# บทที่ 3

## ระเบียบวิธีการวิจัย

1. **ประชากรเป้าหมาย** (Target population) คือ ประชากรไทยที่เป็นโรคไตวายเรื้อรังตั้งแต่ระดับ end stage ขึ้นไป

**ประชากรตัวอย่าง** (Population Sampled)

1.1 คัดเลือกประชากรไทยที่เป็นโรคไตวายเรื้อรังตั้งแต่ระดับ end stage ขึ้นไป (ดูภาคผนวก ค.) ที่มีอายุมากกว่า 15 ปี และได้รับการรักษาด้วยวิธีการล้างไตผ่านทางหน้าท้อง ที่มารับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์, โรงพยาบาลภูมิพลอดุลยเดช, โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า และโรงพยาบาลราชวิถี

1.2 ไม่เป็นโรคมะเร็ง, โรคตับแข็ง, active SLE

1.3 ไม่ได้รับยา steroid หรือ immunosuppression

1.4 ยินยอมลงรายชื่อในใบแสดงการยินยอมให้ทำการศึกษา

2. **การคำนวณขนาดตัวอย่าง** (Sample Size Calculation) [35]

เนื่องจากเป็นการทดลองในประชากรชุดเดียวกัน ต้องการดูความแตกต่างก่อนและหลังการทดลอง (paired test)

**สูตร** $$n = \frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \, Sp^2}{D^2}$$

โดย $\alpha = 0.05$ $\beta = 0.2$

$$n = \frac{(1.96 + 0.85)^2 \, (42546^2 + 64394^2)}{(106459 - 52250)^2} = 16 \text{ คน}$$

3. **วิธีการ** (Intervention)

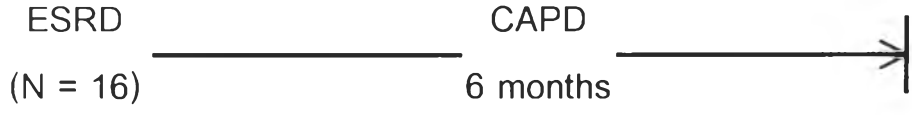
1. ฝึกสอนวิธีทำการล้างไตผ่านทางหน้าท้องแก่ผู้ป่วยหรือญาติ จนสามารถปฏิบัติได้จริงอย่างถูกต้อง
2. ผู้ป่วยได้รับล้างไตผ่านทางหน้าท้องอย่างต่อเนื่อง 4 ครั้งต่อวัน นาน 6 เดือน

3. ใช้ถุงน้ำยา dialysate ขนาด 2 ลิตร มีปริมาณความเข้มข้นกลูโคส 1.5, 4.5 gm/100 ml โดยปรับให้ได้ adequacy of dialysis (Kt/V > 2/wk, normalized creatinine clearance > 60 L/week/1.73 $m^2$) และปริมาณสารอิเลคโตรลัยท์ในน้ำยามี Na 132 mEq/L, Ca 3.5 mEq/L, Mg 0.5 mEq/L, Cl 96 mEq/L, lactate 40 mEq/L

4. แนะนำผู้ป่วยให้ได้รับสารอาหาร และโปรตีนขนาด > 1.3 gm/kg/day

5. นัดผู้ป่วยมาตรวจประจำทุก 1 เดือน

## สรุประเบียบวิธีวิจัย




Baseline data : blood chemistry, GFR, PTHi, ferritin, PET, Kt/V, nCCr, nutritional status

CMIR test (before) CMIR test (after)

: - T cell subset
- PHA stimulation test
- delayed hypersensitivity skin test

**4. การสังเกตและการวัด** (Observation and Measurement)

4.1 บันทึกประวัติส่วนตัว เช่น อายุ เพศ อาชีพ และภูมิลำเนา

บันทึกประวัติโรคประจำตัวและภาวะแทรกซ้อน ยาที่กินเป็นประจำ ตรวจร่างกายทั่วไป

4.2 การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

CBC, urinalysis, BUN/Cr, electrolyte, LFT, Ca/$PO_4$, cholesterol, PTHi, ferritin, serum iron

ปัสสาวะ 24 ชั่วโมง หาค่า creatinine clearance ในรายที่มีปริมาณปัสสาวะมากกว่า 500 มล.ต่อวัน

weekly Kt/V, weekly creatinine clearance (ดูภาคผนวก ข.)

protein catabolic rate (ดูภาคผนวก ข.)

peritoneal equilibration test (ดูภาคผนวก ก.)

dialysate fluid for cell count, cell differentiation, gram stain, culture ในรายที่มีการติดเชื้อของเยื่อบุช่องท้อง

4.3 ประเมินภาวะทุโภชนาการจาก

- Anthropometry ประกอบด้วย body mass index, sum of skinfold thickness index ที่บริเวณ Biceps, Triceps, Subscapular, Suprailiac หรือ midarm muscle circumference ถือค่าน้อยกว่าร้อยละ 60 ของค่าปกติ (ดูภาคผนวก ง.)

- ระดับความเข้มข้นของ serum albumin ≤ 3.5 mg/dl หรือระดับความเข้มข้นของ cholesterol น้อยกว่า 150 mg/dl

4.4 ตรวจภูมิคุ้มกันชนิดอาศัยเซลล์ก่อนและหลังการรักษาด้วยวิธีการล้างไตผ่านทางหน้าท้องนาน 6 เดือน โดยการตรวจในเลือดหา T cell subset, การทดสอบวิธี PHA stimulation test และการทดสอบ delayed hypersensitivity skin test

**การตรวจหา T cell subset**

**หลักการ**

Monoclonal antibodies ต่อ Helper/Induce T cell (CD4) หรือ Suppressor/Cytotoxic T cell (CD8) จะจับกับ $CD4^+$ หรือ $CD8^+$ T cells ซึ่งสามารถตรวจสอบได้โดยใช้ second antibody (rabbit anti-mouse Ig) ที่ติดฉลากโดยสารเรืองแสง fluorescein isothiocyanate (FITC) จากนั้นนำไปดูกล้องจุลทรรศน์ชนิด Fluorescence

**อุปกรณ์และน้ำยา**

1. หลอดทดลอง
2. Automatic pipette สำหรับดูดน้ำยาได้ 5, 100 µl
3. Centrifuge
4. Phosphate buffer saline pH 7.2-7.4 (PBS)
5. fixing solution (1% paraformaldehyde)
6. mounting media
7. monoclonal antibody (mouse-anti CD4, anti CD8)
8. rabbit anti-mouse Ig-FITC

**วิธีทำ**

1. นำ mononuclear cells ที่ปั่นแยกโดย Ficoll-Hypague มา adjust ให้ได้ $2 \times 10^6$ cells/ml. แล้วดูดมาใส่หลอดทดลอง 2 หลอด หลอดละ 0.5 ml.

2. นำไปปั่น 1,500 rpm 5 นาที เพื่อให้เซลล์ตกที่ก้นหลอด, เทส่วนใสทิ้ง

3. เติม anti CD4 และ anti CD8 ลงในหลอดแต่ละหลอด หลอดละ 5 µl, mix ให้เข้ากัน

4. นำไป incubate ที่ 4 °C (หรือในอ่างน้ำแข็ง) เป็นเวลา 30 นาที, mix ทุกๆ 10 นาที

5. ปั่นล้างด้วย PBS เย็น 2 ครั้ง เทส่วนใสทิ้ง

6. เติม rabbit anti-mouse Ig-FITC dilution ที่เหมาะสมลงไปหลอดละ 100 µl, mix ให้เข้ากัน

7. นำไป incubate ที่ 4 °C (หรือในอ่างน้ำแข็ง) เป็นเวลา 30 นาที, mix ทุกๆ 10 นาที

8. ปั่นล้างด้วย PBS เย็น 2 ครั้ง เทส่วนใสทิ้ง

9. ใส่ fixing solution ลงไปหลอดละ 0.5 ml., mix ให้เข้ากัน, incubate ในตู้เย็นอย่างน้อย 10 นาที นำไปปั่นเพื่อให้ได้ packed cell เทส่วนใสทิ้ง

10. หยด mounting media 1 หยด, mix ให้เข้ากัน

11. ดูดเซลล์ 1 หยด มาใส่ปน slide บิดด้วย coverslip แล้วนำไปดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด Fluorescence เพื่อนับจำนวนเซลล์ที่เรืองแสง

**การอ่านผลและการแปลผล**

นับจำนวนเซลล์ที่ติดสารเรืองแสงที่ผิว แล้วเทียบเป็นเปอร์เซนต์กับเซลล์ที่ไม่ติดเรืองแสง

ค่าปกติ T helper cells (CD4) = 50 ± 6 % หรือ > 600 cells/cumm.

T suppressor cells (CD8) = 31 ± 5 % หรือ > 400 cells/cumm.

CD4/CD8 Ratio = 1.6 ± 0.3

T helper cell อาจลดลงได้ในโรคต่างๆ เช่น

- AIDS
- ระหว่าง bone marrow transplantation
- acute phase of CMV and other infection
- leprosy
- complicated malaria
- leukemia/lymphoma

**หมายเหตุ** ในปัจจุบันการศึกษาปริมาณของ T cell subsets ตามห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่จะใช้เครื่อง Flow cytometer ซึ่งสามารถนับจำนวนเซลล์ต่างๆที่ย้อมด้วย monoclonal antibodies จำเพาะต่อแอนติเจนบนผิวเซลล์ที่ติดฉลากด้วยสารเรืองแสดงได้ และวิเคราะห์ผลออกมาโดยอัตโนมัติ ซึ่งใช้วิธีการย้อมเซลล์เช่นเดียวกันและสามารถย้อมจาก whole blood ได้ การศึกษาครั้งนี้ใช้เครื่อง Flow Cytometer FAC Sort™ Becton Dickinson USA.

**การทดสอบวิธี PHA Stimulation Test**

**หลักการ**

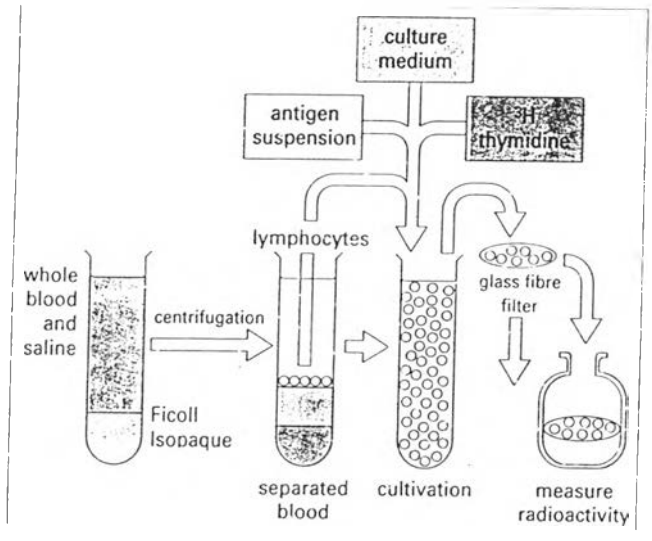
โดยการกระตุ้น T lymphocyte ด้วย mitogen Phytohemagglutinin (PHA) เป็นเวลา 3 วัน T lymphocyte จะแบ่งตัว แล้วดูการสร้าง DNA จากเซลล์ที่สามารถตอบสนองต่อ PHA โดยการใส่ Tritiated thymidine (3HTdR) (ถ้าเซลล์มีการแบ่งตัวก็จะต้องใช้ Thymidine ทำให้วัดสารรังสีที่เซลล์ uptake ได้) ถ้า lymphocyte ไม่ตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วยก็ถือว่าเป็น function defect

**วัสดุและน้ำยา**

1. Tissue culture medium (TCM) ผสมด้วย RPMI 1640 93 ml + Human AB serum 5 ml + Penicillin 100 U/ml & Streptomycin 50 U/ml + HEPES buffer 1 M 1 ml
2. Hanks balanced salt solution (HBSS)
3. PHA in TCM ความเข้มข้นต่างๆ
4. Tritiated Thymidine 1 mCi/ml (3HTdR)
5. Scintillation fluid : PPO 5 g + POPOP 0.1 g + Toluene 1000 ml

**วิธีทำ**

1. แยก mononuclear cells โดยใช้ Ficoll-Hypaque ล้าง 2 ครั้งด้วย HBSS, 1 ครั้งด้วย TCM-under sterile condition
2. นับและปรับเซลล์ให้ได้จำนวน $2x10^6$ cells/ml. ด้วย TCM
3. ใช้ steriled flat bottom microtiter plate, ทำ triplicate
   - เติม cells suspension ($2x10^6$ cells/ml) 100 µl ลงในแต่ละหลุม
   - เติม TCM 100 µl ในหลุม background control (3 หลุม)
   - เติม PHA ความเข้มข้นต่างๆ 100 µl (ความเข้มข้นละ 3 หลุม)
4. mix, Incubate 37 °C in 5% $CO_2$ 66 hrs.
5. เติม 3HTdR (20 µCi/ml) 25 µl ลงในแต่ละหลุมของ cells culture (final 3HTdR concentration = 0.5 µCi/well)
6. mix, incubate 37 °C in 5% $CO_2$ 6 hrs. (ถ้ายังไม่ harvest ให้เก็บ freeze -20 °C)
7. harvest cells โดย automatic cells harvestor, ล้าง 2 cycles โดยตกตะกอน DNA ด้วย Trichloracetic acid แล้วกรอง DNA ด้วย glass fibre filter
8. ทิ้ง filter ไว้ให้แห้ง แล้วใส่ใน vial ที่มี Scintillation fluid
9. นำไป count β-ray




**รูปที่** 3.1 แสดงการทดสอบ lymphocyte stimulation test [36]

**การอ่านผล**

การ harvest cells (การวัด transformation) มี 2 วิธี

1. นับ blast transformation โดยนับ % blast cells ที่เกิดขึ้นหลังจาก culture 3 วัน โดยใช้วิธีย้อมสี Wright's stain (ย้อมหลังจาก incubate 72 ชม. ในข้อ 4)

2. ดูการแบ่งตัวโดยใส่สารรังสีที่สามารถเข้าเซลล์ได้ เช่น 3HTdR แล้ว count β-ray ซึ่งการ assay 3HTdR ทำได้โดยการ lyse cell ก่อน แล้ววัด DNA ที่ติดบนกระดาษกรองหรือใช้วิธี Autoradiograph

**การ Interprete ผล** : - มีสูตรคำนวณ 2 สูตร คือ

1. Count per minute (cpm) =

   average cpm of stimulated culture - average cpm of unstimulated culture

   ค่า positive ควรมากกว่า 2,000

2. Stimulation Index (S.I.) =

$$\frac{\text{average cpm of stimulated culture}}{\text{average cpm of unstimulated culture}}$$

   ค่า positive S.I. ควรมากกว่า 2 เท่า

การแปลผลนิยมใช้ค่า cpm มากกว่า เพราะเป็นค่าที่เชื่อถือได้ ซึ่งถ้าค่า background สูง จะทำให้ค่าไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก แต่ถ้าบอกค่า S.I. อย่างละเอียดจะไม่ให้ความหมายในการแปลผลเท่าไหร่นัก จึงควรแปลผลโดยดูทั้งค่า cpm และ S.I. ควบคู่กันไป

**การแปลผลและความสำคัญทางคลีนิค**

การทดสอบนี้เป็นการตรวจหาการทำงานของ T cells in vitro แบบ non-specific แปลผลควบคู่ไปกับ in vivo test (skin test)

การทำงานของ T cells จะลดต่ำลงในโรคต่างๆที่ CMIR ทำงานลดน้อยลงหรือเสียไป เช่น Autoimmune disease, Malignancy, Immunodeficiency ของ T cells, Immunosuppressive drug Therapy, AIDS etc.

**การทดสอบ delayed hypersensitivity skin test ด้วย multi CMI skin test**

มัลติเทสต์ ซีเอ็มไอ เป็นเครื่องมือพลาสติกชนิดใช้แล้วทิ้งที่ปราศจากเชื้อ บรรจุแอนติเจนไว้ 7 หัว เพื่อใช้ทดสอบบนผิวหนังเกี่ยวกับภาวะภูมิไวเกินชนิดตอบสนองช้า (delayed hypersensitivity skin test) และอีก 1 หัวบรรจุกลีเซอรีน เพื่อใช้เป็นมาตรฐานสำหรับเปรียบเทียบ ชุดทดสอบนี้ผลิตโดย Pasteur Merieux Serum et vaccins Lyon-France

**ส่วนประกอบ**

ประกอบด้วยแอนติเจน 7 ชนิด และสารสำหรับเปรียบเทียบ 1 ชนิด มีดังนี้

1. Tetanus-antigen 550.000 Mérieux Units/ml.
2. Diphtheria-antigen 1.100.000 Mérieux Units/ml.
3. Streptococcus-antigen (group C) 2.000 Mérieux Units/ml.
4. Tuberculin (old)-antigen 300.000 I.U./ml.
5. Glycerin control, glycerin solution at 0.70 g./ml.
6. Candida (albicans)-antigen 2.000 Mérieux Units/ml.
7. Trichophyton (mentagrophytes)-antigen 150 Mérieux Units/ml.
8. Proteus (mirabilis)-antigen 150 Mérieux Units/ml.

**ข้อบ่งใช้**

ใช้ประเมินภาวะภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งเซลล์ (Cell mediated immunity) ของร่างกาย โดยวิธี Multipuncture

**ขั้นตอนการบริหารยา**

- ให้สารทดสอบเข้าในผิวหนังโดยวิธี Multipuncture
- มัลติเทสต์ ซีเอ็มไอ ใช้สำหรับทดสอบบนผิวหนังปกติเท่านั้น
- แกะแผ่นฟิล์มที่คลุมหัวกดออกจากเครื่องมือทดสอบ

- ทำความสะอาดท้องแขนด้านในด้วยอัลกอฮอล์หรืออีเธอร์
- ค่อยๆ หมุนดึงฝาที่ปิดหัวทดสอบออก (อย่ากระชากออก)
- ดึงผิวหนังบริเวณที่จะทดสอบให้ตึง
- หันปลายของ T-bar ของเครื่องมือเข้าหาข้อศอก แล้วกดเครื่องมือลงบนผิวหนังที่จะทดสอบให้แน่น เพื่อให้เกิดแรงกดบนผิวหนังที่หัวทดสอบทั้งแปดเท่ากัน
- เครื่องมือที่ใช้แล้วให้ทิ้งไป

**การอ่านผล**

ให้อ่านผลภายหลังทดสอบ 48 ชม. โดยใช้เครื่องมือวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของรอยบวมแข็งที่สัมผัสได้ 2 ครั้ง เป็น a และ b ให้หน่วย มม.

เพื่อให้การอ่านค่าได้ถูกต้องควรใช้ปากกาทำเครื่องหมายตรงบริเวณรอยบวมแข็งที่สัมผัสได้นี้ (palpable induration) รอยร้อนแดงเนื่องจากเลือดคั่ง (Erythema) ต้องไม่นำมาคิด ผลลบของตัวควบคุมใช้เป็นตัวเปรียบเทียบเพื่อเป็นการยืนยันว่า ผู้ทำการทดสอบไม่ไวต่อกลีเซอรีน

ให้คำนวณค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลาง a และ b ของแต่ละจุดทดสอบโดยใช้สูตร $\frac{a + b}{2}$

ถ้าค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับหรือมากกว่า 2 มม. แสดงว่า ผลการทดสอบเป็นบวกจากข้อมูลทั้งหมดนี้จะหาคะแนนได้โดยรวมค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของปฏิกริยาที่ให้ผลเป็นบวกทั้งหมด จะถือว่าผลการทดสอบเป็นบวก เมื่อได้ผลทดสอบเป็นบวกอย่างน้อย 2 จุด และผลรวมของค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับหรือมากกว่า 10 มม.

**ข้อควรระวัง**

ปฏิกิริยาตอบสนองต่อแอนติเจนต่างๆ อาจลดลงหรือหายไปหากทดสอบภายหลังจากเป็นโรคที่มีอาการไข้ เช่น หัดหรือโรคติดเชื้อไวรัสอื่นๆ, หลังจากได้รับวัคซีนเชื้อตัวเป็น เช่น วัคซีนโรคหัด หรือหลังจากการรักษาที่ใช้ยาพวก คอร์ติคอยด์ หรือสารกดภูมิคุ้มกันอื่นๆ

**ผลข้างเคียง**

จะพบอาการผิวหนังร้อนแดงระหว่างวันที่ 3 ถึง 10 โดยไม่เกิดแผลเป็น

ผู้ที่ไวต่อยามากๆอาจพบปฏิกริยารุนแรงที่ผิวหนังและอาจเกิดเป็นตุ่มพองหรืออักเสบ

อาการปวดและคันอาจลดลงได้โดยใช้ยาพวกคอร์ติคอยด์ทาที่ผิวหนังหรือใช้น้ำแข็งประคบ

5. **การรวบรวมข้อมูล** (Data Collection)

1. ประวัติส่วนตัวผู้ป่วย, ประวัติของโรคประจำตัว และภาวะแทรกซ้อน
   สาเหตุของภาวะไตวายเรื้อรัง

I18932137

2. ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ

   CBC, UA, BS, Bun/Cr, electrolyte, Ca/$PO_4$, LFT, cholesterol, PTHi, ferritin

   Creatinine clearance

   weekly Kt/V, weekly creatinine clearance, peritoneal equilibration test

   protein catabolic rate

3. ค่า total lymphocyte count, จำนวน T cell ชนิด CD4 และ CD8
4. ค่า T lymphocyte response ต่อ mitogen phytohemagglutinin
5. ผลการทดสอบ skin test

6. **การวิเคราะห์ข้อมูล** (Data Analysis)

การสรุปข้อมูล ตัวแปรที่ได้เป็นข้อมูลเชิงปริมาณ (Quantitative data) รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย (mean) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่ามัธยฐาน (median) เนื่องจากถ้าข้อมูลมีค่าที่สูงหรือต่ำเกินไปหรือมีความแตกต่างกันมากๆ หรือมีลักษณะเบ้ซ้ายหรือขวา จะทำให้ค่าเฉลี่ยถูกกระทบกระเทือนได้ง่าย แต่จะไม่ทำให้ค่ามัธยฐานเปลี่ยนแปลง ดังนั้นจึงรายงานผลทั้งค่ามัธยฐานควบคู่ไปกับค่าเฉลี่ย

ตัวแปรที่ได้เป็นข้อมูลเชิงคุณภาพ (Quanlitative data) รายงานผลเป็นค่าสัดส่วน (proportion)

การนำเสนอข้อมูล ตารางเปรียบเทียบและกราฟท์

การทดสอบสมมติฐาน ใช้ Wilcoxon Signed-rank test เพื่อเปรียบเทียบตัวแปร 2 ชุด ก่อนและหลังการรักษา การทดสอบนี้เป็น nonparametric statistics เหมาะสำหรับการกระจายข้อมูลที่มีการเบ้มาก (highly screwed) ไม่มีการแจกแจงประชากรเป็นแบบปกติ กลุ่มตัวอย่างมีขนาดเล็ก ($n < 30$) ซึ่งจะทำให้การทดสอบมี power สูง

$$Z = \frac{T - E(T)}{S(T)}$$

โดย $E(T) = \frac{n(n+1)}{4}$ ซึ่ง n = จำนวนข้อมูล (คู่)

$$S(T) = \sqrt{n(n+1)(2n+1)/24}$$

T = Wilcoxon T เป็นค่าผลรวมที่มีค่าน้อยกว่าโดยไม่คิดเครื่องหมาย

เพื่อเปรียบเทียบตัวแปร 2 ชุด ของค่าการตอบสนองของ T lymphocyte ต่อ PHA stimulation ทั้งก่อนและหลังการรักษากับค่าของคนปกติ โดยใช้ Mann-Whitney test และเพื่อเปรียบเทียบผลการทดสอบ skin test ทั้งก่อนและหลังการรักษา โดยใช้ Mc Nemar test

การวิเคราะห์ข้อมูลโดยการศึกษาการทำงานของ T cell ว่าค่า total lymphocyte count, การตอบสนองของ T lymphocyte in vitro study (PHA Stimulation Test) ในผู้ป่วยทุกรายว่าดีขึ้นจากค่าเดิมมากกว่าร้อยละ 50 หรือไม่ และการทดสอบ delayed hypersensitivity skin test ว่าเปลี่ยนจากผล negative เป็น positive ได้หรือไม่

หากผลการวิเคราะห์ข้อมูลไม่เป็นไปตามคาดหมาย อาจเกิดจากการล้างไตไม่ได้ adequacy of dialysis หรือระยะเวลาการล้างไตไม่นานพอ

**7. ข้อจำกัดในการทำวิจัยและแนวทางแก้ไข**

7.1 จำนวนผู้ป่วยที่นำมาศึกษา แม้ว่าขนาดตัวอย่างทางสถิติเท่ากับ 16 คน แต่เนื่องด้วยจำกัดในเรื่องเวลาในการทำวิจัย ค่าใช้จ่ายสุทธิในการทำ CAPD แพงมากกว่าวิธี hemodialysis ถึง 2 เท่า ทำให้กว่าจะรวบรวมขนาดตัวอย่างได้จนครบในเวลากระชั้นชิดมากและต้องติดตามศึกษาต่อเนื่อง 6 เดือนต่อมาด้วย อย่างไรก็ตามได้แก้ไขในเรื่องขนาดตัวอย่างโดยการศึกษาร่วมกันกับโรงพยาบาลอื่นดังกล่าวข้างต้น

7.2 การล้างไตที่พอเพียง ผู้ป่วยบางรายไม่สามารถจะเพิ่ม dialysis adequacy ให้ถึงระดับที่ต้องการได้ เนื่องจากปัญหาด้านค่าใช้จ่ายที่จะสูงขึ้นมาก ไม่สะดวก รบกวนต่อการดำรงชีวิตตามปกติของผู้ป่วยมากเกินไปจนผู้ป่วยไม่สามารถยอมรับได้ อย่างไรก็ตามเมื่อดูค่าเฉลี่ยโดยรวมของการล้างไตที่พอเพียงก็อยู่ในระดับที่ยอมรับได้

7.3 ผู้ป่วยบางรายมีการติดเชื้อ peritonitis ในช่วงเวลาที่จะทำการทดสอบวัดผล จึงต้องเลื่อนเวลาทำการวัดผลออกไปอย่างน้อย 1 เดือน ทั้งนี้เพื่อไม่ให้ภาวะการติดเชื้อมีผลรบกวนต่อการทดสอบ CMIR

7.4 ผู้ป่วยหลายรายรับประทานอาหารที่มีจำนวนพลังงานและโปรตีนไม่เพียงพอ ทั้งที่ได้อธิบายให้ผู้ป่วยทุกคนเข้าใจเกี่ยวกับการบริโภคอาหารที่ถูกต้องตั้งแต่แรก และติดตามอย่างต่อเนื่อง ผลทำให้การประเมินภาวะทุโภชนาการด้วยวิธีต่างๆ ได้ผลคงเดิมทั้งก่อนและหลังการรักษา ยกเว้นค่าความหนาของชั้นใต้ผิวหนังที่ดีขึ้น