

Referenzbereiche – »Haben Sie da was von Sysmex?«

Xtra Austria | Februar 2011 | Nr. 4

Ein einzelnes Messergebnis ist, für sich betrachtet, zunächst einmal ein wenig aussagekräftiger Wert. Erst im Vergleich mit anderen Werten kann eine Aussage getroffen werden. Im Vergleich mit Vorwerten desselben Patienten ist ersichtlich, ob der Wert steigt oder fällt. Im Vergleich mit Werten von Gesunden kann beurteilt werden, ob der Wert sich in einem für Gesunde typischen Bereich befindet. Im Vergleich mit Entscheidungsgrenzen kann beurteilt werden, ob bestimmte weitere medizinische Maßnahmen indiziert sind.

Der für Gesunde typische Bereich wird **Referenzintervall** genannt. Häufig wird salopp auch von einem »Normalbereich« gesprochen. Was aber ist »normal«? Laborwerte können durch eine Vielzahl von Parametern beeinflusst werden, von Geschlecht und Alter bis hin zu Ernährungsgewohnheiten (mehr dazu später). »Referenzintervall« bedeutet »Bezugsbereich« und es ist wichtig zu wissen, worauf man sich bezieht. Ist der Bezugspunkt tatsächlich vergleichbar? Nur wenn dies der Fall ist, ist ein Referenzintervall auch auf konkretes Patientengut anwendbar.

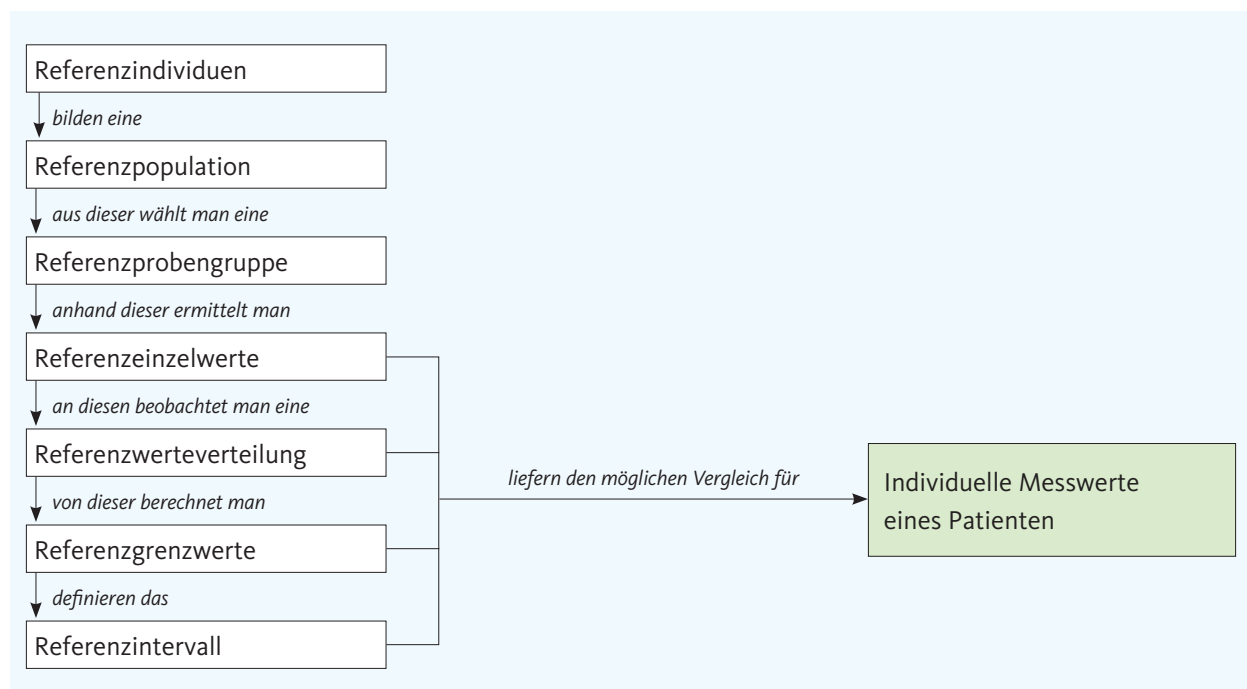


Abb. 1 Begriffsbeziehungen

Per Definition besteht die Referenzpopulation aus allen Referenzindividuen. Im besonderen Falle kann dies ausschließlich der Patient selbst mit seinen Vorwerten sein. Oftmals handelt es sich jedoch um große Populationen, bei denen das repräsentative Probenkontingent leicht zum Hindernis werden kann. Es können viele Kriterien (Alter, Geschlecht, Ethnie, Gesundheitszustand ...) herangezogen werden, um eine Referenzpopulation weiter zu definieren. Wenn bekannt ist, dass Messwerte z. B. in Abhängigkeit vom Alter oder Geschlecht unterschiedlich sind, werden Untergruppen aus Referenzindividuen erforderlich; auch können z. B. Patientengruppen, die an einem bestimmten Krankheitsbild leiden, als sinnvolle Referenzpopulation für einzelne Patienten mit dieser Krankheit dienen. Diese speziellen Referenzwerte sind z. B. hilfreich bei der Remission einer akuten Leukämie, nach einer Knochenmarktransplantation oder während einer Schwangerschaft. Die am häufigsten verwendeten Referenzwerte stammen erwartungsgemäß aus einer gesunden Population. Hierbei stellt sich jedoch die Schwierigkeit, »gesund« zu definieren. Es gibt keine klaren Kriterien, »kranke« Personen aus einer Referenzpopulation zu eliminieren.

Gern wird auf vermeintlich »gesunde« Referenzgruppen wie Blutspender, junge Ärzte, Krankenschwestern, MTAs und Medizinstudenten zurückgegriffen. Für solche leicht zugänglichen Referenzgruppen hat sich aber gezeigt, dass deren Ergebnisse von der Gesamtpopulation signifikant verschieden und damit nicht repräsentativ sind. Eine klare Beschreibung der Prozedur für die Bestimmung der Referenzpopulation ist nötig, damit die Referenzwerte brauchbar sind:

1. Die Messergebnisse eines Patienten müssen mit den zu ihm passenden Referenzwerten verglichen werden. Die gleichen Referenzwerte können nicht für verschiedene Zwecke (z. B. physiologische Studien an Sportlern oder Therapieüberwachung eines definierten Krankheitsbildes) verwendet werden, daher muss die Beschreibung die Zweckbestimmung der Referenzwerte enthalten.
2. Ferner müssen die Kriterien, anhand derer Individuen in die Referenzpopulation aufgenommen oder von ihr ausgeschlossen wurden, dargelegt werden. Muss die Population in Untergruppen geteilt werden (z. B. Alter, Geschlecht), so müssen diese Angaben bzw. Eigenschaften für jedes Referenzindividuum bekannt sein.
3. Die Referenzindividuen sollten grundsätzlich so vergleichbar wie möglich mit den Patienten sein, für die die Referenzwerte verwendet werden. Faktoren, die die Referenzwerte bekanntermaßen beeinflussen und dabei ggf. zu berücksichtigen sind:
 - Geschlecht, Alter, Ethnie, sozialer Status und berufliche Tätigkeit, Umweltbedingungen
 - Ernährungszustand
 - Umstände der Probengewinnung

Faktoren, die zu unterschiedlichen Referenzwerten in der Hämatologie führen können, sind unter anderem:

- Präanalytische Logistik, Probenalter
 - Transport
 - Wärmeexposition
- Unterschiedliche Ernährungsgewohnheiten
 - Eisenstatus!
 - Dehydratisierung
- Unterschiedliche körperliche Aktivität
- Lebensumfeld in deutlich unterschiedlicher Höhe über Meeresspiegel
- Exposition gegenüber bestimmten Chemikalien durch Arbeit, Umweltverschmutzung, Rauchverhalten ...
- u. a.

Wie aber stelle ich angesichts dieser Fülle von Faktoren sicher, dass ein Referenzintervall für mein Patientengut anwendbar ist?

Die theoretisch einfachste – und von der International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) empfohlene – Methode, dies sicherzustellen, ist die eigenständige Erhebung von Referenzintervallen durch das Labor. Hierzu werden aus einer geeigneten Referenzpopulation geeignete Referenzgruppen ausgewählt (z. B. eine Gruppe Männer, eine Gruppe Frauen). Jede untersuchte Gruppe sollte nach dem Ausschluss von Probanden, die nicht die Einschlusskriterien erfüllen, mindestens 120 Probanden umfassen. Um Proben von Personen auszuschließen, die nicht für die Referenzgruppe geeignet sind, weil sie z. B. Medikamente nehmen, die die zu untersuchenden Messwerte beeinflussen oder sich ungewöhnlich ernähren, ist ein Fragebogen nützlich, wie er in der CLSI/IFCC-Empfehlung C28-A3 auf den Seiten 10 und 11 zu finden ist. Als Referenzintervall wird dann der Bereich definiert, in dem sich 95% der Probanden befinden. Kann ein Parameter sowohl zu hoch als auch zu niedrig sein – wie bei den meisten hämatologischen Parametern – werden hierzu sowohl die oberen 2,5% als auch die unteren 2,5% der Werte verworfen und der verbleibende Bereich als Referenzbereich verwendet. Kann der Messwert nur zu hoch, nicht aber zu niedrig sein, wie häufig bei Zellzählungen in der Urinanalytik, so werden schlicht die oberen 5% verworfen. Es gibt auch eine Methode, die Berechnungen mit nur 80 Probanden durchzuführen, allerdings ist diese ungleich mathematisch komplexer.

Werden unterschiedliche Untergruppen betrachtet, z. B. Männer und Frauen, so kann nach Erhebung der Werte geprüft werden, ob diese sich statistisch signifikant unterscheiden. Ist dies nicht der Fall, können die Werte zu einem gemeinsamen Referenzintervall zusammengefasst werden.

Sowohl 80 als auch 120 Probanden werden aber vielfach als nicht vertretbarer Arbeitsaufwand erachtet – insbesondere dort, wo mehrere Untergruppen betrachtet werden, sodass für jede dieser 120 Probanden benötigt werden. Da es aber aus den geschilderten Gründen nicht zulässig ist – ja für Patienten sogar gefährlich sein kann – einfach ein anderweitig publiziertes Referenzintervall zu übernehmen, muss dessen Eignung als Bezugspunkt in jedem Fall überprüft werden. Um dies zu tun, schlägt die IFCC folgendes Verfahren vor:

Es werden 20 lokale Referenzproben genommen und mit dem anderweitig publizierten Referenzintervall verglichen. Sind nicht mehr als 2 der 20 Proben außerhalb dieses Intervalls, kann es verwendet werden. Sind 3–4 Proben außerhalb des Referenzintervalls, müssen weitere 20 neue Proben genommen werden. Sind hier nicht mehr als 2 der 20 Proben außerhalb des Intervalls, kann es genutzt werden. Sind hier wiederum mehr als 2 oder gleich zu Beginn 5 oder mehr Proben außerhalb des publizierten Intervalls, ist es für die Verwendung als Bezugspunkt für das lokale Patientengut nicht geeignet. Als Alternative bleiben die Neuerhebung (siehe oben) oder die Validierung eines anderen, abweichenden Referenzintervalls.

Faktoren, die zu unterschiedlichen Referenzwerten in der Urinanalytik führen können, sind unter anderem:

- Präanalytische Logistik, Probenalter
 - Transport
 - Konservierungsmittel
 - Licht- und Wärmeexposition
- Unterschiedliche Ernährungsgewohnheiten
- Unterschiedliche körperliche Aktivität
- Unterschiede bei der Probennahme
 - Erster vs. zweiter Morgenurin
 - Mittelstrahlurin, Katheterurin ...
 - Hygiene des Genitalbereiches
 - Während in der Hämatologie die Probennahme i. d. R. durch einen Arzt oder unter ärztlicher Aufsicht erfolgt, ist dies in der Urinanalytik nicht der Fall > Sind Instruktionen für die Spender vorhanden?
- Exposition gegenüber bestimmten Chemikalien durch Arbeit, Umweltverschmutzung, Rauchverhalten ...
- u. a.

Auch wenn Sysmex als Hersteller zur Orientierung Referenzintervalle zur Verfügung stellen muss und dies in verschiedenen Publikationen tut, können diese daher nicht blind auf Patientengut angewandt werden.

Liegt ein Patientenwert außerhalb des Referenzintervalls, so deckt er sich zwar nicht mit dem Gros der Referenzpopulation – aber daraus resultiert nicht notwendigerweise, dass medizinische Schritte geboten sind. Zum einen liegen ja ohnehin 5% der Referenzpopulation außerhalb des Referenzintervalls – der Patient könnte somit zu diesem Anteil gehören (man beachte: 5% = 1 Patient von 20!).

Zum anderen ist bei vielen Krankheiten bei einer milden Form gar kein Einschreiten notwendig. Stattdessen vergleicht man hier mit Entscheidungsgrenzen, sogenannten »Cut-off-Werten«. Diese können z. B. durch Analyse einer Receiver Operating Characteristic (ROC)-Kurve festgelegt werden (siehe dazu auch Themenblatt »Eine Einführung zur Wahrheit und Aussagekraft diagnostischer Messwerte in der medizinischen Statistik«, Sysmex Xtra 2/2009). Auch in vielen anderen Bereichen ist nicht entscheidend, ab wann ein Wert nicht mehr als »normal« betrachtet werden kann, sondern ab wann eine Diagnose sicher gestellt werden kann. Bei chronischen Krankheiten können Entscheidungsgrenzen auch z. B. nach therapeutisch-medizinischen Gesichtspunkten festgelegt werden. Hierbei ist dann entscheidend, in welchem Bereich man die Situation des Patienten als stabil ansieht und wann eine Änderung der Therapie indiziert ist. Grundsätzlich können hier auch – wie oben beschrieben – analog Methoden für die Ermittlung eines Referenzintervalls auf eine Referenzgruppe stabiler Patienten angewandt werden. Vielfach beruhen aber solche Entscheidungsgrenzen auch schlicht auf medizinischer Erfahrung und Konsensfindung des entsprechenden Fachgebietes.

Die beschriebene Methode zur Bestimmung von Referenzintervallen ist eine sogenannte nicht-parametrische Methode. Im Gebrauch sind auch parametrische Methoden, die über einen Mittelwert \pm doppelte Standardabweichung ein Referenzintervall bestimmen. Allerdings setzen diese voraus, dass der untersuchte Parameter der Normal- oder Gaussverteilung folgt, was für viele Parameter nicht gegeben ist. In einigen Fällen kann eine sogenannte Log-Transformation, d.h. eine Überführung der Werte in ihren Logarithmus, einen nicht-normalverteilten Parameter in eine Normalverteilung überführen. Allerdings erhöhen diese und die Rücktransformation den mathematischen Aufwand. Vorteil dieser Methode ist theoretisch, dass sie mit weniger Probanden auskommt. Die Nichtanwendbarkeit auf viele Parameter und die notwendige Prüfung auf Normalverteilung erhöhen aber den mathematisch-logistischen Aufwand beträchtlich.