

循環血液量測定法の問題点

渋谷 穰 S. N. Albert C. A. Albert 平松 慶博

緒言

放射性同位元素による循環血液量測定時に、その検査成績がときに臨床所見と相反するため、診断ならびに処用上困惑することがある。このため循環血液量測定の意義自体に疑問を抱く人も少なくない。^{1,2)}

測定値の変動および誤差は放射性同位元素取扱い上の不注意に基因する以外に、循環動態の変動が希釈計算式上十分に反映されていないために生ずる場合もまれではない。Gregersen³⁾はとくにこの点に重点をおき、循環血液量測定時の methodology への反省を強調している。最近のように automatic computer により血液量を測定する方法が普及し、臨床目的と称し簡易化の傾向が見られるさい、methodology の再検討を加えることも意義あるかと思ふ。あわせて、現在までに経験した約35,000例の測定結果を比較検討し、従来の計算式に若干の変革を試みた。なお、本論文では放射性同位元素の取扱上の不注意に起因する問題は除外した。

I. Single Tracer の問題

放射性同位元素による循環血液量の原理はきわめて簡単である。in vitro の場合を例にとると既知量の tracer を被検血球浮遊液に混合、均等分布後に一定量を採取し、その希釈度を測定することによりえられる。

すなわち、 $Q=C \times V$; $V=Q/C$; $V \times \text{Hct} = \text{血球量}$
 $V \times (1.0 - \text{Hct}) = \text{血漿量}$ (V: 被検血球浮遊液量, Q: 注入 tracer カウント値, C: 採取サンプルの tracer 濃度, Hct: 採取サンプルのヘマトクリット値 (以上 Hct と略す))。

生体においても同様の原理で、⁵¹Cr 標識赤血球により血球量を、ヨード標識アルブミンにより血漿量を測定可能であり、その測定値の信頼度は高いが、tracer の生体

における分布状況はかなり複雑で、血液量全体の測定値となると十分な検討を必要とする。

a. 時間的分布

循環血液量測定のもっとも基本的な必要条件の1つとして、不変の循環動態下に均等希釈されたサンプルを採取することがあげられる。通常、平均10分で tracer は血管内に均等分布されるが、血液粘度増加時⁴⁻⁶⁾、低体温時⁷⁾、ショック、高度血管収縮、末梢血管不全、shunt⁸⁾が存在する場合には均等分布に要する時間の延長が認められる。それゆえ、往々にして tracer 注入後10分、20分、30分、ときには、60分時のサンプルを求め、そのカウント値から均等分布状態を探究する必要がある。

一方、採血部位による相違は、大血管より採血するかぎり、ほとんど認められない⁹⁾。

Gregersen らによれば、ヨード標識アルブミンは、生体血管内に注入後平均1時間6~10%の割合で血管外に洩出する^{3,9,10)}。その血管外洩出度の変動を探究するため、約300例の手術前、術後時に tracer を注入後、頻回にわたりサンプルを採血し、そのカウント値の変化を観察したが、個人ならびに状態差が大きく影響し、ときに血管外洩出度が1時間30%にも及ぶことが判明した (Fig. 1)。

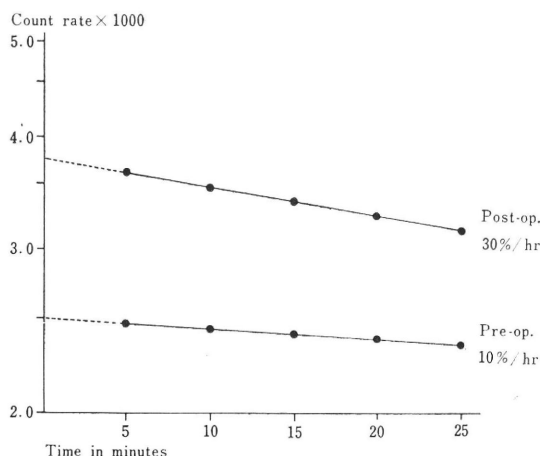


Fig. 1. 術前、術後における RISA 血管外洩出度の比較 (¹²⁵I)

* J. Shibuya, S. N. Albert, C. A. Albert, Y. Hirama-tsu: Anesthesiology Research Laboratory, Washington Hospital Center, Washington, D. C.

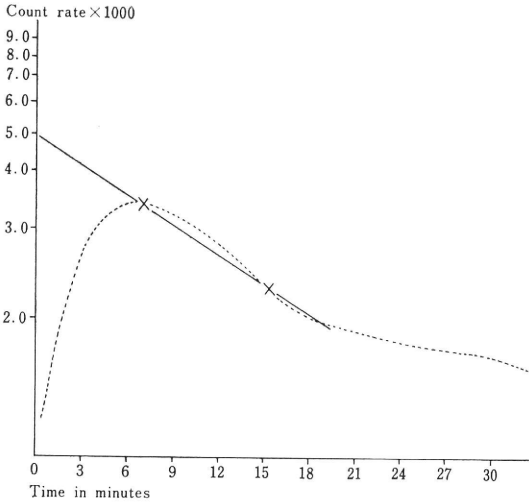


Fig. 2. 半対数グラフ上0時間カウント値の求め方

ヨード標識アルブミンは ^{51}Cr 同様、注入後平均10分で均等分布するゆえ、この間の血管外洩出度はわずかであり、1回サンプリングのみで希釈度を測定しても、臨床的には大した影響はないという考え方は、前述の事実を無視するものと考ええる。

それゆえ、ヨード標識アルブミンの血管外洩出度を正確に均等分布希釈カウント値に反映させるためには、半対数グラフ上に各分のサンプルカウント値を求め、アルブミン洩出前の0時間におけるカウント値を算出、これを前述の均等分布後の希釈カウント値とする必要がある^{11,12)}。その実際例は Fig. 2 に示すごとくである。われわれの実験の結果では、7.5分、15分時のカウント値から0時間カウント値を求めることにより、正常時のアルブミン血管外洩出度にもっとも近似した成績がえられた。

b. 血管内分布

Tracer の血管内分布は *in vitro* の場合と異なり、生体における血球相 / 液相の比率は血液粘度、血管内径によりかなり相違し、循環血液量の80%を占める大血管の血球相 / 液相の比率は、小血管、毛細血管のそれより一般に大きい。それゆえ、大静脈よりサンプルを採血し、その Hct (Hct_v と称す) を以って生体全体の Hct (Hct_o と称す) と見做すと、循環血液量の測定値に相当の差異を生むのは当然である。これは ^{51}Cr 、RISA のいずれの場合も同様である。その具体例については後述する。

前述のごとく RISA ではアルブミンの血管外洩出と

いう因子が加味される上、さらに血管収縮、血管拡張、ショック等の因子が加わると、その誤差はさらに大となる。

前出の Hct_o/Hct_v の比率を F cell ratio と称し、これは $V=Q/C$ によってえられる dilution volume より真の血液量を計算する上に必要な係数である。前述のごとく、Hct_v は小血管の血球相 / 液相のいかんとは無関係である。Hct_o を求めるには、 ^{51}Cr による血球量と RISA による血漿量に対する ^{51}Cr による血球量の百分率を求める必要がある。したがって、single tracer のみでは被検者および被検状態の F cell ratio 未知のまま血液量を測定することになるので、血液量測定値に誤差を生じやすい。

Davis, Topley, Chaplin ら諸家の成績を総合すると^{6, 14-19)}、F cell ratio は 0.89~0.94 の比較的狭い範囲に限局されているが、個人および状態のいかんにより、その値はかなり変動する^{13,14,20)}。

われわれは、後述の dual tracer を使用し、200例につき F cell ratio を算出、他の成績と比較検討した。

その結果は次のごとくである。

被検例200例のうち、65例は 0.85~1.00、22例は 0.85 以下、13例は 1.01 以上で、最低は 0.75、最高は 1.12 であった (Table 1)。すなわち全体の82.5%が 0.85~1.00 の範囲にあり、F cell ratio を 0.915 として計算した場合、その誤差範囲は $\pm 2.5\%$ に止ることがわかった。

^{51}Cr 単独使用による血液量の測定値は F cell ratio による補正前では、補正後と比較すると前者が後者より一般に小となる。逆に RISA の場合は補正前の値のほうが大である。この差は Hct_v が大きくなるほど、さらに拡大される (Table 2, 3)。

Table 1. 被検例200例における F cell ratio の分布

F cell ratio range	Number of cases	Per cent of cases
1.10-1.15	1	0.5
1.05-1.09	2	1.0
1.00-1.04	13	6.5
0.95-0.99	33	16.5
0.90-0.94	74	37.0
0.85-0.89	58	29.0
0.80-0.84	18	9.0
0.75-0.79	1	0.5

Average F cell ratio = 0.915

II. Dual Tracer 同時使用の問題

循環血液量測定時、血球量および血漿量はおのおの別箇の tracer にて測定すべき旨を強調したが、これらの測定はあくまで同一生理条件下で行なわれなくては無意味である。循環動態が刻々変化しているような場合、たとえば手術後の測定には血球および血漿量測定をおのおの異なった時間に行なうと、たとえその間の循環血液量が不動であっても、測定値の信頼度は低下する。

以上の理由から、血球および血漿量を dual tracer により同時に測定する試みを企てた。これは、たとえばカメラで SLR-BTL により正確な被写体露出を求めようとする意図と同様なものと解釈してよい。

方法

¹²⁵I は weak gammer emmitor, 25 KeV であり、一方 ⁵¹Cr は 325KeV でかなりの較差があるため、両者併用時にも discriminator の使用によりおのおののカウント値をうることは可能である。

われわれの方法では 15~20 μ c ⁵¹Cr 標識赤血球と、1~2 μ c ¹²⁵I 標識アルブミンと混合、食塩水または dextran を添加、10ml の standard として使用した。discriminator としては Nuclear Chicago Radio Analyzer Model No. 10 を使用し、ultrascaller model 192-A および well-counter に coil 挿入法を応用した²²⁾。

⁵¹Cr に対しては basal level を 290, window を 6, gain を 4, MeV 2.00 にセットし、scaler は 2,500 ヴォルトにセットして測定した。一方 ¹²⁵I に対しては basal level を 10.0 に変更する以外は ⁵¹Cr と同様のセッティングで測定した。その結果 ¹²⁵I の activity は ⁵¹Cr のセッティング

にまったく記録されず、⁵¹Cr のカウント値には無影響であった。一方、¹²⁵I のカウント値には basal level 290 の ⁵¹Cr のカウント値の 19% 相当分が含まれるため、basal level 10 のカウント値よりその分を控除する必要があった。さらに scaler のヴォルトを変更することにより、¹²⁵I カウント値への ⁵¹Cr の影響を 4% 内外に低下できたが、正確度からみると、前述の方法のほうが信頼度が高い。⁵¹Cr, ¹²⁵I とともに coil 法を使用した。 ¹²⁵I が polyethylene tube に附着する傾向があるので、teflon tube (B-D. STx 0.76) に変更、クロール含有クレンザーを熱湯 (45~60°C) に混合、約10分間洗浄することにより完全に除去できた。

III. 計算法

a. ⁵¹Cr 標識赤血球使用時

1) $V = \frac{Q}{C_e}$ = dilution volume (Q: 注入 tracer 総量, C_e: 採血サンプルカウント値)

2) 血球量 = dilution volume \times Hct_v (Hct_v: 採血サンプルの Hct)

3) 循環血液量 = dilution volume $\times \frac{Hct_0}{Hct_v} \times F \text{ cell ratio}$
 F cell ratio = $\frac{Hct_0}{Hct_v} = 0.915$ であるから、循環血液量 = dilution volume $\times \frac{1}{0.915} = \text{dilution volume} \times 1.1$ で計算できる。

b. ¹²⁵I または ¹³¹I 標識アルブミン使用時

1) $V = \frac{Q}{C_o}$ (C_o: 2 回以上サンプルを採血、半対数グラフ上にえられた 0 時間の tracer カウント値)

Table 2. 計算実例

		血液量	血球量	血漿量
Counted without F cell ratio	By ⁵¹ Cr	$V = \frac{Q}{C_e} = 4.577$	$V \times Hct_v = 1.830$	$V - \text{血球量} = 2.747$
	By ¹²⁵ I	$V = \frac{Q}{C_o} = 5.283$	$V - \text{血漿量} = 2.113$	$V \times (1 - Hct_v) = 3.170$
Counted with F cell ratio	By ⁵¹ Cr	$V \times \frac{1}{F \text{ cell ratio}} = 5,000$	$V \times Hct_v = 1.830$	血液量 - 血球量 = 3.170
	By ¹²⁵ I	$V \times Df = 5,000$	血液量 - 血漿量 = 1.830	$\frac{Q}{C_o} \times (1 - Hct_v) = 3.170$

註: Hct_v=40%, Df=0.948 at Hct 40%, F cell ratio=0.915として計算

Table 3. マイクロヘマトクリット法により4分間遠沈後のヘマトリット, 補正ヘマトクリット, Df 換算表

Hct %	Corr.	1-Hct %	Df	Hct %	Corr.	1-Hct %	Df		
13	12.8	87.2	0.985	41.5	39.5	60.5	0.945		
13.5	13.3	86.7		42	39.9	60.1			
14	13.8	86.2		42.5	40.4	59.6			
14.5	14.2	85.8		43	40.8	59.2			
15	14.7	85.3		43.5	41.3	58.7			
15.5	15.2	84.8		44	41.7	58.3			
16	15.7	84.3		44.5	42.1	57.9			
16.5	16.2	83.8		45	42.6	57.4			
17	16.7	83.3		45.5	43.0	57.0			
17.5	17.1	82.9		46	43.5	56.5			
18	17.6	82.4	0.980	46.5	43.9	56.1	0.935		
18.5	18.1	81.9		47	44.4	55.6			
19	18.6	81.4		47.5	44.8	55.2			
19.5	19.0	81.0		48	45.3	54.7			
				48.5	45.7	54.3			
20	19.5	80.5		49	46.1	53.9			
20.5	20.0	80.0		49.5	46.6	53.4			
21	20.5	79.5		0.975	50	47.0		53.0	0.930
21.5	20.9	79.1			50.5	47.5		52.5	
22	21.4	78.6			51	47.9		52.1	
22.5	21.9	78.1	51.5		48.4	51.6			
23	22.4	77.6	52		48.8	51.2			
23.5	22.8	77.2	52.5		49.2	50.8			
24	23.3	76.7	53		49.7	50.3			
24.5	23.8	76.2	53.5		50.1	49.9			
25	24.3	75.7	54		50.5	49.5			
25.5	24.7	75.3	54.5		51.0	49.0			
26	25.2	74.8	0.970	55	51.4	48.6	0.920		
26.5	25.7	74.3		55.5	51.8	48.2			
27	26.1	73.9		56	52.3	47.7			
27.5	26.6	73.4		56.5	52.7	47.3			
28	27.1	72.9		57	53.1	46.9			
28.5	27.5	72.5		57.5	53.6	46.4			
29	28.0	72.0		58	54.0	46.0			
29.5	28.5	71.5		58.5	54.4	45.6			
				59	54.9	45.1			
30	28.9	71.1		59.5	55.2	44.8			
30.5	29.4	70.6	0.965	60	55.7	44.3	0.905		
31	29.9	70.1		60.5	56.2	43.8			
31.5	30.3	69.7		61	56.6	43.4			
32	30.8	69.2		61.5	57.0	43.0			
32.5	31.2	68.8		62	57.4	42.6			
33	31.7	68.3		62.5	57.9	42.1			
33.5	32.2	67.8		63	58.3	41.7			
34	32.6	67.4		63.5	58.7	41.3			
34.5	33.1	66.9		64	59.1	40.9			
35	33.5	66.5		64.5	59.6	40.4			
35.5	34.0	66.0	0.955	65	60.0	40.0	0.890		
36	34.5	65.5		65.5	60.4	39.6			
36.5	35.0	65.0		66	60.8	39.2			
37	35.4	64.6		66.5	61.3	38.7			
37.5	35.8	64.2		67	61.7	38.3			
38	36.3	63.7		67.5	62.1	37.9			
38.5	36.7	63.3		68	62.5	37.5			
39	37.2	62.8		68.5	62.9	37.1			
39.5	37.6	62.4		69	63.3	36.7			
				0.950	69.5	63.8		36.2	0.875
40	38.1	61.9					0.870		
40.5	38.6	61.4					0.865		
41	39.0	61.0							

- 2) 血漿量 = V (dilution volume) \times (1-Hct_v)
- 3) 循環血液量 = 血漿量 $\times \frac{1}{1-(\text{Hct}_v \times \text{F cell ratio})}$ または
 $= V \times \left[\frac{(1-\text{Hct}_v)}{1-(\text{Hct}_v - 0.915)} \right]$
- 4) 血球量 = 循環血液量 - 血漿量
 $\left[\frac{1-\text{Hct}_v}{1-(\text{Hct}_v - 0.915)} \right]$ を dilution factor とする. (Df)

計算上の繁雑を避けるため、予め Df を計算しておく、図表上に Df を求めるのみで、血液量を計算することが可能である (Table 3).

以上の計算式により single tracer によっても実際値と近似した値がえられるが、Table 4 のように F cell ratio は同一患者でもかなりの変動を示すので厳密な検査成績が要求される場合には、当然 dual tracer を使用する必要がある。dual tracer による計算法は II. 方法の項と single tracer の計算式を参照されたい。

IV. 計算実例

実例により F cell ratio を考慮する場合と、しない場合との数値の差を示すと Table 2 のごとく、single tracer 使用時でも、正常時には F cell ratio を加味することにより実際値に近似する点、注目し値する。

V. 反覆検査による誤差

放射性アイソトープによる反覆検査では、次の3点に注意を要する。

- 1) 短時間内に反覆して測定を行なうと、生体内の

radioactive background は順次上昇する。ゆえに注入 tracer もそれに平行して増量の必要がある。

2) ⁵¹Cr の radioactivity は血球相に、¹²⁵I のそれは液相に限局しており、採血サンプルの Hct の変動とともにその radioactivity は当然変動する。ゆえに、反覆検査の場合は、⁵¹Cr を例にとると、血球量 = $\frac{Q}{\text{Ce}} \times \text{Hct}_v = \frac{Q}{(\text{採血サンプルカウント値}) - (\text{患者の background})} \times \frac{\text{Hct}_v}{\text{Hct}'}$

となる (Hct': 患者 background の Hct)。サンプルの Hct_v と、反覆検査前患者の Hct' とが異なる場合、当然測定値が変動するので、background、サンプル採血時の Hct の両者を測定する必要がある。なお Hct は trapped plasma を補正するために Table 4 により、補正 Hct をえて計算する。RISA の場合も同様に、採血毎に Hct を測定し、

$$\text{血漿量} = \frac{Q}{(\text{RISA サンプルカウント値}) - (\text{background})} \times \frac{\text{Hct}_v}{(1-\text{Hct}_v) - (1-\text{Hct}')}$$

にて計算する。

3) さらに RISA 使用時には、その background はアルブミンの血管外洩出のため、次第に低下する。それゆえ、反覆検査のさいには、前回およびそれ以前に注入したアルブミンがときを追って喪失しているゆえ、background が想像以上に低下していることを念頭に置く必要がある。そのためには、サンプル採血後 dilution volume を求めるさいに、サンプルのカウント値より、まず atmospheric background を控除、次に 0 時間のカウント値を求めた後に、患者の background のカウント値を控除する (Fig. 3)。

Table 4. F cell ratio の変動

	Preop.	Anesthesia	Postop.
Dilution volume by ¹²⁵ I	5,025 ml	4,670	5,300
Dilution volume by ⁵¹ Cr	4,310	4,510	3,820
Plasma volume by ¹²⁵ I	2,900	2,900	2,880
Red cell volume by ⁵¹ Cr	1,780	1,725	1,730
Total blood volume	4,680	4,625	4,610
Hct _v (%)	41.3	38.0	45.2
Hct ₀ (%)	38.0	37.4	37.5
F cell ratio (Hct ₀ /Hct _v)	0.92	0.98	0.83

Operative procedure: Inguinal hernia repair

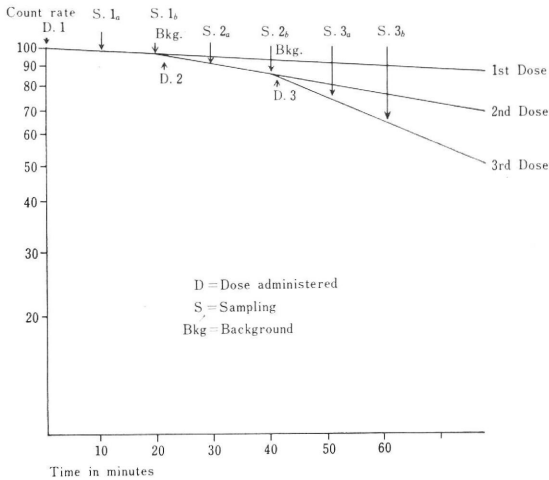


Fig. 3. 反覆検査時の RISA 血管外洩出度 (^{125}I)

結 語

生体の循環血液量測定には *in vitro* の場合と異なり、希釈計算式に循環動態の影響を考慮に入れる必要がある。すなわち、個人差、ショック、低温時、末梢血管収縮、あるいは shunt 時の tracer 均等分布時間の変動、F cell ratio, dilution factor 等が測定値に重大な影響を与える。

Single tracer により血球相、液相の絶対値をおのおの測定することは可能ではあるが、循環動態が急激に変動する場合は single tracer によって測定した血液量測定値は前述の理由により誤差を含みやすい。それゆえ dual tracer を用いて同時に両相を測定、血液量を計上する必要がある。

以上のごとく循環血液量測定には, methodology がその測定値に決定的な影響をおよぼすことを銘記する必要がある。

文 献 1) Fahlsing, W. C. & Jones, R.: Failure of radioactive iodized serum albumin in the determination of blood volume, *J. Int. Coll. Surgeons (Sect. I)*, **40**: 527, 1963. 2) McMurry, J. D., Garrett, H. E. & DeBakey, M. E.: Blood volume measurements in patients receiving cardiovascular surgical treatment, *Cardiovasc. Res. Ctr. Bull.*, **2**: 51, Winter, 1962-63. 3) Gregersen, M. I. & Rawson, R. A.: Blood Volume, *Physiol. Rev.*, **39**: 307, 1959. 4) Shoemaker, W. C. & Iida, F.: Studies on the equilibration of labeled red

cells and T-1824 in hemorrhagic shock, *Surg. Gynec. Obst.*, **114**: 539, 1962. 5) Albert, S. N., Jain, S. C. & Shadid, J. N.: Studies on blood viscosity and its significance in anesthesia, *Med. Annals of D. C.*, **33**: 372, 1964. 6) Albert, S. N., Jain, S. C., Shibuya, J. & Albert, C. A.: Hematocrit in Clinical Medicine, Springfield, Ill., C. C. Thomas, in press. 7) Iida, F., Richter, H. M., Jr. & Shoemaker, W. C.: Measurement of rapidly and slowly circulating red cell volumes in thermal injury, *Surg. Gynec. Obst.*, **114**: 701, 1962. 8) 渋谷 穰: 臨床的に役立つ循環血液量の測定, *麻酔*, **7**: 234, 1958. 9) Berson, S. A. & Yalow, R. S.: The use of E-42 or P-32 labelled erythrocytes and ^{131}I tagged human serum albumin in simultaneous blood volume determinations, *J. Clin. Invest.*, **31**: 572, 1952. 10) Gitlin, D.: Distribution dynamics of circulating and extravascular ^{131}I plasma proteins, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **70**: 122, 1957. 11) Albert, S. N.: Blood Volume, Springfield, Ill., C. C. Thomas, 1963. 12) Albert, S. N.: Blood Volume, Scintillater, (May 15), 1964 (Bull. Picker X-ray Corp., White Plains, N. Y.). 13) Chang, C. B. & Shoemaker, W. C.: Effect of hypothermia on red cell volumes, *J. Thor. Cardio. Surg.*, **46**: 117, 1963. 14) Chaplin, H. Jr., Mollison, P. L. & Vetter, H.: The body / venous hematocrit ratio. Its constancy over a wide hematocrit range, *J. Clin. Invest.*, **32**: 1309, 1953. 15) Reeve, E. B. & Veall, N.: Simplified method for determination of circulating red-cell volume with radioactive phosphorus, *J. Physiol.*, **108**: 12, 1949. 16) Davies, J. W. L.: A critical evaluation of red cell and plasma volume techniques in patients with burns, *J. Clin. Path.*, **13**: 105, 1960. 17) Davies, J. W. L. & Topley, E.: A critical evaluation of red cell and plasma volume techniques in patients with civilian injuries, *J. Clin. Path.*, **12**: 289, 1959. 18) Deavers, S, Smith, E. L. & Huggins, R. A.: Rate of disappearance from the circulation of multiple injections of T-1824 and I-131 tagged albumin, *Cardiovasc. Res. Ctr. Bull.*, **2**: 43, winter, 1963. 19) Chaplin, H. Jr.: Correction for plasma trapped in red cell volume of the hematocrit, *Blood*, **7**: 1227, 1952. 20) Theye, R. A.: Hemodynamics and blood volume during operation under ether anesthesia and unreplaced blood loss, *Anesthesiology*, **25**: 251, 1964. 21) Albert S. N., Shibuya, J. et al.: A plastic coil simplifying radioactive liquid phase counting, *J. Lab. Clin. Med.*, **48**: 471, 1956.

Summary

Problems in Measurements of Circulating Blood Volume

Jo Shibuya, M. D., S. N. Albert, M. D.,

C. A. Albert, M. D. & Yoshihiro Hiramatsu, M. D.

Some investigators claim the blood volume measurements are meaningless and the results are unrelated with the clinical pictures.

In order to clarify the underlying difficulties of blood volume measurements, critical analysis of 35,000 cases done at our laboratory was made.

Blood volume is measured indirectly by determining the extent of dilution of a tracer with the intravascular content. By utilizing a single tracer either red cell or plasma volume is primarily measured, and the dilution ratio obtained does not represent blood volume. The hematocrit indicates the volume red cells occupy in the sample of blood drawn from a peripheral vessel. The hematocrit of the blood sample does not reflect the actual cellular proportion of blood found in different parts of the vascular bed. In minute vessels, the hematocrit is low and in larger vessels it is higher. Under normal conditions, the average hematocrit throughout the body is 91 per cent of the hematocrit obtained on a blood sample removed by venipuncture. This factor of 91 per cent (F cell ratio 0.91) varies between 0.70-1.20 under different conditions. The result obtained in our recent study on 200 blood volume determinations in patients of various conditions by means of dual tracers have shown that F cell ratio varied between 0.875 and 0.999 in 170 cases, and overall average 0.915. The per cent error of blood volume, red cell volume and plasma volume calculated on the basis of a single tracer, taking into account an F cell ratio of 0.915 was negligible. In 91 per cent of the cases it ranged between ± 2.5 per cent.

One of the basic principles involved in measuring blood volume is to obtain an equilibrated, well mixed sample. This is particularly important and most often encountered when labeled red cells are administered as a tracer material. In most instances mixing is complete within 10 minutes, but more frequently than anticipated, equilibration time is substantially prolon-

ged, and one can not depend on the concentration of the tracer obtained on a single sample arbitrarily at 10 or 15 minutes time interval following the administration of a tracer. In conditions where ventilation is depressed, when blood-viscosity is elevated, under hypothermia, in dehydration, in shock, in a marked vasodilatation, when blood shunts exist, equilibration time is prolonged. Therefore, the calculation should be based on two or three different samples taken at different time.

Labeled albumin normally is lost from intravascular bed at a slow rate 10 per cent per hour. But from our study, the rate of loss from the intravascular bed of the labeled albumin may vary from 10 to 30 per cent per hour. Therefore, calculation should not be based on a single sample at a fixed time interval following injection. To correct for this variable, one should establish the rate of the albumin tracer elimination and establish a corrected concentration at zero time before loss. For this purpose, it is necessary to plot the concentration of the labeled albumin tracer in blood versus time on semi-logarithmic paper and extrapolate the decay curve back to zero time; the sample taken at 7.5 and 15 minutes intervals seem to adequately reflect the rate of elimination. When total blood volume is calculated by albumin labeled tracer, here again hematocrit of the blood sample must be corrected by F cell ratio; in this case by Dilution factor (DF).

To accurately measure total blood volume, the cellular and plasma elements of blood should be measured separately. For this purpose a dual tracer technique utilizing an albumin labeled tracer would measure plasma volume and labeled red cells will measure red cell volume. To avoid separation of plasma from cells and counting each separately ^{125}I and ^{51}Cr labeled cells can be utilized together and counted separately in the presence of each other in a mixed sample of blood by means of discriminating pulse height analyzer.