون کولموگوروف اسمیرنوف استفاده گردید. سپس، برای مقایسه داده‌ها قبل و بعد از مواجهه در هر گروه از آزمون t زوجی استفاده شد. همچنین برای مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از آزمون آنالیز واریانس (و نیز آزمون توکی برای مقایسه‌های دوگانه) در داده‌های نرمال و از آزمون کروسکال والیس (و آزمون من ویتنی برای مقایسه‌های دوگانه) در داده‌های غیرنرمال استفاده شد.

## نتایج

میانگین زمان تأخیر تشکیل موج پنج در آزمایش ABR با شدت تحریک ۷۰dB برای گروه کنترل (گروه ۱) در فرکانس‌های ۱، ۲، ۴، ۸ و ۱۶ کیلوهرتز به ترتیب برابر با  $0.02 \pm 0.07$ ،  $0.01 \pm 0.07$ ،  $0.01 \pm 0.07$  و  $0.01 \pm 0.07$  میلی ثانیه بود که این

جدول شماره ۱ - میانگین و انحراف استاندارد زمان تأخیر تشکیل موج پنجم بر حسب میلی‌ثانیه در آزمایش ABR با محرک کلیک، فرکانس ۴-۱ KHz و شدت تحریک ۷۰ dB بر حسب زمان انجام آزمایش در گروه‌های مورد مطالعه

زمان تأخیر تشکیل موج پنجم بر حسب میلی‌ثانیه			شاخص آماری	گروه‌های مطالعه
چهارده روز پس از آخرین مواجهه	یک ساعت پس از آخرین مواجهه	قبل از مواجهه		
$0.01 \pm 0.07$	$0.02 \pm 0.07$	$0.01 \pm 0.07$	$\bar{X} \pm SD$	گروه ۱ (بدون مواجهه)
	*		P	
$0.06 \pm 0.11$	$0.06 \pm 0.09$	$0.03 \pm 0.07$	$\bar{X} \pm SD$	گروه ۲ (مواجهه با صدا)
	**	*	P	
$0.06 \pm 0.17$	$0.07 \pm 0.17$	$0.02 \pm 0.07$	$\bar{X} \pm SD$	گروه ۳ (مواجهه با صدا و مونوکسیدکربن)
	**	*	P	
$0.01 \pm 0.07$	$0.01 \pm 0.07$	$0.01 \pm 0.07$	$\bar{X} \pm SD$	گروه ۴ (مواجهه با مونوکسیدکربن)
	**	*	P	

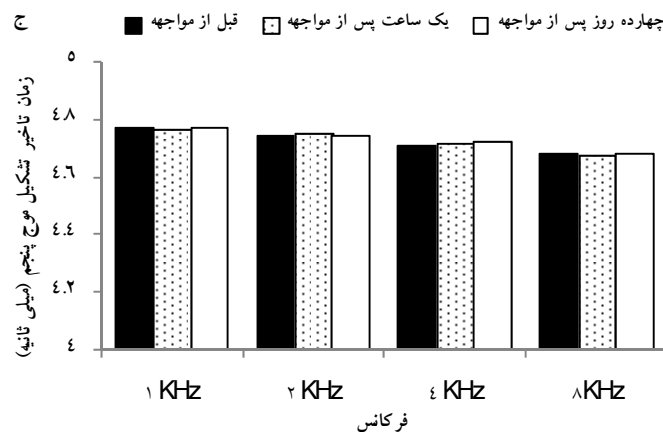
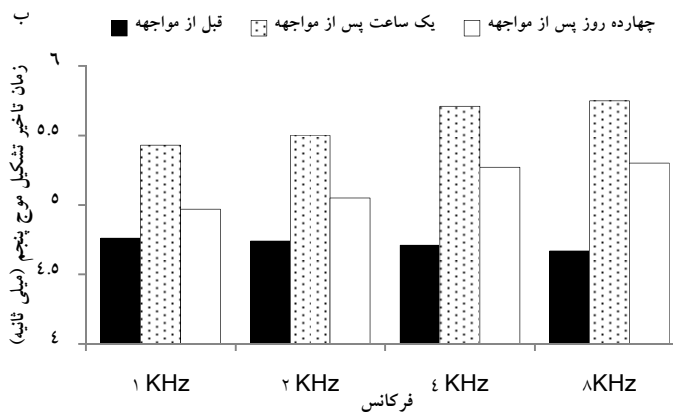
\* مقایسه یک ساعت پس از آخرین مواجهه و قبل از مواجهه و \*\* مقایسه چهارده روز پس از آخرین مواجهه و قبل از مواجهه

که در گروه ۲ (گروه در معرض صدا) و گروه ۳ (گروه در معرض صدا و مونوکسید کربن) در کلیه فرکانس‌ها زمان تأخیر تشکیل موج ۵ یک ساعت پس از آخرین مواجهه و نیز ۱۴ روز پس از آخرین مواجهه نسبت به قبل از مواجهه افزایش یافته است ( $P < 0.001$ ) به دیگر سخن مواجهه با صدا و نیز مواجهه توأم با

میانگین زمان تأخیر تشکیل موج ۵ بر حسب میلی ثانیه با محرک تون برست در فرکانس‌های ۴، ۸ و ۱۶ کیلوهرتز قبل از مواجهه، یک ساعت پس از آخرین مواجهه و ۱۴ روز پس از آخرین مواجهه در گروه‌های خرگوش مواجهه یافته با عوامل زبان آور در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است. نتایج آزمون آماری نشان داد

تأخیر تشکیل موج پنج افزایش نیافته است که نشان می‌دهد مواجهه تنها با مونوکسید کربن در هیچ یک از فرکانس‌ها افت شنوایی موقت یا دائم ایجاد نمی‌کند.

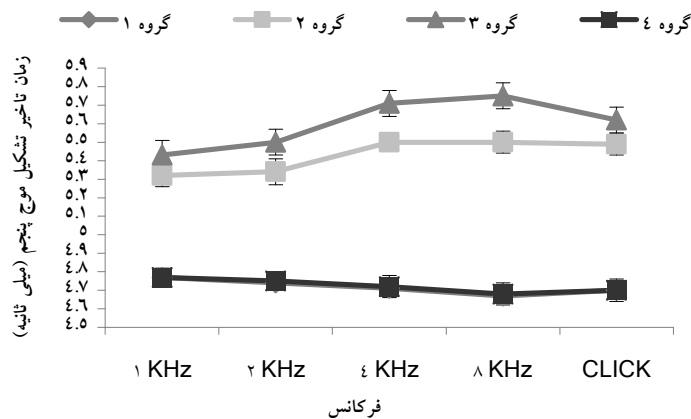
صدا و مونوکسید کربن در تمام فرکانس‌های مورد مطالعه موجب افت شنوایی موقت و دائم شده است. در گروه ۴ (گروه در معرض مونوکسید کربن) در هیچ کدام از فرکانس‌های مورد بررسی زمان



نمودار شماره ۱- مقایسه زمان تأخیر تشکیل موج پنجم بر حسب میلی ثانیه با محرک تون برست در فرکانس ۴،۲،۱ و ۸ کیلو هرتز و شدت ۷۰ دسی بل، قبل از مواجهه، یک ساعت پس از آخرین مواجهه و چهارده روز پس از آخرین مواجهه با عوامل زیان آور در گروه‌های مطالعه: الف) گروه ۲ (مواجهه حیوانات با صدا)، ب) گروه ۳ (مواجهه همزمان حیوانات با صدا و مونواکسیدکربن)، ج) گروه ۴ (مواجهه حیوانات با مونواکسیدکربن)

گروه‌ها با یکدیگر مشخص کرد که به جز گروه ۱ و ۴ که تفاوت معنی‌داری ندارند، میان سایر گروه‌ها در تمام فرکانس‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌دار مشاهده می‌گردد ( $P < 0/01$ ). این بدان معنی است که مونوکسید کربن قادر است در تمام فرکانس‌ها افت شنوایی موقت ناشی از صدا را تقویت نماید.

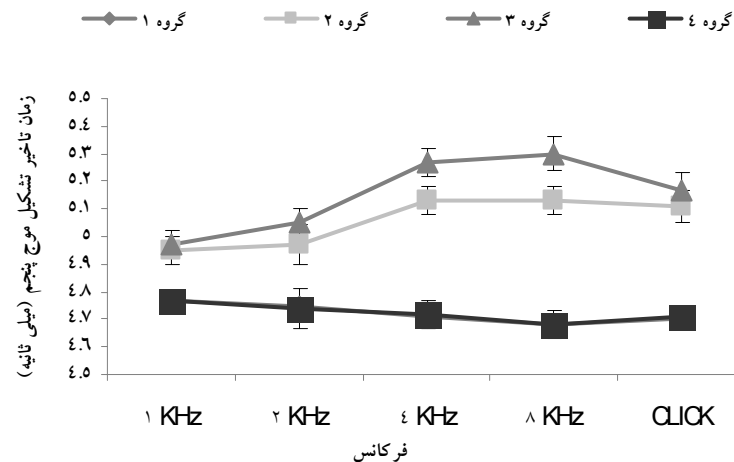
در نمودار شماره ۲ متوسط زمان تأخیر تشکیل موج ۵ بر حسب میلی ثانیه با محرک کلیک و تون برست، یک ساعت پس از آخرین مواجهه در ۴ گروه مورد مطالعه با یکدیگر مقایسه شده است. آزمون آنالیز واریانس نشان داد که اختلاف بین گروه‌ها در تمام فرکانس‌ها معنی‌دار است ( $P < 0/001$ ) و مقایسه دو تایی



نمودار شماره ۲- مقایسه متوسط زمان تأخیر تشکیل موج ۵ بر حسب میلی ثانیه با محرک کلیک و تون برست در فرکانس‌های ۱، ۲، ۴ و ۸ کیلو هرتز در آزمایش ABR با شدت تحریک ۷۰ دسی بل، یک ساعت پس از آخرین مواجهه، در گروه‌های خرگوش مورد مطالعه

مشخص کرد که علاوه بر اینکه میان گروه‌های ۱ و ۴ تفاوت معنی‌دار وجود ندارد در فرکانس ۱ KHz و ۲ KHz نیز میان گروه ۲ و ۳ تفاوت معنی‌دار نمی‌باشد؛ یعنی پس از گذشت ۱۴ روز از مواجهه، اثر تقویت‌کنندگی مونوکسید کربن بر افت شنوایی ناشی از صدا در فرکانس‌های ۱ KHz و ۲ KHz از بین رفته است.

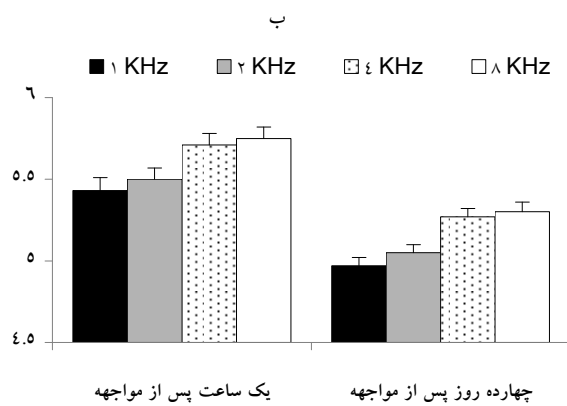
نمودار شماره ۳ متوسط زمان تأخیر تشکیل موج پنجم بر حسب میلی ثانیه با محرک کلیک و تون برست را ۱۴ روز پس از آخرین مواجهه در چهار گروه مورد مطالعه با یکدیگر مقایسه نموده است. نتایج این مقایسه اختلاف معنی‌دار میان گروه‌ها را نشان داد ( $P < 0/001$ ). لیکن، نتایج مقایسه‌های دوتایی گروه‌ها با یکدیگر



نمودار شماره ۳- مقایسه متوسط زمان تأخیر تشکیل موج ۵ بر حسب میلی ثانیه با محرک کلیک و تون برست در فرکانس‌های ۱، ۲، ۴ و ۸ کیلو هرتز در آزمایش ABR با شدت تحریک ۷۰ دسی بل، چهارده روز پس از آخرین مواجهه، در گروه‌های خرگوش مورد مطالعه

در نمودار شماره ۴ متوسط زمان تأخیر تشکیل موج پنجم بر حسب میلی ثانیه با محرک تون برست یک ساعت و ۱۴ روز پس از آخرین مواجهه میان فرکانس‌های مختلف در گروه ۲ و ۳ به طور جداگانه مقایسه شده است. نتایج آزمون واریانس نشان داد که در هر دو گروه اختلاف معنی دار میان فرکانس‌های مختلف وجود دارد ( $P < 0/01$ ). مقایسه دوتایی فرکانس‌ها با یکدیگر اختلافی در زمان تأخیر تشکیل موج ۵ میان فرکانس‌های ۱ KHz و

۲ KHz در هر دو مقطع زمانی نشان نداد، ولی این زمان در فرکانس‌های ۴ KHz و ۸ KHz از فرکانس‌های ۱ KHz و ۲ KHz در هر دو گروه بیشتر است ( $P < 0/01$ ). به عبارت دیگر مواجهه با صدا و نیز مواجهه توأم با صدا و مونوکسید کربن موجب افزایش افت شنوایی در فرکانس‌های بالاتر از ۴ KHz نسبت به فرکانس‌های ۱ و ۲ KHz می‌گردد.



نمودار شماره ۴- مقایسه متوسط زمان تأخیر تشکیل موج ۵ بر حسب میلی ثانیه با محرک کلیک و تون برست در فرکانس‌های مختلف در آزمایش ABR با شدت تحریک ۷۰ دسی بل، یک ساعت و چهارده روز پس از آخرین مواجهه، در گروه‌های خرگوش: الف) گروه ۲ (مواجهه با صدا) ب) گروه ۳ (مواجهه با صدا و مونوکسیدکربن)

حلزون گوش، آسیب‌های متابولیکی شامل به هم خوردن تعادل یون کلسیم در سلول‌های مویی خارجی و استرس اکسیداتیو ناشی از تشکیل رادیکال‌های آزاد (گونه‌های فعال اکسیژن) در این سلول‌ها نقش مهمی در ایجاد افت شنوایی ناشی از صدا ایفا می‌کنند [۲۲]. از سوی دیگر نشان داده شده است که سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) در حلزون گوش حیواناتی که در معرض صدا و مونوکسید کربن به صورت همزمان بوده‌اند، به طور معنی داری بیشتر از میزان آنها در حیواناتی است که تنها در معرض صدا قرار داشته‌اند [۲۳،۵]. بنابراین، می‌توان اثر تقویت‌کنندگی مونوکسیدکربن بر افت شنوایی ناشی از صدا در این پژوهش را به نقش این گاز در افزایش استرس اکسیداتیو در حلزون گوش حیوانات نسبت داد که این موضوع ممکن است تایید کننده فرضیه‌هایی باشد که پدیده افت شنوایی ناشی از صدا را به استرس اکسیداتیو نسبت می‌دهند. در این صورت بسیاری از راهکارهای بیوشیمیایی (نظیر استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها) که جهت پیش‌گیری از افت شنوایی

متوسط میزان افزایش زمان تأخیر تشکیل موج پنجم در گروه ۳ (گروه در معرض صدا و مونوکسید کربن) نسبت به گروه ۲ (گروه در معرض صدا) در فرکانس‌های ۱، ۲، ۴ و ۸ کیلوهرتز به ترتیب برابر با ۰/۱۱ و ۰/۱۶ و ۰/۲۱ و ۰/۲۵ میلی ثانیه می‌باشد. آزمون آماری نشان داد که این افزایش فقط میان فرکانس‌های ۱ KHz و ۸ KHz معنی‌دار است ( $P < 0/01$ ). به عبارت دیگر اگرچه مونوکسید کربن در تمام فرکانس‌ها افت شنوایی ناشی از صدا را تقویت کرده است، اما میزان این تقویت در فرکانس ۸ KHz از فرکانس ۱ KHz بیشتر است ( $P < 0/01$ ).

#### بحث

مطالعه حاضر نشان داد مونوکسید کربن می‌تواند اثر صدا با فرکانس‌های ۱ KHz تا ۴ KHz را در ایجاد افت شنوایی موقت و دائم تقویت نماید. مطالعات اخیر نشان داده است که افت شنوایی ناشی از صدا یک پدیده چند علتی است که در آن علاوه بر آسیب‌های مکانیکی به سلول‌های مویی خارجی در



گروه ۲ (مواجهه با صدا) و گروه ۳ (مواجهه توأم با صدا و مونوکسید کربن) وجود ندارد؛ به عبارت دیگر اثر تقویت کنندگی مونوکسید کربن در فرکانس‌های کمتر از ۲KHz پس از گذشت زمان از بین می‌رود، ولی این اثر در فرکانس‌های بالاتر همچنان باقی می‌ماند. لیکن در مورد افت شنوایی موقت همان طور که در نمودار شماره ۲ دیده می‌شود این افت در گروه سوم در تمام فرکانس‌ها بیشتر از گروه ۲ بوده است. در نمودار شماره ۴ نیز نشان داده شد که افزایش زمان تأخیر تشکیل موج ۵ در فرکانس‌های ۴ و ۸ کیلوهرتز از افزایش این زمان در فرکانس‌های ۱ و ۲ کیلوهرتز بیشتر بوده است. تمام این یافته‌ها مؤید این مطلب است که اثر تقویت کنندگی مونوکسید کربن بر افت شنوایی ناشی از صدا در فرکانس‌های بالا بیشتر است و اثر این گاز در زمان‌های طولانی می‌تواند در فرکانس‌های پایین‌تر از بین برود. مطالعه Young و همکاران نیز نشان داده است که اگرچه مونوکسید کربن موجب تقویت افت شنوایی ناشی از صدا در تمام فرکانس‌ها می‌گردد، لیکن بیشترین اثر تقویت کنندگی آن در فرکانس‌های بالا مشاهده می‌شود که این یافته‌ها مشابه یافته‌های این پژوهش است [۸]. یافته‌های مطالعه حاضر این فرضیه را مطرح می‌کند که کارگرانی که در محیط‌های کاری خود در تماس با مونواکسید کربن و صداهای با فرکانس بالاتر از ۲ کیلوهرتز می‌باشند نسبت به کارگرانی که در مواجهه توأم با مونواکسید کربن و صداهای بم (کمتر از ۱ کیلوهرتز) هستند، بیشتر در معرض خطر افت شنوایی ناشی از صدا قرار دارند. در حال حاضر میزان مجاز مواجهه با صدا به منظور پیشگیری از افت شنوایی در محیط‌های صنعتی ۸۵ دسی بل برای هشت ساعت تماس روزانه و چهل ساعت تماس هفتگی تعیین شده است که این میزان بدون در نظر گرفتن تماس توأم صدا با سایر آلاینده‌هاست [۲۶]. با توجه به یافته‌های پژوهش توصیه می‌گردد تا مطالعاتی در خصوص تدوین حدود مقادیر مجاز صدا برای محیط‌هایی که در آن کارگران در مواجهه توأم با صدا و مونواکسید کربن قرار دارند توسط سازمان‌های مربوطه انجام شود. همچنین، در شهرهای بزرگ و پر ترافیک که افراد در معرض تماس توأم با صدا و مونوکسید کربن (ناشی از وسائط نقلیه موتوری) می‌باشند، انجام مطالعات بیشتر در خصوص تدوین حدود مجاز صدای شهری توصیه می‌گردد.

#### نتیجه‌گیری

مواجهه توأم با مونوکسید کربن و صدا می‌تواند افت شنوایی ناشی از صدا را در تمام فرکانس‌ها و به ویژه فرکانس‌های بالا تقویت نماید و لذا پیش‌بینی می‌شود در محیط‌های کاری پر

ناشی از صدا در برخی مطالعات ارائه شده است [۲۰، ۱۵] می‌تواند در خصوص پیش‌گیری از اثر توأم صدا و مونوکسید کربن نیز موثر باشد و لذا مطالعات بیشتر در این مورد توصیه می‌گردد. همچنین نتایج این مطالعه نشان داد مواجهه تنها با مونوکسید کربن در هیچ کدام از فرکانس‌های مورد بررسی افت شنوایی موقت یا دائم ایجاد نمی‌کند که این یافته با نتایج مطالعه Fechter و همکاران هم‌خوانی دارد [۷]. در مطالعات قبلی بیان گردیده است که در مسمومیت حاد با گاز مونوکسید کربن (تماس کوتاه مدت با غلظت زیاد) افت شنوایی موقت ایجاد می‌گردد که این افت به دلیل هیپوکسی ناشی از مسمومیت حاد با این گاز می‌باشد [۵]. لذا مکانیسم ایجاد آن اساساً با تقویت افت شنوایی ناشی از صدا توسط مونوکسید کربن در شرایط مورد مطالعه در این پژوهش متفاوت است. مطالعه Roa و Fechter نشان داد مواجهه همزمان با صدای اکتاو باند با مرکزیت ۱۳/۶ کیلوهرتز و مونوکسید کربن با غلظت ۱۲۰۰ppm به مدت ۲ ساعت می‌تواند موجب تقویت افت شنوایی نسبت به مواجهه تنها با صدا گردد [۲۳]. این در حالی است که یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهد که در تماس‌های طولانی‌تر (۴۰ ساعت) مونوکسید کربن می‌تواند در غلظت‌های کمتر (۷۰۰ PPM) و نیز در فرکانس‌های پایین‌تر (۱-۴ kHz) موجب تقویت افت شنوایی به صورت موقت و دائم شود. با توجه به اینکه در محیط‌های شغلی کارگران در تماس‌های طولانی مدت با عوامل زیان آور صدا و مونوکسید کربن قرار دارند و فرکانس‌های آسیب رسان نیز در محدوده ۴-۱۰ kHz می‌باشد، می‌توان پیش‌بینی نمود که خطر چنین تقویتی در محیط‌های صنعتی نیز وجود دارد. یک مطالعه اپیدمیولوژیک که بر روی ۸۶۴۷ کارگر در کانادا انجام گرفت این پیش‌بینی را تأیید می‌نماید. در این مطالعه مشخص شد که افت شنوایی ناشی از صدا در کارگرانی که در مواجهه توأم با مونوکسید کربن و صدای بیش از ۹۰ دسی بل قرار داشتند، به طور معنی داری بیشتر از سایر کارگرانی است که فقط در معرض صدا بوده‌اند [۲۴]. نمودار شماره ۱ نشان می‌دهد افت شنوایی ناشی از مواجهه توأم با صدا و مونوکسید کربن پس از گذشت ۱۴ روز از مواجهه نسبت به وضعیت یک ساعت، پس از مواجهه در تمام فرکانس‌ها بهبود یافته است که این مورد با نتایج مطالعه Chen و Fechter مشابهت دارد [۲۵]. این وضعیت را می‌توان در نتیجه فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن در برابر عوامل استرس‌زا در طول زمان دانست. همچنین در نمودار شماره ۳ نشان داده شد که در فرکانس‌های ۱KHz و ۲KHz تفاوت معنی داری در وضعیت شنوایی حیوانات (۱۴ روز پس از آخرین مواجهه) میان

سروصدا، حضور مونوکسید کربن بتواند احتمال افت شنوایی ناشی از صدا را افزایش دهد. پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس که در انجام این تحقیق شرایط لازم را فراهم نمودند، تشکر و قدردانی نمایند.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت

### References:

- [1] Nelson DI, Nelson RY, Concha-Barrientos M, Fingerhut M. The global burden of occupational noise-induced hearing loss. *Am J Ind Med* 2005; 48(6): 446-58.
- [2] Ladou J. Occupational Medicine. Prentice-Hall international Inc; 1999. p. 95-101.
- [3] Bilski B. Interaction between noise and ototoxic agents in the work environment. *Med Pr* 2003; 54 (5): 481-5.
- [4] Cullis CF, Hirschler MM. Man's emission of carbon monoxide and hydrocarbons into the atmosphere. *Atmospheric environment* 1989; 23(6): 1195-203.
- [5] Fechter LD, Chen GD, Rao D. Chemical Asphyxiants and Noise. *Noise health* 2002; 4(14): 49-61.
- [6] Fechter LD, Chen GD, Rao D, Larabee J. Predicting exposure conditions that facilitate the potentiation of noise-induced hearing loss by carbon monoxide. *Toxicol Sci* 2000; 58 (2): 315-23.
- [7] Fechter LD, Young JS, Carlisle L. Potentiation of noise induced threshold shift and hair cell loss by carbon monoxide. *Hear Res* 1988; 34 (1): 39-47.
- [8] Young JS, Upchuch MB, Kaufman MJ, Fechter LD. Carbon monoxide exposure potentiates high-frequency threshold shifts induced by noise. *Hear Res* 1987; 26(1): 37-43.
- [9] Chen GD, Kong J, Reinhard K, Fechter LD. NMDA receptor blockage protects against permanent noise-induced hearing loss but not its potentiation by carbon monoxide. *Hear Res* 2001; 154(1-2): 108-15.
- [10] Chen GD, McWilliams ML, Fechter LD. Intermittent noise induced hearing loss and the influence of carbon monoxide. *Hear Res* 1999; 138 (1-2): 181-91.
- [11] Rao DB, Fechter LD. Rao DB, Fechter LD. Increased noise severity limits potentiation of noise induced hearing loss by carbon monoxide. *Hear Res* 2000; 150 (1-2): 206-14.
- [12] Maltby M. Occupational Audiometry: Monitoring and Protecting Hearing at Work. 1<sup>st</sup> ed. Amsterdam, Boston: Elsevier Butterworth-Heinemann; 2005. p. 4-7.
- [13] Bell L. Industrial noise control. New York: Marcel Dekker, Inc.; 1982. p. 322-6.
- [14] Glasscock ME, Jackson CG, Josey AF. The ABR handbook: auditory brainstem response. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Thieme medical publisher; 1987. p. 4-6.
- [15] Hou F, Wang S, Zhai S, Hu Y, Yang W, He L. Effects of alpha-tocopherol on noise-induced hearing loss in guinea pigs. *Hear Res* 2003; 179: 1-8.
- [16] Khavanin A, Mortazvi SB, Mirzaee R, Imani H, Fatholahi Y, Kazemnejad A, et al. The comparison of effects of toluene, especially noise and toluene along with noise per Auditory Brain stem Response on Rabbit. *Tabib-e-shargh* 1386; 3(9): 171-80. [in Persian]
- [17] Katz J, Burkard FR, Medwetsky L. Handbook of clinical audiology. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002. p. 274-91, 447-560
- [18] Pourbakht A, Yamasoba T. Ebselen attenuates cochlear damage caused by acoustic trauma. *Hear Res* 2003; 181(1-2): 100-8.
- [19] Yamasthita D, Jiang HY, Schacht J, Miller JM. Delayed production of free radicals following noise exposure. *Brain Res* 2004; 1019(1-2): 201-9.
- [20] McFadden SL, Woo JM, Michalak N, Ding D. Dietary vitamin C supplementation reduces noise-induced hearing loss in guinea pigs. *Hear Res* 2005; 202(1-2): 200-8.
- [21] Le Prell CG, Hughes LF, Miller JM. Free radical Scavengers vitamin A, C, and E plus magnesium reduce noise trauma. *Free radical Biology & Medicine* 2007; 42(9): 1454-63.
- [22] Heinrich UR, Feltens R. Mechanisms underlying noise-induced hearing loss. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms* 2006; 3 (1): 131-35
- [23] Roa D, Fechter LD. Protective effects of phenyl-N-tert-butyl nitron on the potentiation of noise-induced hearing loss by carbon monoxide. *Toxicol Appl Pharmacol* 2000; 167(2): 125-31.
- [24] Lacerda A. Noise and carbon monoxide exposure increases hearing loss in workers. ASA/CAA 05 Meeting, Vancouver BC. 2005.
- [25] Chen GD, Fetcher LD. Potentiation of octave-band noise induced auditory impairment by carbon monoxide. *Hear Res* 1999; 132 (1-2): 149-59.
- [26] American Conference of Industrial Hygienist (ACGIH). TLVs & BELs. Cincinnati; 2000. p. 112.