บทที่ 2 ระเบียบวิธีวิจัย

2.1 การออกแบบการวิจัย

การศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาแบบตัดขวางเชิงเปรียบเทียบ (comparative crossectional study) โดยวิเคราะห์ความชุกของความไวทางผิวหนัง และโรคระบบทางเดินหายใจเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุม และศึกษาปริมาณฝุ่นผ้าในบรรยากาศการทำงาน

2.2 ประชากรศึกษาและประชากรควบคุม

ประชากรศึกษาเป็นพนักงานทั้งหมดที่เคยทำงานตั้งแต่เริ่มเปิดแผนกเย็บผ้า โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ในปี พ.ศ. 2524 โดยแบ่งเป็นพนักงานที่ทำงานอยู่ในปัจจุบันจำนวน 18 คน และพนักงานที่ลาออกจากการทำงานหรือเกษียนอายุราชการไปแล้วจำนวน 4 คน

ประชากรควบคุมเป็นแม่บ้านประจำหอผู้ป่วยต่างๆ จำนวน 12 หอผู้ป่วย และพนักงานทำความสะอาด โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ จำนวน 22 คน โดยเลือกจากพนักงานหญิงที่สมัครใจ และมีอายุการทำงานต่างจากพนักงานในแผนกเย็บผ้าไม่เกิน 3 ปี

2.3 ตัวแปรที่เกี่ยวข้องในการวิจัย

ตัวแปรอิสระ ได้แก่ตัวแปรด้านลักษณะข้อมูลทั่วไปของผู้ปฏิบัติงานในแผนกเย็บผ้า ได้แก่ ปริมาณฝุ่นผ้า ระยะเวลาการทำงานในแผนกเย็บผ้า การใช้ผ้าปิดปากและจมูก อายุ เพศ ประวัติการเป็นภูมิแพ้ โรคประจำตัว และประวัติการสูบบุหรี่

ตัวแปรตาม ได้แก่ การเกิดความผิดปรกติของระบบทางเดินหายใจ ได้แก่ ผลการตรวจจากภาพถ่ายรังสีทรวงอก ผลการตรวจสมรรถภาพการทำงานของปอด ผลการทดสอบภูมิแพ้ที่ผิวหนัง ผลการทดสอบปฏิกิริยา IgE ต่อฝุ่นผ้า ผลการตรวจความไวของปอด และอาการอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับความผิดปรกติในระบบทางเดินหายใจจากแบบสัมภาษณ์

2.4 เกณฑ์การวินิจฉัยโรคที่ใช้ในการศึกษา

เกณฑ์การวินิจฉัยโรคในการวิจัยครั้งนี้มีรายละเอียด ดังนี้

ก) เกณฑ์การวินิจฉัยโรค Byssinosis (สมาคมอุรเวชช์แห่งประเทศไทย, 2541)

-มีประวัติการทำงานทั้งในอดีตและปัจจุบันที่เกี่ยวข้องกับการได้รับฝุ่นหรือใยฝ้าย ป่าน ปอ และลินิน เป็นเวลาอย่างน้อย 2 ปี

-มีอาการและอาการแสดง ดังนี้

เกรด 1/2 มีอาการแน่นหน้าอก/ หายใจไม่สะดวก/ ไอเป็นครั้งคราวในบางวันของวันจันทร์ หรือวันแรกของการกลับเข้ามาทำงาน

เกรด 1 มีอาการแน่นหน้าอก/ หายใจไม่สะดวก/ ไอเป็นครั้งคราวทุกวันจันทร์ หรือวันแรกของการกลับเข้ามาทำงาน

เกรด 2 มีอาการแน่นหน้าอก/ หายใจไม่สะดวก/ ไอเป็นครั้งคราวทุกวันจันทร์ หรือวันแรกของการกลับเข้ามาทำงาน และวันอื่นของสัปดาห์ที่ทำงาน

เกรด 3 มีอาการแบบเกรด 2 ร่วมกับการลดลงของสมรรถภาพการทำงานของปอดอย่างถาวร

-มีการตรวจสมรรถภาพการทำงานของปอดด้วยเครื่อง spirometry

ก. ผู้ป่วยที่มีอาการตั้งแต่ เกรด 1/2 ถึง 2 จะต้องตรวจสมรรถภาพการทำงานของปอดอย่างน้อย 2 ครั้ง ในวันแรกของการกลับเข้ามาทำงานของสัปดาห์ คือ ตรวจครั้งแรกก่อนเข้าปฏิบัติงาน และตรวจซ้ำเมื่อปฏิบัติงานต่อเนื่องไปแล้วไม่น้อยกว่า 6-8 ชั่วโมง ผลการตรวจสมรรถภาพการทำงานของปอดทั้ง 2 ครั้งเมื่อนำมาเปรียบเทียบกันพบ FEV_1 ลดลงมากกว่าร้อยละ 10

ข. ผู้ป่วยที่มีอาการอยู่ในเกรด 3 มักมีประวัติการทำงานเกินกว่า 5 ปี และมีสมรรถภาพการทำงานของปอดผิดปรกติในวันที่ไม่ได้ทำงาน โดยมี FEV_1 และ FEV_1 / FVC ลดลงต่ำกว่าร้อยละ 80 และ 75 ของค่าปรกติตามลำดับ

ข) เกณฑ์การวินิจฉัยโรคหอบหืดจากการทำงาน (สมาคมอุรเวชช์แห่งประเทศไทย, 2541; ATS, 1986)

-มีอาการไอ แน่นหน้าอก หายใจมีเสียงหวีด และหอบเหนื่อยซึ่งเกิดขึ้นในขณะทำงาน ในตอนเย็นหรือในเวลากลางคืน โดยอาการหอบหืดเกิดขึ้นเป็นครั้งแรกหลังปฏิบัติงานอยู่ในสถานที่ทำงานไม่ต่ำกว่า 2 สัปดาห์ และอาการหอบหืดหายได้เองหรือหายไปเมื่อได้รับยาขยายหลอดลม

-ผลการทดสอบสมรรถภาพการทำงานของปอดโดยใช้ spirometry โดยทำการหา FEV_1, FVC, FEV_1 /FVC และ PEFR โดยพบว่าค่า FEV_1, FEV_1 / FVC, และ PEFR ลดลง และหลังจากได้ยาขยายหลอดลมแล้ว ค่า FEV_1 เพิ่มขึ้นอย่างน้อย 15 % หรือหากมีการตรวจความไวของปอดด้วย methacholine หรือ histamine เป็นสารกระตุ้นให้หลอดลมตีบในวันทำงานค่า FEV_1 หรือ PEFR ลดลงมากกว่าร้อยละ 20 จากค่าเริ่มต้น

ค) เกณฑ์การวินิจฉัยโรคหลอดลมอักเสบจากการระคายเคืองจากการประกอบอาชีพ (สมาคมอุรเวชช์แห่งประเทศไทย, 2541) การวินิจฉัยต้องใช้ข้อมูลทั้ง 2 ข้อ

1. มีประวัติการทำงานสัมผัสสารก่อโรค
2. มีอาการไอเรื้อรังหลังเข้าทำงานมากกว่า 3 เดือนต่อปี และมีอาการติดต่อกันอย่างน้อย 2 ปี

ง) เกณฑ์การวินิจฉัยโรค allergic alveolitis (Hendrick, 1991)

1. มีประวัติสัมผัสฝุ่นอินทรีย์ที่มีขนาด 1-5 ไมครอน
2. มีอาการและอาการแสดงที่สัมพันธ์กับโรคนี้ได้แก่ มีไข้ ไอ หายใจลำบาก ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ อ่อนเพลีย น้ำหนักลด
3. ผลการตรวจสมรรถภาพการทำงานของปอดเป็นแบบจำกัดการขยายตัว
4. ภาพรังสีทรวงอกพบ pulmonary infiltrates ในรายที่มีอาการเรื้อรังอาจมี pulmonary fibrosis
5. ตรวจพบ IgG หรือ precipitating antibodies positive

จ) เกณฑ์การวินิจฉัย Organic dust toxic syndrome (NIOSH, 1994b)

1. มีอาการปรากฏในเวลา 4-12 ชั่วโมงหลังสัมผัสฝุ่นอินทรีย์
2. มีอาการอ่อนเพลีย ปวดศีรษะ หนาวสั่น ปวดเมื่อยตามตัว ไอ และอาจมีอาการหายใจขัด
3. เสียงปอดมักปรกติ
4. ภาพถ่ายรังสีทรวงอกมักปรกติ
5. ผลการตรวจสมรรถภาพการทำงานของปอดลดลงกว่าปรกติ
6. พบเม็ดเลือดขาวมากกว่าปรกติ
7. มักตรวจไม่พบ antibodies ที่สัมพันธ์กับการเกิด allergic lung disease

ฉ) เกณฑ์การวินิจฉัย Mucous Membrane Irritation (WHO, 1977 quoted in Haublein, *et al.*, 1983)

-มีอาการ คัดจมูก จาม ไอ มีน้ำมูก ระคายเคืองตา คันตา

2.5 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

ก) แบบสัมภาษณ์

แบบสัมภาษณ์ ได้มาจากการดัดแปลงแบบสอบถามที่ใช้ค้นหาความผิดปรกติในทางเดินหายใจตามแนวของสภาวิจัยทางการแพทย์แห่งบริเทน (BMRC) และแบบสอบถามโรคหืดจากการ

ประกอบอาชีพของ NIOSH (BMRC, 1960 อ้างจาก โยธิน เบญจวัง, 2538; NIOSH, 1998c) ร่วมกับการใช้เกณฑ์การวินิจฉัยโรคระบบทางเดินหายใจ (รายละเอียดของแบบสัมภาษณ์อยู่ในภาคผนวก) แบบสัมภาษณ์แบ่งเป็น 11 หมวด ดังนี้

- หมวด a ข้อมูลทั่วไป
- หมวด b ประวัติอาชีพ
- หมวด c ประวัติการสูบบุหรี่
- หมวด d ประวัติการเจ็บป่วยด้วยโรคปอดหรือโรคอื่น ๆ
- หมวด e ประวัติการไอ
- หมวด f อาการมีเสมหะในคอ
- หมวด g ประวัติการแน่นหน้าอก
- หมวด h ประวัติการหายใจเสียงดังหวีด ๆ
- หมวด i ประวัติการจาม คันจมูก คัดจมูก น้ำมูกไหล
- หมวด j อาการทางด้านเยื่อบุตา
- หมวด k อาการทางด้านผิวหนัง

ข) วิธีการและขั้นตอนการเก็บตัวอย่างสิ่งแวดล้อม (Environmental monitoring)

วิธีการเก็บตัวอย่างทางสิ่งแวดล้อม ในแผนกเย็บผ้า โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ แบ่งเป็น 2 ครั้ง ได้แก่ การเก็บตัวอย่างก่อนเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อม โดยทำการเก็บตัวอย่างฝุ่นทั้งหมด ฝุ่นขนาดเล็กกว่า 10 ไมครอน และฝุ่นฝ้ายในเดือนธันวาคม 2542 ถึง เดือนมกราคม 2543 หลังจากนั้นได้มีการปรับปรุงสิ่งแวดล้อมการทำงานในแผนกเย็บผ้าให้มีการระบายอากาศที่ดีขึ้น จึงทำการเก็บตัวอย่างฝุ่นฝ้ายซ้ำในเดือน กรกฎาคม 2543 เนื่องจากผลการวัดปริมาณฝุ่นฝ้ายก่อนเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อมสูงกว่ามาตรฐาน (ACGIH, 1996)

<u>การวัดปริมาณฝุ่นทั้งหมด (total dust)</u>

การวัด total dust ในการวิจัยครั้งนี้ใช้เทคนิค gravimetric ตาม NIOSH Method : 0500 โดยใช้เครื่องเก็บตัวอย่างอากาศ (personal sampling pump) ที่มีอัตราการไหลของอากาศ 2 ลิตรต่อนาที $\pm$ 5 % เก็บตัวอย่าง 2 ซ้ำ ใช้กระดาษกรองที่ทำด้วย PVC มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของกระดาษกรอง 37 มิลลิเมตร มีขนาดรูของกระดาษกรอง (pore size) 5 ไมครอน (NIOSH,1994a)

วิธีการวัดปริมาณฝุ่นทั้งหมดประกอบด้วยการปรับมาตรฐานความถูกต้องของอัตราการไหลของอากาศ และวิธีการเก็บตัวอย่างอากาศดังนี้

1. การปรับมาตรฐานความถูกต้องของอัตราการไหลของอากาศ (Calibration)

ในการวิจัยครั้งนี้เลือกใช้การปรับมาตรฐานความถูกต้องของอัตราการไหลของอากาศแบบบับเบิลมิเตอร์ (soap-bubble calibrators) โดยทำการปรับมาตรฐานความถูกต้องทุกวันก่อนเก็บตัวอย่างอากาศซึ่งมีเครื่องมือและวิธีการดังต่อไปนี้

1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- ชุดอุปกรณ์สำหรับ calibrate (optiflow model 655) 1 ชุด
- สายพลาสติก
- น้ำสบู่
- กระดาษกรองและตลับยึดกระดาษกรองแบบ 2 ชั้น
- ข้อต่อ
- ปั๊มดูดอากาศสำหรับเก็บตัวอย่างอนุภาค (particulate sampling pump)
- ปากกา ดินสอ
- กระดาษกาว
- กรรไกร
- แบบบันทึกการปรับความถูกต้อง

1.2 วิธีการปรับความถูกต้องของอัตราการไหลของอากาศ (Calibration)

- จัดชุดอุปกรณ์ปรับความถูกต้องโดยใช้น้ำสบู่ฉีดล้างภายในหลอดแก้วของชุดอุปกรณ์สำหรับ calibrate ให้ทั่ว และให้น้ำสบู่เหลือค้างอยู่ในกระเปาะของจุกยางเพื่อเตรียมไว้สำหรับทำการ calibrate
- ต่อสายพลาสติกเข้าระหว่างด้านหลังของตลับบรรจุกระดาษกรองกับช่องอากาศเข้าของปั๊มดูดอากาศและต่อสายพลาสติกที่บริเวณรอยต่อของชุดอุปกรณ์สำหรับปรับอัตราการไหลของอากาศเข้ากับด่านหน้าของตลับบรรจุกระดาษกรองบริเวณช่องสำหรับให้อากาศเข้า (Air inlet)

- เดินเครื่องปั๊มดูดอากาศ แล้วบีบจุกยางเพื่อไล่ฟองสบู่ให้เคลื่อนที่จะเห็นฟองสบู่เคลื่อนที่ลอยขึ้นในหลอดแก้วตามแรงดูดของปั๊ม ทำจนแน่ใจว่าฟองสบู่เคลื่อนไปจนสุดหลอดแก้วโดยไม่แตกเสียก่อน อ่านค่าอัตราการไหลของอากาศซึ่งเป็นแบบ digital หากอัตราการไหลของอากาศไม่อยู่ในช่วง 2 ลิตรต่อนาที $\pm$ 5 % ปรับให้อยู่ในช่วงดังกล่าวโดยใช้ปุ่ม adjust flow rate และทำเครื่องหมายหรือบันทึกขีดแสดงตำแหน่งลูกลอยของโรตามิเตอร์ไว้

2. ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างฝุ่นทั้งหมด

ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างฝุ่นทั้งหมด ได้แก่ การประกอบอุปกรณ์เครื่องมือ การประกอบตลับบรรจุกระดาษกรอง วิธีการเก็บตัวอย่าง การขนส่งตัวอย่างสู่ห้องปฏิบัติการ ซึ่งในแต่ละขั้นตอนมีวิธีปฏิบัติ ดังต่อไปนี้ (สมเดช วัฒนศรี, 2531 ; Bisesi and Kohn, 1995)

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ เครื่องมือและอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างฝุ่นทั้งหมดเหมือนกับเครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับทำการปรับความถูกต้องของอัตราการไหลของอากาศดังกล่าวแล้วข้างต้น และมีเครื่องมือและอุปกรณ์เพิ่มเติมดังนี้

- ปั๊มดูดอากาศขนาดเล็กจำนวน 5 ตัว พร้อมเต้าเสียบสำหรับ charge แบตเตอรี่
- นาฬิกาจับเวลา
- แบบบันทึกการเก็บตัวอย่างอากาศ
- ขาตั้งเครื่องมือเก็บฝุ่น

2.2 การประกอบตลับบรรจุกระดาษกรอง มีขั้นตอนปฏิบัติ ดังนี้

- คลายตลับบรรจุกระดาษกรองชนิด 2 ตอนออก
- วางแผ่นรองรับกระดาษกรองลงในตลับบรรจุกระดาษกรอง และนำไปดูดความชื้นในโถดูดความชื้นซึ่งมีสารดูดความชื้น (siliga gel) บรรจุอยู่เป็นเวลาอย่างน้อย 2 ชั่วโมงโดยเปิดฝาปิดกระดาษกรองออกขณะดูดความชื้น
- ชั่งน้ำหนักกระดาษกรองด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักที่มีความละเอียดทศนิยม 5 ตำแหน่ง เตรียมไว้สำหรับเก็บตัวอย่างและทำตลับควบคุม

- วางกระดาษกรองที่ชั่งน้ำหนักแล้วลงบนแผ่นรองรับกระดาษกรองในตลับบรรจุกระดาษกรอง
- บันทึกค่าน้ำหนักของกระดาษกรองที่ชั่งได้ และหมายเลขตลับบรรจุกระดาษกรอง
- ประกอบตลับบรรจุกระดาษกรองเข้าที่เดิมโดยใช้แรงกดให้แน่น
- ปิดจุกบนและล่างของตลับบรรจุกระดาษกรอง
- ใช้กระดาษกาวหรือแถบรัดคาดเพื่อปิดรอยต่อของตลับบรรจุกระดาษกรองชนิด 2 ตอนแบบปิดหน้าให้มิดชิด

2.3 วิธีการเก็บตัวอย่างฝุ่นทั้งหมด มีดังนี้

- ทำความสะอาดอุปกรณ์เครื่องมือ และเตรียมเครื่องมือให้พร้อม ทำการ charge แบตเตอรี่ของปั๊มดูดอากาศทุกเครื่องให้เต็มก่อนทำการปรับมาตรฐานความถูกต้องแต่ละวัน
- ทำการปรับมาตรฐานความถูกต้องของปั๊มดูดอากาศให้อยู่ในช่วง 2 ลิตรต่อนาที $\pm$5 % ก่อนเก็บตัวอย่างทุกวัน และทำสัญลักษณ์บอกขีดแสดงตำแหน่งลูกลอยของโรตามิเตอร์ไว้
- ติดตั้งเครื่องมือเก็บตัวอย่างอากาศในบริเวณที่ทำงานทั่วไป (general area sampling) ในแผนกเย็บผ้า โดยทำการเก็บตัวอย่างในช่วงเช้าเวลา 8.15-12.00 น. และปิดเครื่องเก็บตัวอย่างเมื่อหยุดพักกลางวันเวลา 12.00-13.00 น. และเก็บตัวอย่างต่อในช่วงบ่ายเวลา 13.00-16.45 น. การเก็บตัวอย่างในช่วงบ่ายใช้จุดเก็บตัวอย่างจุดเดียวกับช่วงเช้าแต่เปลี่ยนกระดาษกรองใหม่เพื่อให้การเก็บตัวอย่างฝุ่นทั้งหมดเป็นตัวแทนของช่วงเช้าและบ่าย และสามารถนำมาคำนวณหา TWA ได้ การติดตั้งเครื่องเก็บตัวอย่างฝุ่นทั้งหมดมี 5 จุดเก็บตัวอย่าง ดังภาพประกอบ 2.1 และทำการเก็บตัวอย่าง 2 ซ้ำ ดังตาราง 2.1 ซึ่งการเก็บตัวอย่างฝุ่นทั้งหมดในการวิจัยครั้งนี้เป็นแบบ consecutive samples for full period (วันทนีย์ พันธุ์ประสิทธิ์, 2541) เตรียมกระดาษกรองสำหรับเก็บตัวอย่างที่ผ่านการดูดความชื้นและชั่งน้ำหนักมาแล้วโดยเปิดจุกบนและล่างที่ปิดตลับบรรจุกระดาษกรองไว้ออกและต่อสายพลาสติกเข้าระหว่างด้านหลังของตลับบรรจุกระดาษกรองกับช่องอากาศเข้าของปั๊มดูดอากาศ และนำไปติดกับขาตั้งโดยติดตั้งขาตั้งวางเครื่องมือเก็บตัวอย่างให้มีความสูงประมาณ 1 เมตร (ระดับจมูกของผู้ปฏิบัติงานขณะนั่งตัดเย็บผ้า) ติดตั้งชุดเครื่องมือเก็บตัวอย่างโดยตั้งให้ตลับใส่กระดาษกรองหน้าคว่ำเล็กน้อยเพื่อป้องกันลมพัดฝุ่นเข้ากระดาษกรองโดยแรงลมเอง (สราวุธ สุธรรมาสา, 2534) จากนั้นเปิดเครื่องปั๊มดูดอากาศจดเวลาเริ่มต้นในแบบบันทึกการเก็บตัวอย่างอากาศ

- คอยสังเกตการทำงานของปั๊มดูดอากาศเป็นระยะๆ ทุก 30 นาทีเพื่อดูว่าอัตราไหลของอากาศที่ตั้งไว้เปลี่ยนแปลงไปหรือไม่ หากมีการเปลี่ยนแปลงให้ปรับให้ตรงกับขีดของโรตามิเตอร์ที่ทำสัญลักษณ์ไว้ หรือทำการปรับความถูกต้องของปั๊มดูดอากาศขนาดเล็กใหม่
- เมื่อสิ้นสุดการเก็บตัวอย่าง ปิดเครื่องปั๊มดูดอากาศ บันทึกเวลาสิ้นสุดไว้
- เช็ดทำความสะอาดปั๊มและอุปกรณ์อื่น ๆ และเก็บใส่ภาชนะบรรจุให้เรียบร้อย

2.4 การเก็บตัวอย่างสู่ห้องปฏิบัติการ การเก็บตัวอย่างสู่ห้องปฏิบัติการควรถอดตลับบรรจุกระดาษกรองด้วยความระมัดระวัง เพื่อป้องกันไม่ให้ฝุ่นร่วงลงมา ปิดจุกพลาสติกทั้งด้านบนและด้านล่างของตลับ และปิดเทปกระดาษกาวให้แน่น

2.5 การควบคุมคุณภาพในการเก็บตัวอย่างฝุ่นทั้งหมด (Quality control) Quality control ในการเก็บตัวอย่างฝุ่นทั้งหมดในการวิจัยครั้งนี้ คือ ตลับควบคุม (blank cassette) การเตรียมตลับควบคุมใช้กระดาษกรองที่ผ่านการดูดความชื้นและชั่งน้ำหนักพร้อมกับกระดาษกรองที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างซึ่งได้บรรจุใส่ตลับบรรจุกระดาษกรองแบบ 2 ชั้นไว้แล้วมาวางบริเวณที่เก็บตัวอย่างฝุ่นโดยไม่ต้องเปิดให้อากาศเข้า ใช้ตลับควบคุม 1 ตลับต่อการเก็บตัวอย่างจำนวน 10 ตัวอย่าง

2.6 การวิเคราะห์น้ำหนักฝุ่นทั้งหมด

การวิเคราะห์น้ำหนักฝุ่นทั้งหมด ประกอบด้วย การชั่งน้ำหนักหลังเก็บตัวอย่าง การคำนวณปริมาตรอากาศ การคำนวณความเข้มข้นของฝุ่น และการเปรียบเทียบความเข้มข้นฝุ่นที่ได้จากการเก็บตัวอย่างกับมาตรฐาน ซึ่งมีรายละเอียด ดังนี้

- การชั่งน้ำหนักหลังเก็บตัวอย่าง

นำตลับบรรจุกระดาษกรองที่เก็บตัวอย่างเรียบร้อยแล้วไปชั่งน้ำหนักฝุ่นที่ศูนย์อนามัยสิ่งแวดล้อมเขต 12 สงขลา โดยการชั่งน้ำหนักกระดาษกรองอีกครั้งหลังเก็บตัวอย่าง โดยนำกระดาษกรองที่เก็บฝุ่นแล้วและกระดาษกรองในตลับควบคุม ไปเข้าตู้ดูดความชื้นอย่างน้อย 2 ชั่วโมงก่อนที่จะทำการชั่งน้ำหนัก

- การคำนวณปริมาตรอากาศ

การคำนวณปริมาตรอากาศ ใช้สูตร

ปริมาตรอากาศทั้งหมด = อัตราการไหลของอากาศ X จำนวนเวลาทั้งหมดที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง

การคำนวณความเข้มข้นของฝุ่นโดยสูตร TWA $= \Sigma T_i C / T_{total}$

เมื่อ T_i = ระยะเวลาที่ผู้ปฏิบัติงานทำงานในบริเวณ i (หน่วยเป็นชั่วโมง)

C_i = ความเข้มข้นของฝุ่นของฝุ่นในบริเวณ i

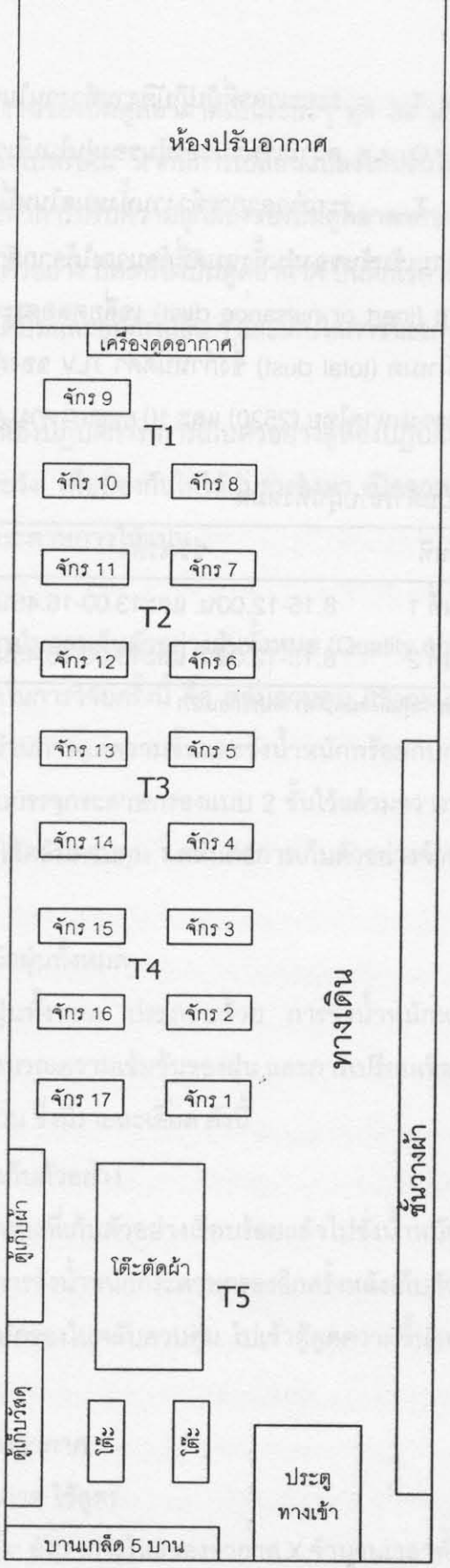
T_{total} = ระยะเวลาการทำงานทั้งหมดในหนึ่งกะ (หน่วยเป็นชั่วโมง)

- เปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของฝุ่นทั้งหมดที่คำนวณได้จากตัวอย่างกับค่ามาตรฐานฝุ่นที่ก่อให้เกิดความรำคาญ (inert or nuisance dust) เฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทำงานปกติ (8 ชั่วโมง) ประเภทฝุ่นทั้งหมด (total dust) ซึ่งกำหนดค่า TLV ของฝุ่นทั้งหมดไว้ไม่เกิน 15 mg/m^3 ตามประกาศกระทรวงมหาดไทย (2520) และ 10 mg/m^3 ตาม ACGIH (1996) ตามลำดับ

ตาราง 2.1 การออกแบบการเก็บฝุ่นทั้งหมด

จำนวนซ้ำ	วันที่	ช่วงเวลา	จุดที่เก็บตัวอย่าง
ซ้ำที่ 1	วันที่ 1	8.15-12.00น. และ13.00-16.45น.	T1,T2,T3,T4,T5
ซ้ำที่ 2	วันที่ 2	8.15-12.00น. และ13.00-16.45น.	T1,T2,T3,T4,T5

T1-T5 แทนจุดเก็บตัวอย่างฝุ่นทั้งหมด ดังภาพประกอบ 2.1



ภาพประกอบ 2.1 แผนผังจุดเก็บตัวอย่างฝุ่นทั้งหมดในแผนกเย็บผ้า โรงพยาบาลสงขลานครินทร์

การวัดปริมาณฝุ่นขนาดเล็กกว่า 10 ไมครอน (respirable dust)

การวัด respirable dust ในการวิจัยครั้งนี้ใช้เทคนิค gravimetric ตาม NIOSH Method : 0600 อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างใช้ไซโคลนขนาดเล็ก ใช้กระดาษกรองที่ทำด้วย PVC ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกระดาษกรอง 37 มิลลิเมตร มีรูของกระดาษกรอง 5 ไมครอน ใช้ปั๊มดูดอากาศส่วนบุคคลที่มีอัตราการไหลของอากาศ 1.7 ลิตรต่อนาที ± 5 % (NIOSH, 1998a) การปรับความถูกต้องของอัตราการไหลของอากาศและการเก็บตัวอย่างคล้ายคลึงกับการวัดปริมาณฝุ่นทั้งหมด แตกต่างกันตรงที่มีไซโคลนขนาดเล็กเพิ่มมาด้วย ดังรายระเอียดต่อไปนี้

1. การปรับมาตรฐานความถูกต้องของอัตราการไหลของอากาศ (Calibration)

ในการวิจัยครั้งนี้ทำการปรับมาตรฐานความถูกต้องของอัตราการไหลของอากาศที่ผ่านจากปั๊มดูดอากาศเข้าสู่ไซโคลนขนาดเล็ก แบบบับเบิลมิเตอร์ (soap-bubble calibrators) ซึ่งมีเครื่องมือและวิธีการปรับความถูกต้องของอัตราการไหลของอากาศ ดังนี้

1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ในการปรับความถูกต้องของอัตราการไหลของอากาศ

- ชุดอุปกรณ์สำหรับ calibrate (optiflow model 655) จำนวน 1 ชุด
- ข้อต่อและขวดปิดมิดชิดขนาด 1 ลิตร
- ไซโคลนขนาดเล็ก
- อุปกรณ์อื่นๆ เหมือนกับการปรับความถูกต้องของอัตราการไหลของอากาศของเครื่องมือเก็บตัวอย่างมลพิษทางอากาศที่เป็นฝุ่นทั้งหมด แต่ใช้ตลับบรรจุกระดาษกรองแบบ 3 ชั้น แทนแบบ 2 ชั้น

1.2 วิธีการปรับความถูกต้องของอัตราการไหลของอากาศ มีดังนี้

เจาะรูฝาขวดขนาด 1 ลิตร จำนวน 2 รู ใส่สายพลาสติกจำนวน 2 เส้นลงในรูที่เจาะไว้ แล้วนำตลับบรรจุกระดาษกรองที่ยึดติดกับไซโคลนแล้ววางลงในขวดขนาด 1 ลิตร แล้วต่อปลายที่ว่างของสายพลาสติกที่ไซโคลนผ่านช่องเปิดออกของขวดขนาด 1 ลิตร และใช้ปลายสายพลาสติกที่ว่างอยู่ต่อกับปั๊มดูดอากาศ หลังจากนั้นใช้ปลายสายพลาสติกที่ว่างอยู่อีก 1 สายต่อกับชุด อุปกรณ์สำหรับ calibrate (optiflow model 655) หลังจากนั้นทำการปรับความถูกต้องของอัตราการไหลของอากาศต่อโดยใช้วิธีการเดียวกับการปรับความถูกต้องของอัตราการไหลของอากาศในการวัดปริมาณฝุ่นทั้งหมด (Bisesi and Kohn, 1995)

2. ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างมลพิษทางอากาศประเภทฝุ่นขนาดเล็กกว่า 10 ไมครอน

- บรรจุกระดาษกรองใส่ตลับบรรจุกระดาษกรองแบบ 3 ชั้น และประกอบตลับบรรจุกระดาษกรองเข้ากับกับไซโคลนขนาดเล็ก แล้วต่อกับปั๊มดูดอากาศที่ผ่านการปรับความถูกต้องของอัตราการไหลของอากาศ และผ่านการประจุไฟแล้วก่อนเก็บตัวอย่างในแต่ละวัน
- นำชุดอุปกรณ์ที่ประกอบเสร็จไปติดตั้งที่ตัวผู้ปฏิบัติงาน สำหรับการวิจัยครั้งนี้ทำการเก็บตัวอย่างโดยติดตั้งเครื่องเก็บตัวอย่างอากาศและไซโคลนขนาดเล็กที่ตัวบุคคลในช่วงเช้าใน ช่วงเวลา 8.15-10.00 น. และช่วงเวลา 10.15-12.00 น. ในช่วงบ่ายเก็บตัวอย่างช่วงเวลา 13.00-15.00 น. และช่วงเวลา 15.15-16.45 น. (ช่วงเวลานอกจากนี้เป็นเวลาพักกลางวันและเวลาพักรับประทานอาหารว่าง) โดยติดตั้งเครื่องมือเก็บตัวอย่างฝุ่นขนาดเล็กกว่า 10 ไมครอนที่ตัวพนักงานซึ่งทำงานสัมผัสฝุ่นผ้า อยู่ในแผนกเย็บผ้า ในปัจจุบัน จำนวน 18 คน เก็บตัวอย่าง 2 ซ้ำ มีไซโคลนขนาดเล็กจำนวน 3 ตัว ไซโคลนแต่ละตัว ใช้เก็บตัวอย่างฝุ่นได้ 2 คนต่อวัน โดยการเก็บตัวอย่าง 1 คน เลือกเก็บตัวอย่างในช่วงเช้า 1 ช่วงเวลา และบ่ายอีก 1 ช่วงเวลา ทำการเปลี่ยนกระดาษกรองในการเก็บตัวอย่างช่วงเช้าและบ่าย และนำมาหา TWA ใช้เวลาในการเก็บตัวอย่างนาน 6 วัน ดังตาราง 2.2 ซึ่งเป็นการเก็บตัวอย่างฝุ่นแบบ consecutive samples for partial period (วันทนีย์ พันธุ์ประสิทธิ์, 2541)
- เปิดเครื่องปั๊มดูดอากาศ จดเวลาเริ่มต้นในแบบบันทึกการเก็บตัวอย่างอากาศ
- คอยสังเกตการทำงานของปั๊มดูดอากาศเป็นระยะๆ ทุก 30 นาทีโดยดูจากขีดของโรตามิเตอร์ และปรับอัตราการไหลของอากาศให้ได้ 1.7 ลิตรต่อนาที $\pm$ 5 % ตลอดช่วงของการเก็บตัวอย่าง
- ดำเนินการต่อเช่นเดียวกับการหาปริมาณฝุ่นทั้งหมด

3. การควบคุมคุณภาพในการเก็บตัวอย่างฝุ่นขนาดเล็กกว่า 10 ไมครอน (Quality control)

Quality control ในการเก็บตัวอย่างฝุ่นขนาดเล็กกว่า 10 ไมครอน ในการวิจัยครั้งนี้ คือ ตลับควบคุม (blank cassette) การเตรียมตลับควบคุมใช้กระดาษกรองที่ผ่านการดูดความชื้นและชั่งน้ำหนักพร้อมกับกระดาษกรองที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างซึ่งได้บรรจุใส่ตลับบรรจุกระดาษกรองแบบ 3 ชั้น เอาไว้มาวางบริเวณที่เก็บตัวอย่างฝุ่นโดยไม่ต้องเปิดให้อากาศเข้า ใช้ตลับควบคุม 1 ตลับต่อการเก็บตัวอย่างจำนวน 10 ตัวอย่าง

4. การวิเคราะห์น้ำหนักฝุ่นขนาดเล็กกว่า 10 ไมครอน

การวิเคราะห์น้ำหนักฝุ่นขนาดเล็กกว่า 10 ไมครอนใช้วิธีการและสูตรในการคำนวณหาความเข้มข้นของฝุ่นเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ฝุ่นทั้งหมด แล้วนำค่าความเข้มข้นของฝุ่นขนาดเล็กกว่า 10 ไมครอนที่คำนวณได้จากตัวอย่างเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานฝุ่นที่ก่อให้เกิดความรำคาญ (inert or nuisance dust) ประเภทฝุ่นขนาดเล็กที่สามารถเข้าถึงและสะสมในถุงลมปอดได้ (respirable dust) ตามประกาศกระทรวงมหาดไทย (2520) และ ACGIH (1996) ซึ่งกำหนดค่า TLV ของฝุ่นขนาดเล็กกว่า 10 ไมครอนไว้ไม่เกิน 5 mg/m^3 และ 3 mg/m^3 ตามลำดับ และสรุปว่าฝุ่นขนาดเล็กกว่า 10 ไมครอนที่ได้จากการตรวจวัดเกินมาตรฐานหรือไม่

ตาราง 2.2 การออกแบบการเก็บฝุ่นขนาด < 10 ไมครอน

จำนวนซ้ำ	วันที่	ช่วงเวลา	
		8.15-10.00 น. และ 13.00-15.00 น.	10.15-12.00 น และ 15.15-16.45 น.
ซ้ำที่ 1	วันที่ 1	คนที่ 1, 2, 3	คนที่ 4, 5, 6
	วันที่ 2	คนที่ 7, 8, 9	คนที่ 10, 11, 12
	วันที่ 3	คนที่ 13, 14, 15	คนที่ 16, 17, 18
ซ้ำที่ 2	วันที่ 4	คนที่ 1, 2, 3	คนที่ 4, 5, 6
	วันที่ 5	คนที่ 7, 8, 9	คนที่ 10, 11, 12
	วันที่ 6	คนที่ 13, 14, 15	คนที่ 16, 17, 18

<u>การวัดปริมาณฝุ่นฝ้าย</u>

ในการวิจัยครั้งนี้ทำการวัดฝุ่นฝ้ายเนื่องจากปัจจุบันยังไม่มีเครื่องมือสำหรับวัดฝุ่นผ้าโดยตรงและฝุ่นผ้าในแผนกเย็บผ้า โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ เป็นฝุ่นจากการตัดผ้าฝ้ายทั้งหมด การวัดฝุ่นฝ้ายจึงน่าจะเป็นตัวแทนที่ดีของฝุ่นผ้าได้ ในการตรวจวัดใช้เครื่องมือและวิธีการตรวจวัดเช่นเดียวกับการตรวจวัดฝุ่นฝ้ายคือ Vertical Elutriator แบบมาตรฐาน ซึ่งสามารถแยกขนาดฝุ่นและเส้นใยที่มีขนาด 15 ไมครอนและเล็กกว่านั้น โดยการออกแบบให้มีการดูดหรือเคลื่อนอากาศที่ปนเปื้อนด้วยอนุภาคฝุ่นฝ้ายให้ไหลผ่านเข้าสู่ห้องแยกขนาดฝุ่น ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 152.4 มิลลิเมตร ด้วยอัตราการไหลของอากาศ 7.4 ลิตรต่อนาที $\pm$ 5 % ใช้กระดาษกรองที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 37 มิลลิเมตร มีรูของกระดาษกรอง (pore size) 5 ไมครอน (ACGIH,1995) วิธีการเก็บตัวอย่างฝุ่นฝ้ายมีดังนี้

1. การปรับมาตรฐานความถูกต้องของอัตราการไหลของอากาศ (Calibration)

ในการวิจัยครั้งนี้เลือกใช้การปรับมาตรฐานความถูกต้องของอัตราการไหลของอากาศแบบบับเบิลมิเตอร์ (soap-bubble calibrators) โดยทำการปรับมาตรฐานความถูกต้องของอัตราการไหลของอากาศที่ผ่าน critical orifice ให้อัตราการไหลของอากาศเป็น 7.4 ลิตรต่อนาที ± 5 %ใช้ Accuflow digital calibration ซึ่งเป็น electronic calibrator สำหรับปรับมาตรฐานความถูกต้องของอัตราการไหลของอากาศที่ผ่าน critical orifice โดยมีเครื่องมือและวิธีการปรับมาตรฐานความถูกต้องของอัตราการไหลของอากาศ มีดังนี้

1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการปรับความถูกต้องของอัตราการไหลของอากาศ

- Accuflow digital calibration ซึ่งเป็น electronic calibrator
- ปั๊มดูดอากาศด้วยอัตราการไหลของอากาศสูง (high flow-pump)
- critical orifice
- ตลับบรรจุกระดาษกรองแบบ 3 ชั้น
- กระดาษกรองสำหรับเก็บตัวอย่างใยฝ้ายชนิด PVC ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกระดาษกรอง 37 มิลลิเมตร และขนาดรูของกระดาษกรอง 5 ไมครอน
- ตลับสายไฟพ่วง สายยาง เซือก และอื่น ๆ

1.2 วิธีการปรับความถูกต้องของอัตราการไหลของอากาศ ทำการปรับความถูกต้องของอัตราการไหลของอากาศ เช่นเดียวกับวิธีการที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างฝุ่นทั้งหมด โดยต่อตลับบรรจุกระดาษกรองแบบ 3 ชั้นด้านรูเปิดให้อากาศเข้า (air inlet) เข้ากับปั๊มดูดอากาศซึ่งมี critical orifice เชื่อมต่ออยู่ด้วย และต่อรูเปิดของกระดาษกรองอีกด้านหนึ่งกับ Accuflow digital calibration และทำการ calibrate ให้อัตราการไหลของอากาศที่ผ่าน critical orifice เป็น 7.4 ลิตรต่อนาที ± 5 % โดยใช้บับเบิ้ลมิเตอร์

2. ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างฝุ่นฝ้าย ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างฝุ่นฝ้ายมีคล้ายคลึงกับการเก็บตัวอย่างฝุ่นทั้งหมด และการเก็บตัวอย่างฝุ่นขนาดเล็กกว่า 10 ไมครอน ซึ่งในแต่ละขั้นตอนมีรายละเอียด ดังนี้

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างฝุ่นฝ้าย

- เครื่องมือ Vertical Elutriators 1 ชุด
- ปั๊มดูดอากาศด้วยอัตราการไหลของอากาศสูง (high flow-pump)
- ขาตั้งสำหรับแขวนเครื่องมือ Vetical Elutriators 1 ชุด
- นาฬิกาจับเวลา 1 เรือน
- เครื่องชั่งไฟฟ้าที่สามารถอ่านค่าได้ถึงทศนิยม 5 ตำแหน่ง
- โถดูดความชื้น (dessicator) 1 โถ พร้อมสารดูดความชื้น
- ตลับบรรจุกระดาษกรองแบบ 3 ชั้น
- กระดาษกรองสำหรับเก็บตัวอย่างฝุ่นฝ้ายชนิด PVC ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกระดาษกรอง 37 มิลลิเมตร ขนาดรูของกระดาษกรอง 5 ไมครอน
- critical orifice
- ตลับสายไฟพ่วง สายยาง เชือก และอื่นๆ

2.2 วิธีการเก็บตัวอย่างฝุ่นฝ้าย

- เตรียมเครื่องมือและอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างฝุ่นฝ้ายให้พร้อม
- เปิดจุกปิดตลับบรรจุกระดาษกรองชนิด 3 ตอนทั้งบนและล่างออก แล้วสวมตลับบรรจุกระดาษกรองโดยคว่ำหน้าตลับบรรจุกระดาษกรองลงบนช่องเปิดตอนบนของอิลูทริเอเตอร์ให้แน่นพอสมควร
- ใช้กระดาษกาวหรือแถบรัดที่เหมาะสมพันรอยต่อ เพื่อป้องกันการรั่วของรอยต่อ
- เปิดจุกล่างของตลับบรรจุกระดาษกรองและต่อสายยางที่มาจากเครื่องดูดอากาศของอุปกรณ์เครื่องมือ ซึ่งมี critical orifice ต่ออยู่ด้วย
- ติดตั้งเครื่องมือ Vertical Elutriators 5 จุด ดังภาพประกอบที่ 2.2 แล้วเก็บตัวอย่างช่วงเช้าเวลา 8.15-10.00 น. และในช่วงเวลา 10.15-12.00 น. ในช่วงบ่ายเก็บตัวอย่างช่วงเวลา 13.00-15.00 น. และช่วงเวลา 15.15-16.45 น. (ช่วงเวลานอกจากนี้เป็นเวลาพักกลางวันและเวลาพักรับประทานอาหารว่าง) เก็บตัวอย่างจำนวน 2 ซ้ำ โดยการเก็บตัวอย่าง 1 จุดเลือกเก็บตัวอย่างช่วงเช้า 1 ช่วงเวลา และบ่ายอีก 1 ช่วงเวลา ทำการเปลี่ยนกระดาษกรองในการเก็บตัวอย่างช่วงเช้าและบ่าย ซึ่งเป็นการเก็บตัวอย่างแบบ consecutive samples for partial period ดังแสดงในตาราง 2.3
- บันทึกเวลาเริ่มต้นเดินเครื่องดูดอากาศ และ หมายเลขของตลับบรรจุกระดาษกรอง

- การนำกระดาษกรองสู่ห้องปฏิบัติการ การชั่งน้ำหนักกระดาษกรองหลังเก็บตัวอย่าง การคำนวณปริมาตรอากาศ การคำนวณความเข้มข้นของฝุ่นฝ้ายทำเช่นเดียวกับวิธีการที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างฝุ่นทั้งหมดดังกล่าวแล้วข้างต้น

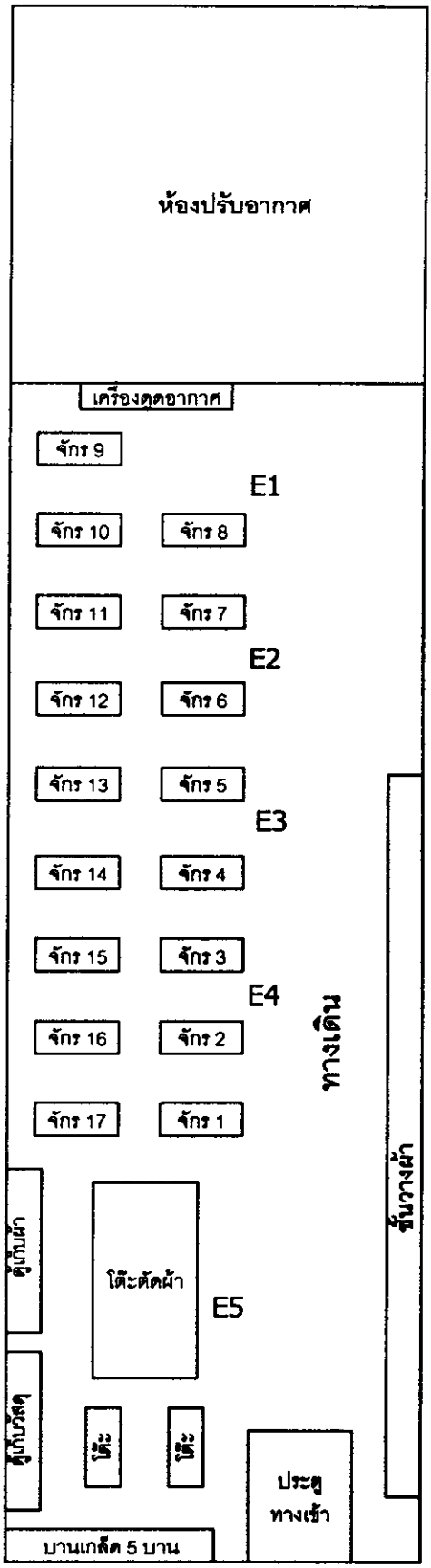
3. การควบคุมคุณภาพในการเก็บตัวอย่างฝุ่นฝ้าย (Quality control) การควบคุมคุณภาพในการเก็บตัวอย่างฝุ่นฝ้าย ใช้วิธีการเดียวกับการควบคุมคุณภาพในการเก็บตัวอย่างฝุ่นทั้งหมด

4. การวิเคราะห์น้ำหนักฝุ่นฝ้าย การนำกระดาษกรองสู่ห้องปฏิบัติการ การชั่งน้ำหนักกระดาษกรองหลังเก็บตัวอย่าง การคำนวณปริมาตรอากาศ การคำนวณความเข้มข้นของฝุ่นฝ้ายทำเช่นเดียวกับวิธีการที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างฝุ่นทั้งหมดดังกล่าวแล้วข้างต้น เมื่อคำนวณความเข้มข้นของฝุ่นฝ้ายที่ได้จากการเก็บตัวอย่างแล้วนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานความเข้มข้นของฝุ่นฝ้ายที่ได้จากการเก็บโดยใช้ Vertical Elutriators ตามประกาศกระทรวงมหาดไทย (2520) และ ACGIH (1996) ซึ่งกำหนดค่า TLV ของฝุ่นฝ้ายดิบไว้ไม่เกิน 1 mg/m^3 และ 0.2 mg/m^3 ตามลำดับ และสรุปว่าฝุ่นฝ้ายซึ่งเป็นตัวแทนของฝุ่นจากการตัดผ้าในแผนกเย็บผ้าโรงพยาบาลสงขลานครินทร์เกินมาตรฐานหรือไม่

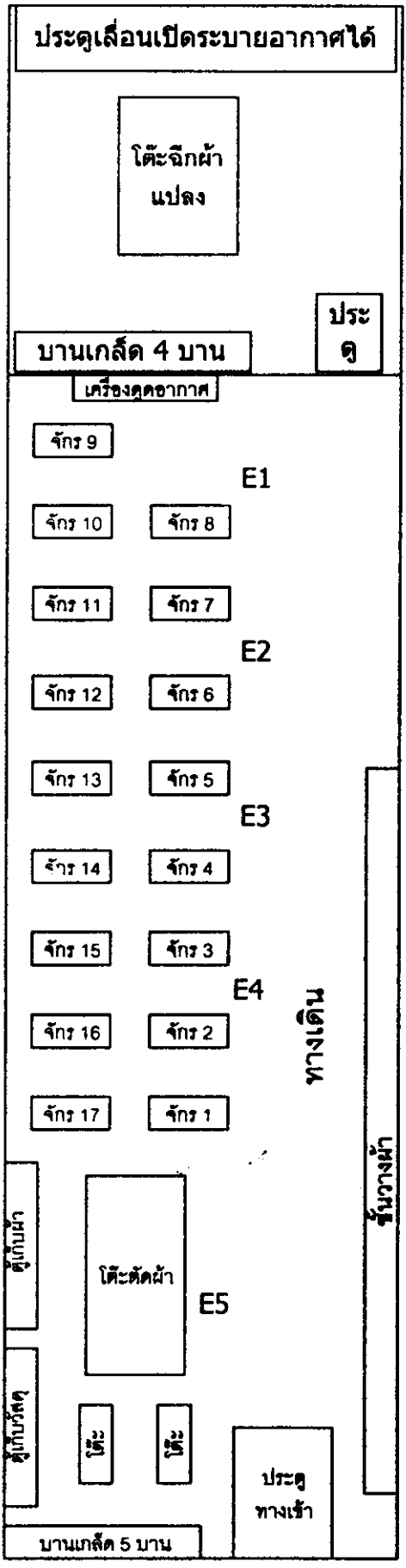
ตาราง 2.3 การออกแบบการเก็บตัวอย่างฝุ่นฝ้าย

จำนวนซ้ำ	วันที่	ช่วงเวลา	
		8.15-10.00 น. และ 13.00-15.00 น.	10.15-12.00 น.และ 15.15-16.45 น.
ซ้ำที่ 1	วันที่ 1	E1	E2
	วันที่ 2	E3	E4
	วันที่ 3	E5	
ซ้ำที่ 2	วันที่ 3		E1
	วันที่ 4	E2	E3
	วันที่ 5	E4	E5

E1-E5 แทนจุดเก็บตัวอย่างฝุ่นฝ้าย ดังภาพประกอบ 2.2 ในช่วงก่อนการปรับปรุงสิ่งแวดล้อม ส่วนในภาพ 2.3 แสดงผังจุดเก็บตัวอย่างหลังการปรับปรุงสิ่งแวดล้อม



ภาพประกอบ 2.2 แผนผังจุดเก็บตัวอย่างฝุ่นฝ้ายก่อนเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อม ในแผนกเย็บผ้า โรงพยาบาลสงขลานครินทร์



E1-E5 แทนจุดเก็บฝุ่นฝ้าย

มาตราส่วน 1 : 100
หน่วย (เซนติเมตร)

ภาพประกอบ 2.3 แผนผังจุดเก็บตัวอย่างฝุ่นฝ้ายหลังเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อม ในแผนกเย็บผ้า โรงพยาบาลสงขลานครินทร์

5. **การตรวจทางชีวภาพเพื่อวินิจฉัยความผิดปรกติในระบบทางเดินหายใจ** (Biological monitoring)

การถ่ายภาพรังสีทรวงอก

นัดผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทั้งหมดไปถ่ายภาพรังสีทรวงอกที่แผนกรังสีวิทยา โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ และส่งฟิล์มให้รังสีแพทย์อ่านผลแบบทั่วไปและแบบ ILO classification (ILO, 1980)

การตรวจเลือด

นัดผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทั้งหมด มาเจาะเลือดที่ห้องเจาะเลือด โรงพยาบาลสงขลา-นครินทร์ เพื่อเจาะเลือดตรวจ CBC (Complete Blood Count)

การทดสอบสมรรถภาพการทำงานของปอด

การทดสอบสมรรถภาพการทำงานของปอดในการวิจัยครั้งนี้ใช้สไปโรมิเตอร์ (spirometer) รุ่น Autobox-6200 ซึ่งเป็นเครื่องวัดสมรรถภาพการทำงานของปอดที่สามารถวัดได้ทั้งความเร็วและปริมาตรของลม โดยค่าที่ได้จากการทดสอบสมรรถภาพการทำงานของปอดที่นำมาใช้ ในการวิจัยครั้งนี้มีดังนี้ ก) ปริมาตรของลมที่เป่าออกอย่างเร็วแรงจนหมดหลังหายใจเข้าเต็มที่ (Forced Vital Capacity) หรือ FVC หน่วยเป็นลิตร เลือกจากกราฟที่มีค่า FVC มากที่สุด ข) ปริมาตรของลมที่เป่าออกในเวลา 1 วินาที (Forced Expiratory Volume In 1 Second) หรือ FEV_1 มีหน่วยเป็นลิตร เลือกจากกราฟที่มีค่า FEV_1 มากที่สุด ค) ปริมาตรของลมที่เป่าออกในเวลา 1 วินาที คิดเป็นร้อยละของ FVC (FEV_1/ FVC%)

ในการวัดสมรรถภาพการทำงานของปอดมีวิธีการเตรียมผู้รับการทดสอบ เตรียมเครื่องมือ และมีวิธีการทดสอบดังต่อไปนี้

1. การเตรียมผู้ปฏิบัติงานสำหรับวัดสมรรถภาพการทำงานของปอด แนะนำวิธีการปฏิบัติตัวก่อนมาทำการวัดสมรรถภาพการทำงานของปอดแก่ผู้รับการทดสอบดังนี้ (เบญจมาศ ช่วยชู, 2541)

- ไม่ออกกำลังกายอย่างน้อย 30 นาทีก่อนตรวจ
- ห้ามสวมเสื้อที่รัดทรวงอกและท้องหลีกเลี่ยงการรับประทานอาหารมื้อใหญ่อย่างน้อย 2 ชั่วโมง
- ในรายที่ใช้ยาขยายหลอดลมอยู่ต้องหยุดยาขยายหลอดลมก่อนทำการทดสอบตามชนิดของยาที่ใช้ คือ β_2-agonist, anticholinergic ชนิดสูดควรหยุดอย่างน้อย 6-8 ชั่วโมง สำหรับยาขยายหลอดลมชนิดออกฤทธิ์ยาว เช่น salmeteral ควรหยุดอย่างน้อย 12 ชั่วโมง สำหรับยา

theophylline ชนิดออกฤทธิ์ยาวควรหยุดอย่างน้อย 24 ชั่วโมงก่อนทำการทดสอบ แต่ถ้าไม่สามารถหยุดยาได้ หรือใช้ยามาก่อนรับการทดสอบโดยเฉพาะ β_2-agonist ชนิดสูดควรบันทึกเวลาที่ใช้ว่าห่างจากเวลาที่ได้รับการทดสอบสมรรถภาพปอดนานเท่าใด

- อธิบายให้ผู้รับการทดสอบเข้าใจวิธีการทดสอบอย่างละเอียด และเจ้าหน้าที่ต้องสาธิตวิธีการทดสอบและลองให้ผู้ปฏิบัติงานฝึกทดสอบจนเข้าใจดีแล้วจึงเริ่มทำการทดสอบ โดยอธิบายผู้รับการทดสอบตามขั้นตอนดังนี้ นั่งตัวตรงและยกศีรษะ /หนีบจมูกด้วย nose clip /สูดหายใจเข้าทางปากเต็มที่ /อม mouth piece และปิดปากรอบ mouth piece ให้แน่น /หายใจออกให้เร็วและแรงเต็มที่จนหมดปอด /ทำซ้ำให้ได้ค่าที่ถูกต้องอย่างน้อย 3 ค่า /โดยสามารถทำซ้ำได้ไม่เกิน 8 ครั้ง

2. วิธีการวัดสมรรถภาพการทำงานของปอด

- การปรับมาตรฐานความถูกต้องของเครื่องมือ (calibration) ทำก่อนวัดสมรรถภาพปอดทุกวัน โดยเลือกโปรแกรม calibrate ตามคู่มือการใช้เครื่องโดยต่อ flow sensor เข้ากับ syringe สำหรับปั๊มอากาศ และปั๊มอากาศเข้าไปจนปรับปริมาตรได้อยู่ในช่วง 97-103 % (ค่าที่อ่านได้แปรปรวนได้ไม่เกินร้อยละ 3) (ทัศนียา สุธรรมสมัย, 2541)
- เมื่อทำการ calibrate เสร็จแล้วใส่ ชื่อ นามสกุล, Hospital Number, อายุ, เพศ, น้ำหนัก, ส่วนสูง
- แนะนำให้ผู้รับการทดสอบสมรรถภาพการทำงานของปอดเป่าปอดตามวิธีการข้างต้น
- หากต้องการทราบ reversibility ในผู้ป่วยที่มีการอุดกั้นของหลอดลม ให้ผู้รับการทดสอบสูดยาขยายหลอดลม β_2-agonist ผ่านกระบอกสูดยา (spacer) โดยใช้ยาขยายหลอดลม 2 puff โดยกดยาขยายหลอดลม 1 puff เข้า spacer โดยค่อยๆ หายใจเข้าจนสุดแล้วกลั้นไว้ประมาณ 10 วินาที หรือนับ 1-10 แล้วหายใจออก เสร็จแล้วสูดอีก 1 ครั้ง หลังจากนั้นกดยาขยายหลอดลมอีก 1 puff และทำต่อเช่นเดียวกับครั้งแรก พักประมาณ 15 นาที แล้วทำการวัดสมรรถภาพปอดซ้ำจะได้ค่าสมรรถภาพการทำงานของปอดหลังได้ยาขยายหลอดลม (post broncholidator spirometry) (เบญจมาศ ช่วยชู, 2541) ในการวิจัยครั้งนี้ทำการวัดสมรรถภาพปอดก่อนทำงาน และวัดซ้ำหลังทำงาน 4-6 ชั่วโมง เพื่อวินิจฉัยโรคระบบทางเดินหายใจที่อาจเกิดจากการทำงานสัมผัสฝุ่นผ้าตามเกณฑ์การวินิจฉัยโรคดังกล่าวข้างต้น

การทำ skin prick test หรือ epicutaneous test

การทำ skin prick test เป็นการทดสอบทางผิวหนังด้วยสารที่สงสัยว่าจะเป็นสาเหตุของภูมิแพ้ การทดสอบที่ให้ผลบวกไม่ได้บอกว่าสารนั้นเป็นสาเหตุของโรคหืดทุกราย แต่สามารถบอกได้ว่ามี antibody ต่อสารนั้นและจับอยู่ที่ผิวหนังเท่านั้น ในการวิจัยครั้งนี้ทดสอบ skin prick test เพื่อหาความไวของฝุ่นผ้าโดยใช้ cloth dust extract เป็นสารสำหรับทดสอบ สำหรับวิธีการเตรียม cloth dust และการทำ epicutaneous test มีดังนี้

1. การเตรียม cloth dust extract (Kim, *et al.*, 1999)

- นำผ้าจากสถานที่ปฏิบัติงานมาตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ เพื่อให้เกิดฝุ่น และนำฝุ่นผ้าที่ได้จากการตัดมาละลายใน phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.4, 1:10 wt/vol) ที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- นำฝุ่นผ้าที่ละลายใน PBS ไว้มากรองเพื่อเอาเศษผ้าออกทิ้ง และนำสารละลายซึ่งได้จากการกรอง มา centrifuge ที่ 3,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที แล้วดูด supernatant นำไป ระเหยเอาน้ำออกด้วยเครื่อง freeze-dryer ที่หน่วยเครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
- นำผงฝุ่นผ้าที่ระเหยเอาน้ำออกแล้วมาละลายใน sterlile water 1:5 wt/vol แล้วนำสารละลายที่ได้ไปผสมใน sterlile glycerine ในปริมาณที่เท่ากันซึ่งจะได้ ความเข้มข้นสุดท้าย 1:10 wt/vol

2. วิธีการทำ Skin Prick Test (อารีย์ ก้องพานิชกุล และ ปกิต วิชยานนท์, 2541)

- แนะนำผู้ปฏิบัติงานที่ถูกทดสอบให้งดการใช้ยา antihistamine antidepressant ทุกชนิด ก่อนการทดสอบเป็นเวลาอย่างน้อย 2 สัปดาห์ และงดยา astemizole ก่อนการทดสอบเป็นเวลา 2 เดือน
- ทำการทดสอบในช่วงเวลาเดียวกันเพื่อหลีกเลี่ยงผลของ cercadian variation
- ทำการทดสอบ skin prick test ที่ volar surface of forearm โดย ใช้ Duotip-test (อุปกรณ์สำหรับทำ epicutaneous test) จุ่ม cloth dust extract แล้วนำมาหมุน 360 องศาบน volar surface ของแขนผู้ถูกทดสอบ
- วัด wheal และ flare ที่เกิดขึ้นหลังจากทำ epicutaneous test ไปแล้ว 15 นาที

- ใช้ histamine base 1 mg/ml เป็น positive control และ 50 % glycerosaline เป็น negative control และสรุปผลการทดสอบเป็น positive ถ้า wheal เกิดขึ้นใหญ่กว่า negative control มากกว่า 3 มิลลิเมตร

การทดสอบหาปฏิกิริยา IgE ต่อฝุ่นผ้า

การทดสอบหาปฏิกิริยา IgE ต่อฝุ่นผ้า ประกอบด้วยการวัดโปรตีนจากฝุ่นผ้า การ run gel โดยวิธี SDS-PAGE การทดสอบหาปฏิกิริยา IgE โดยวิธี Immunoblot of cloth dust with chemiluminescent และ Dot blot assay for the cloth dust extract enhance with chemiluminescent ดังรายละเอียด ต่อไปนี้

1. การวัดโปรตีนจากฝุ่นผ้าโดยวิธี Lowry Method (Waterborg and Matthews, 1996)

สารละลายโปรตีนของสารตัวอย่างซึ่งได้แก่ สารละลายจากฝุ่นผ้าดิบขาว ผ้าดิบเขียว ผ้าซัลโฟไลท์ขาว ผ้าซัลโฟไลท์เขียว ซึ่งได้ extract ไว้แล้ว ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมกับ Alkaline copper solution (2% Sodium carbonate ใน 0.1 N sodium hydroxide : 2% Potassium sodium tartrate : 1% copper sulfate อัตราส่วน 100 :1:1) 3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที แล้วเติมสารละลายฟอลิน-ฟีนอล (Folin-fenol reagent, Folin : น้ำกลั่น อัตราส่วน 1: 1) 0.3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง Spectrofotometer ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร คำนวณหา ความเข้มข้นของโปรตีนในสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานโดยใช้ Bovine Serum Albumin (BSA) เป็นโปรตีนมาตรฐาน

2. การ run gel โดยวิธี SDS-PAGE (Walker, 1996)

- เตรียม separating gel และ stacking gel ให้พร้อม โดยเลือกใช้ 10 % separating gel และ 3 % stacking gel โดยอัตราส่วนของสารเคมีดังตาราง 2.4 และเตรียม electrode buffer ให้พร้อม
- นำผงฝุ่นผ้าดิบขาว ผ้าดิบเขียว ผ้าซัลโฟไลท์ขาว ผ้าซัลโฟไลท์เขียว ที่ผ่านการ lyophilize แล้วชนิดละ 1 tube มาละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากอิออน tube ละ 80 ไมโครลิตร
- นำผงฝุ่นผ้าทั้ง 4 ชนิดชนิดละ 1 tube มารวมกันแล้วละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจาก อิออน 100 ไมโครลิตร
- ใส่ separating gel ลงใน chamber รอจน gel แข็ง แล้วใส่ stacking gel ลงไป

- ดูด supernatant ของฝุ่นผ้าแต่ละชนิด และฝุ่นผ้ารวมทั้ง 4 ชนิด มาอย่างละ 32 ไมโครลิตร ผสมกับ sample buffer tube ละ 8 ไมโครลิตร นำไปต้มในน้ำเดือดนาน 10 นาที
- Load standard 5 ไมโครลิตร และ sample well ละ 40 ไมโครลิตร ลงบน gel แล้ว run gel โดยใช้ กระแสไฟฟ้า 14 มิลลิแอมแปร์ ความต่างศักย์ไฟฟ้า 250 โวลต์
- แกะ gel ออกมาย้อมในสีย้อม Coomassine brilliant blue R-250 ทิ้งไว้ 3 ชั่วโมง จึงเปลี่ยนสีย้อมใหม่ แล้วย้อม gel ทิ้งไว้ 1 คืน

ตาราง 2.4 ส่วนประกอบของ gel

ส่วนประกอบของ gel	10 % separating gel (µL)	3 % stacking gel (µL)
30 % Acrylamide	2,000	300
1.5 M Tris-HCL, pH 8.9	1,500	-
0.5 M Tris-HCL, pH 6.8	-	750
10 % SDS	60	30
1 % Ammonium persulfate	150	150
0.2 M EDTA, pH 7.2	-	20
น้ำกลั่น	2,280	1,745
TEMED	10	5
ปริมาตรสุทธิ	6,000	3,000

ที่มา : ดัดแปลงจาก Walker, 1996

3. การหา IgE โดยวิธี Immunoblot of cloth dust with chemiluminescent (Guy, 1996)

- Run gel โดยใช้ ผงฝุ่นผ้าสกัดทั้ง 4 ชนิด ตามวิธี SDS-PAGE ตามข้อ 2
- ถ่าย gel ลง nitrocellulose ทิ้งไว้ 1 คืน
- แกะ nitrocellulose ออก แล้วล้าง blotting buffer ออกด้วยน้ำกลั่น นำ nitrocelluloseไปย้อมด้วย ponseau 's solution หากเห็น band ของฝุ่นผ้าให้ทำเครื่องหมายไว้
- ล้างสีออกให้หมดแล้ว incubate strip ของ nitrocellulose ด้วย 10 % BSA-TBS ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 1 คืน
- ล้าง nitrocellulose ด้วย TBS-T แล้วนำมา incubate ด้วย serum โดยใช้ทั้ง serum ที่เป็น positive control และ negative control

- ล้าง nitrocellulose ด้วย TBS-T แล้วนำมา incubate ด้วย anti-human IgE-peroxidase
- ล้าง nitrocellulose ด้วย TBS-T แล้วนำมา incubate ด้วย supersignal substrate แล้วนำ nitrocellulose ไป expose บนแผ่น ฟิล์ม

4. Dot blot assay for the cloth dust extract enhance with chemiluminescent (Gordon and Billing, 1988)

- เตรียม sample ก่อน dot โดยการนำผงฝุ่นผ้าดิบขาว ผ้าดิบเขียว ผ้าชัลโฟไลท์ขาว ผ้าชัลโฟไลท์เขียว ที่ได้จากการสกัดและผ่านการ liophilize แล้วชนิดละ 2 tube ผสมรวมกัน แล้วละลายผงฝุ่นผ้าด้วยน้ำกลั่นปราศจากอิออน 450 ไมโครลิตร
- เจือจาง sample 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.25, 0.5, 1 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร
- ตัด nitrocellulose 3 strip แล้วแช่ด้วยน้ำกลั่น 5 นาที คีบ nitrocellulose มาวางบนกระดาษกรอง ทิ้งไว้ 5-10 นาที หยด sample ที่เจือจางไว้ในแต่ละความเข้มข้นจำนวน 2 ไมโครลิตร/chamber ทิ้งไว้ 5-10 นาที นำไปแช่ใน TBS นาน 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น
- Blocking ใน 10 % BSA-TBS chamber ละ 1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1-2 ชั่วโมง แล้วล้างด้วย TBS-T 3 ครั้งโดยแช่ membrane ใน TBS-T 10 นาทีก่อนล้างแต่ละครั้ง
- Incubate ด้วย serum เจือจาง 1 : 4 จำนวน 1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส 1 คืน แล้วล้าง nitrocellulose ด้วย TBS-T 3 ครั้งโดยแช่ membrane ใน TBS-T 10 นาทีก่อนล้างแต่ละครั้ง
- Incubate ด้วย anti-human IgE peroxidase 1:1,0000 in 10 % BSA-TBS ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 ชั่วโมง แล้วล้าง nitrocellulose ด้วย TBS-T 6 ครั้งโดยแช่ membrane ใน TBS-T 5 นาทีก่อนล้างแต่ละครั้ง
- Incubate nitrocellulose ด้วย supersignal substrate (luminal : peroxidase ในอัตราส่วน 1:1) จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 5 นาทีแล้วนำ nitrocellulose ไป expose บนแผ่น ฟิล์ม

การทดสอบความไวของปอด (Methacholine Challenge Test)

เป็นการทดสอบว่าคนงานมีภาวะหลอดลมไวต่อสิ่งกระตุ้น โดยใช้ methacholine เป็นสารกระตุ้นให้หลอดลมตีบในวันทำงาน ซึ่งวิธีการทดสอบและการแปลผลการทดสอบมี ดังนี้ (ATS, 1999)

1. วิธีการทดสอบความไวของปอด

- เตรียม 0.9 % Normal Saline Solution, สารละลาย methacholine ความเข้มข้น 0.06, 0.25, 1, 4 และ 16 mg/ml ให้พร้อมโดยหลังเตรียมเสร็จหากไม่ได้ใช้ภายใน 30 นาทีควรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และใช้ต้องนำมาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อนการทดสอบ 30 นาที (สารละลาย methacholine จัดเตรียมโดยฝ่ายเภสัชกรรม โรงพยาบาลสงขลานครินทร์)
- เตรียมผู้ปฏิบัติงานที่จะทดสอบ และวัดสมรรถภาพการทำงานของปอดก่อนการทดสอบ (Baseline Pulmonary Function Test) เช่นเดียวกับการวัดสมรรถภาพการทำงานของปอดดังกล่าวแล้วข้างต้น บันทึกค่า FEV_1 ไว้ หากค่า FEV_1 <70% ของค่าที่ได้จากการทำนาย (% predicted) ไม่ควรทดสอบความไวของปอด เมื่อได้ค่า FEV_1 แล้วให้คำนวณค่า 80 % ของ FEV_1 ตั้งไว้
- ใช้กระบอกฉีดยาดูดสารละลาย 0.9 % Normal Saline จำนวน 2 ml ใส่ในกระเปาะใส่ยา แล้วต่อเข้ากับ dosimiter ซึ่งได้ต่อกับ pipe line ของอากาศไว้แล้ว โดยปรับความดันอากาศเท่ากับ 30 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว หลังจากนั้นให้ผู้รับการทดสอบอม mouthpiece ให้แน่น หนีบจมูกไว้ พร้อมทั้งสูดหายใจเอาละอองฝอย (nubulizer) ของ 0.9 % Normal Saline เข้าปอดช้าๆ 5 ครั้ง ภายในเวลา 2 นาที เพื่อให้ผู้รับการทดสอบฝึกการสูดยาเข้าปอดให้ชำนาญก่อนใช้ methacholine
- หลังจากผู้รับการทดสอบสูด 0.9 % Normal Saline เสร็จแล้วเทสารละลายที่เหลือในกระเปาะใส่ยาทิ้ง ดูดสารละลาย methacholine ความเข้มข้น 0.06 mg/ml จำนวน 2 ml ใส่ในกระเปาะใส่ยาและให้ผู้รับการทดสอบสูดละอองของ methacholine เข้าปอดเช่นเดียวกับการสูด 0.9 % Normal Saline หลังจากสูดละอองของ methacholine นาน 1 นาที ให้ผู้รับการทดสอบ เป่าปอด บันทึกค่าไว้ หากค่า FEV_1 ที่ได้สูงกว่า 80 % ของ FEV_1 baseline ให้ผู้รับการทดสอบนั่งพัก 4 นาทีหลังจากเป่าปอด และทำการทดสอบโดยสูดละอองของ methacholine dose 0.25, 1, 4 และ 16 mg/ml ตามลำดับ หากพบว่าค่า FEV_1 หลังจากสูดละอองของ methacholine dose ใดต่ำกว่าหรือเท่ากับ 80 % ของ FEV_1 baseline ให้หยุดการทดสอบ และพ่นยาขยายหลอดลม (ในการวิจัยครั้งนี้ใช้ Ventolin MDI 4 puff) บันทึกเวลาที่พ่นยา พร้อมทั้งสอบถามอาการผิดปรกติ เช่น อาการแน่นหน้าอก หายใจไม่ออก และให้ผู้รับการทดสอบเป่าปอดซ้ำหลังพ่นยาขยายหลอดลม 20 นาที

2. การแปลผลการทดสอบความไวของปอด

การแปลผลการทดสอบความไวของปอดโดยใช้ methacholine เป็นสารกระตุ้นให้หลอดลมหดตัว มี ดังนี้

2.1 สูตรคำนวณหา PC_{20}

สูตร คำนวณ หา PC_{20} = antilog $\frac{[\log C_1 + (\log C_2 - \log C_1)(20-R_1)]}{R_2-R_1}$

เมื่อ C_1 = ความเข้มข้นของ methacholine dose สุดท้ายก่อนถึง C_2

C_2 = ความเข้มข้นของ methacholine dose สุดท้ายที่ทำให้ FEV_1 น้อยกว่าหรือเท่ากับ 80 % ของ FEV_1 baseline

R_1 = % ของ FEV_1 ที่ลดลงหลังสูดละอองของ methacholine dose C_1

R_2 = % ของ FEV_1 ที่ลดลงหลังสูดละอองของ methacholine dose C_2

การรายงานผลภาวะหลอดลมไวต่อสิ่งกระตุ้นคิดจาก PC_{20} ตามตาราง 2.5

ตาราง 2.5 การแปลผลภาวะหลอดลมไวต่อสิ่งกระตุ้น

PC_{20} (mg/ml)	การแปลผล
> 16 *	ปกติ
4.0-16	Borderline BHR
1.0-4.0	Mild BHR (positive test)
<1	Moderate to severe BHR

* หมายถึงค่า FEV_1 หลังสูด methacholine dose 16 mg/ml มีค่ามากกว่า 80 % ของค่าที่ได้จากการทำนาย

ที่มา : ATS, 1999

การตรวจร่างกาย

นัดผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยมาตรวจร่างกายกับแพทย์ที่หน่วยโรคปอด โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ในวันเดียวกับการทดสอบสมรรถภาพการทำงานของปอด