

# CAT

## Critically Appraised Topic

### Titel:

Evaluatie van klinische impact, diagnostische performantie en veilig gebruik van S100 in management van patiënten met mild hersentrauma op de spoedgevallendienst

Author: Annelies Louwagie  
Supervisor: Apr. Hendrik De Puydt  
Search/methodology verified by: Apr. Hendrik De Puydt  
Date: 27/03/2018

### CLINICAL BOTTOM LINE

---

**Introductie:** Acuut hersentrauma (TBI, traumatic brain injury) is een frequent voorkomende aanmeldingsklacht op de spoedgevallendienst. Op basis van ernst wordt TBI verder onderverdeeld in minimale, milde, matige en ernstige hersentrauma's. Mild TBI (mTBI) vertegenwoordigt de grootste groep (70-90% van alle TBI). Hoewel de meeste patiënten met mild TBI medische hulp zoeken, wordt slechts bij een minderheid (5%) uiteindelijk een intracranieële laesie gevonden; <1% heeft neurochirurgische interventie nodig.

Om die zeldzame, maar toch gevreesde intracraniale complicaties te identificeren, is het nemen van een CT-scan van de hersenen de gouden standaard. Door het grote aandeel van deze patiënten en de zeldzaamheid van pathologie in deze patiëntpopulatie werd onderzoek gedaan om het aantal CT's in deze groep te reduceren. De Scandinavian Neurotrauma Committee guidelines (SNC) werden gepubliceerd in 2013. Het is de eerste guideline die gebruik maakt van een biomerker, S100B, als diagnostische tool om een reductie te bekomen in het aantal CT's bij een aantal patiënten met mTBI en laag risico op een intracranieële complicatie. De biomerker heeft een lage specificiteit voor intracranieële laesies, maar door de zeer hoge sensitiviteit in deze patiëntengroep is het een uitstekende negatief predictieve merker.

**Methoden:** In de spoedgevallendienst van het AZ Sint-Lucas in Gent werd recent een algoritme geïntroduceerd voor CT-scan gebruik voor mTBI bij volwassenen afgeleid van de SNC13 guidelines. Dit algoritme – en bijgevolg ook de labotest S100B – werden op vraag van de spoedartsen geïmplementeerd zonder een voorafgaande klinische validatie.

**Doel:** Het doel van deze CAT is om de meerwaarde van S100B in het management van volwassen patiënten met mTBI in AZ Sint-Lucas te evalueren, rekeninghoudend met bovengenoemde beperking. Daarnaast willen we de theoretische veiligheid en het kostenbesparend vermogen van deze biomerker in onze populatie in kaart brengen. Ook correct gebruik van de biomerker en compliantie aan de huidige guidelines worden nagegaan. Tevens willen we nagaan in welke mate de afkapwaarde van 0,105 µg/L in staat is om de afwezigheid van intracranieële pathologie en neurochirurgische interventie te voorspellen.

**Conclusies:** S100B kan veilig gebruikt worden als tool om intracranieële laesies uit te sluiten bij een geselecteerde mTBI groep. Indien het algoritme correct toegepast wordt, biedt dit een mogelijkheid om een significante reductie te bekomen in het aantal CT's. In de praktijk zien we echter dat de parameters van de richtlijn moeilijk te beoordelen zijn, en dat het aanvragen van S100B maar in 55% van de gevallen correct gebeurt. In de huidige situatie kan dit mogelijks zelfs leiden tot een toename in het aantal CT's. Bovendien werd in de periode september 2017- februari 2018 slechts 103 bepalingen van S100B uitgevoerd. Voorlopig zien wij dus geen meerwaarde in het verder aanbieden van S100B.

## CLINICAL/DIAGNOSTIC SCENARIO

---

In de literatuur worden verschillende definities van traumatische hersenschade (TBI, traumatic brain injury) gehanteerd. De meeste recente en beknopte definitie van traumatisch hersenletsel is “een verandering in hersenfunctie of andere evidentie voor hersenpathologie, veroorzaakt door een externe kracht”(1).

Met “verandering in hersenfunctie” definieert men klinische symptomen zoals bewustzijnsverlies, amnesie, neurologische uitval (m.i.v. sensorieel verlies of zwakte) of om het even welke vorm van verandering in mentale status zoals desoriëntatie of verwarring. Een “externe kracht” behelst verschillende mechanismen zoals stoten van het hoofd tegen een object, een val op het hoofd, snelle acceleratie-deceleratie, krijgen van een hard voorwerp tegen het hoofd of andere krachten veroorzaakt door bijvoorbeeld explosies(1).

Acuut TBI (<24 uur na event) is wereldwijd een frequent voorkomende aanmeldingsklacht op de spoedgevallendienst(2). Volgens een recente systematische review bedraagt de jaarlijkse Europese incidentie en mortaliteit van TBI respectievelijk 47.3-849 per 100 000 en 9-28.1 per 100 000. De meest voorkomende oorzaken van TBI in Europa zijn verkeersongevallen (VKO) en vallen(3). Het aandeel van TBI veroorzaakt door VKO vertoont een dalende trend en het aandeel veroorzaakt door een val neemt relatief toe, terwijl de incidentie in Europa stabiel is gebleven(3,4). De meeste TBI komen voor in de leeftijdscategorie >75 jaar, 0-4 jaar en 15-24 jaar. TBI komen meer voor bij mannen dan bij vrouwen, uitgezonderd in de oudere bevolking waar een hogere incidentie waargenomen wordt bij vrouwen(5). De associatie tussen alcohol en TBI is disproportioneel hoog: 30 tot 40% van patiënten gehospitaliseerd in kader van TBI zijn onder invloed van alcohol(6).

Acuut TBI wordt verder onderverdeeld in minimale, milde, matige en ernstige hersentrauma's op basis van het bewustzijn van de patiënt bij aankomst op de spoedgevallendienst. De Glasgow Coma Schaal (GCS) is de universele methode die hiervoor gebruikt wordt (bijlage 1). De uiteindelijke score wordt bepaald door een gecombineerde EMV evaluatie (eyes/motor/verbal-score). Een score lager dan de maximale score van 15 duidt op een verlaagd bewustzijn (2,7). **Mild TBI (mTBI)** vertegenwoordigt de grootste groep (70-90% van alle TBI), en wordt gedefinieerd als acuut TBI met GCS 13-15 die aanleiding geeft tot ten minste één van volgende elementen: bewustzijnsverlies ≤30 min, posttraumatische amnesie <24 u of neuropsychologische abnormaliteiten [elke transiënte periode van verwarring, desoriëntatie of gedaald bewustzijn](2,4,8).

Bij ongeveer 5% van mTBI patiënten wordt een intracranieële laesie gedetecteerd door middel van een computertomografie van de hersenen (CT-scan). Slechts <1% vereist een specifieke interventie (bv. neurochirurgie, behandeling van hersenoedeem, intracranieële drukmonitoring)(9). Mede door het grote aandeel van deze patiënten, vormen deze patiënten een uitdagend managementvraagstuk.

De gouden standaard voor screening naar intracranieële laesies bij mTBI bestaat uit het nemen van een CT-scan; deze methode is toegankelijk voor artsen op de spoedgevallendienst, relatief goedkoop en snel (2-5 min). Een CT-scan kan focale laesies, bloedingen, een deviatie van de middellijn alsook compressie van ventriculaire en basale cisternen aantonen. Nochtans bestaan alternatieve technieken die veel gevoeliger zijn. Bij 30% van mTBI patiënten met een normale CT-scan zou een abnormale bevinding gedetecteerd kunnen worden door middel van een magnetische resonantie scan (MRI)(10). Nog hogere sensitiviteit wordt bekomen door middel van Diffusie Tensor Imaging (DTI), een variant van MRI(11). Desondanks is een MRI niet overal gemakkelijk beschikbaar, neemt veel tijd in beslag (20-45 min), en is niet kosten-effectief als screeningstool in de acute fase management van mTBI.

Desalniettemin zou het uitvoeren van een CT-scan bij elke mTBI patiënt een grote financiële belasting zijn voor de gezondheidszorg (151.96 €/CT-scan). Een CT-scan is bovendien niet onschadelijk voor de patiënt (stralingsbelasting)(12).

De huidige aanpak van mTBI op de spoedgevallendienst is gebaseerd op beslisregels die rekening houden met de etiologie van het trauma en de klinische evaluatie van de patiënt. Hierdoor kan het aantal CT-scans beperkt worden tot een aantal mTBI patiënten met een hoger risico op een intracranieële complicatie. De best gekende

zijn de Canadian CT head rule (CCHR), de New Orleans Criteria (NOC) (figuur 1) en de Scandinavian Neurotrauma Committee guidelines 2008 (SNC8). Andere gevalideerde algoritmen zijn NICE, NCWFNS, NEXUS-II (figuur 2). Al deze beslisregels hebben als doel om patiënten te identificeren met een verhoogd risico op een intracranieële complicatie, waarbij een CT-scan noodzakelijk is. Bepaalde studies geven echter aan dat 10% van de klinici moeilijkheden zouden hebben met het correct toepassen van de beslissingsregels; bovendien zou bij 5% van de patiënten geen CT-scan uitgevoerd worden als gevolg van misinterpretatie. Hoewel deze beslisregels performant zijn (sensitief voor detectie hersenschade), worden tegenstrijdige gegevens gevonden wat betreft het bekomen van een reductie in aantal CT-scans(13,14). Bovendien zijn 30-50% van mTBI patiënten bij aankomst op de spoedgevallendienst onder invloed van ethyl, wat de klinische evaluatie bemoeilijkt. Deze patiënten hebben een gedaald bewustzijn en kunnen bepaalde neurologische symptomen vertonen (amnesie, nausea, vertigo, etc) waardoor ze a.h.v. deze beslisregels zeer snel gescand worden(14–17).

Figuur 1. New Orleans Criteria (NOC) en Canadian CT Head Rule (CCHR): klinische beslisregels voor CT-gebruik bij mTBI(16)

#### Box 1. New Orleans Criteria

Computed tomography is required for patients with minor head injury with any 1 of the following findings. The criteria apply only to patients who also have a Glasgow Coma Scale score of 15.

1. Headache
2. Vomiting
3. Older than 60 years
4. Drug or alcohol intoxication
5. Persistent anterograde amnesia (deficits in short-term memory)
6. Visible trauma above the clavicle
7. Seizure

#### Box 2. Canadian CT Head Rule\*

Computed tomography is only required for patients with minor head injury with any 1 of the following findings: Patients with minor head injury who present with a Glasgow Coma Scale score of 13 to 15 after witnessed loss of consciousness, amnesia, or confusion.

##### High Risk for Neurosurgical Intervention

1. Glasgow Coma Scale score lower than 15 at 2 hours after injury
2. Suspected open or depressed skull fracture
3. Any sign of basal skull fracture†
4. Two or more episodes of vomiting
5. 65 years or older

##### Medium Risk for Brain Injury Detection by Computed Tomographic Imaging

6. Amnesia before impact of 30 or more minutes
7. Dangerous mechanism‡

\*The rule is not applicable if the patient did not experience a trauma, has a Glasgow Coma Scale score lower than 13, is younger than 16 years, is taking warfarin or has a bleeding disorder, or has an obvious open skull fracture.

†Signs of basal skull fracture include hemotympanum, racoon eyes, cerebrospinal fluid, otorrhea or rhinorrhea, Battle's sign.

‡Dangerous mechanism is a pedestrian struck by a motor vehicle, an occupant ejected from a motor vehicle, or a fall from an elevation of 3 or more feet or 5 stairs.

Figuur 2. Vergelijking klinische beslisregels voor CT-scan gebruik bij mTBI patiënten(14)

**Table 1.** Findings used by 7 clinical decision rules for CT scanning in mild traumatic brain injury.

Clinical Finding	Canadian	NCWFNS	New Orleans	NEXUS-II	NICE	Scandinavian
GCS score	<15 At 2 h	<15	<15	Abnormal alertness, behavior	<15 At 2 h	<15
Amnesia	Retrograde >30 min*	Any	Antegrade	—	Retrograde >30 min	Any
Suspected fracture	Open, depressed, basal	Any	Any injury above clavicles	Any	Open, depressed, basal	Basal, depressed, confirmed
Vomiting	Recurrent	Any	Any	Recurrent	Recurrent	—
Age, y	≥65	—	>60	≥65	≥65†	—
Coagulopathy	—	Any	—	Any	Any	Any
Focal deficit	—	Any	—	Any	Any	Any
Seizure	—	History	Any	—	Any	Any
LOC	If GCS=14	Any	—	—	—	Any
Visible trauma	—	—	Above clavicles	Scalp hematoma	—	Multiple injuries
Headache	—	Any	Severe	—	—	—
Injury mechanism	Dangerous*†	—	—	—	Dangerous**	—
Intoxication	—	Abuse history	Drug, alcohol	—	—	—
Previous neurosurgery	—	Yes	—	—	—	Shunt

NCWFNS, Neurotraumatology Committee of the World Federation of Neurosurgical Societies; NICE, National Institute of Clinical Excellence; —, indicates the item is not considered an indication for CT scanning by author(s) of the rule; LOC, loss of consciousness.

\*Used to determine medium risk for the Canadian Rule.

†CT scan only if also loss of consciousness or any amnesia.

\*\*Dangerous injury mechanism=ejected from motor vehicle, pedestrian struck by motor vehicle, fall of >3 feet or 5 steps.

In meerdere domeinen van de geneeskunde hebben biomerkers voor schade hun intrede gedaan (zoals troponine-T bij screening voor myocardinfarct en D-dimeren voor diepe veneuze trombose). Een ideale biomarker voor hersenschade is specifiek voor hersenschade, moet binnen een korte tijdsperiode na trauma vrijgesteld worden in cerebrospinaal vocht (CSF) en in serum, weerspiegelt de evolutie van schade in de tijd, is een weergave van de ernst van de schade en is enkel verhoogd bij relevante hersenschade(18).

Als gevolg van de commerciële beschikbaarheid en eenvoudige detectie in serum is er een toenemende interesse in het proteïne S100B als neurobiomarker. S100B is een klein calcium-bindend eiwit (9-14 kDa) dat zich voornamelijk in astrocyten in het centraal zenuwstelsel bevindt. Bij verschillende vormen van hersenschade kan S100B vrijkomen uit de beschadigde cellen en in de bloedbaan terecht komen(19). Meerdere studies, evidence-based reviews en meta-analyses hebben aangetoond dat lage serumconcentraties in staat zijn om intracerebrale laesies uit te sluiten bij een subgroep van mTBI patiënten met een laag risico op intracranieële complicaties en/of neurochirurgische interventie (20–24).

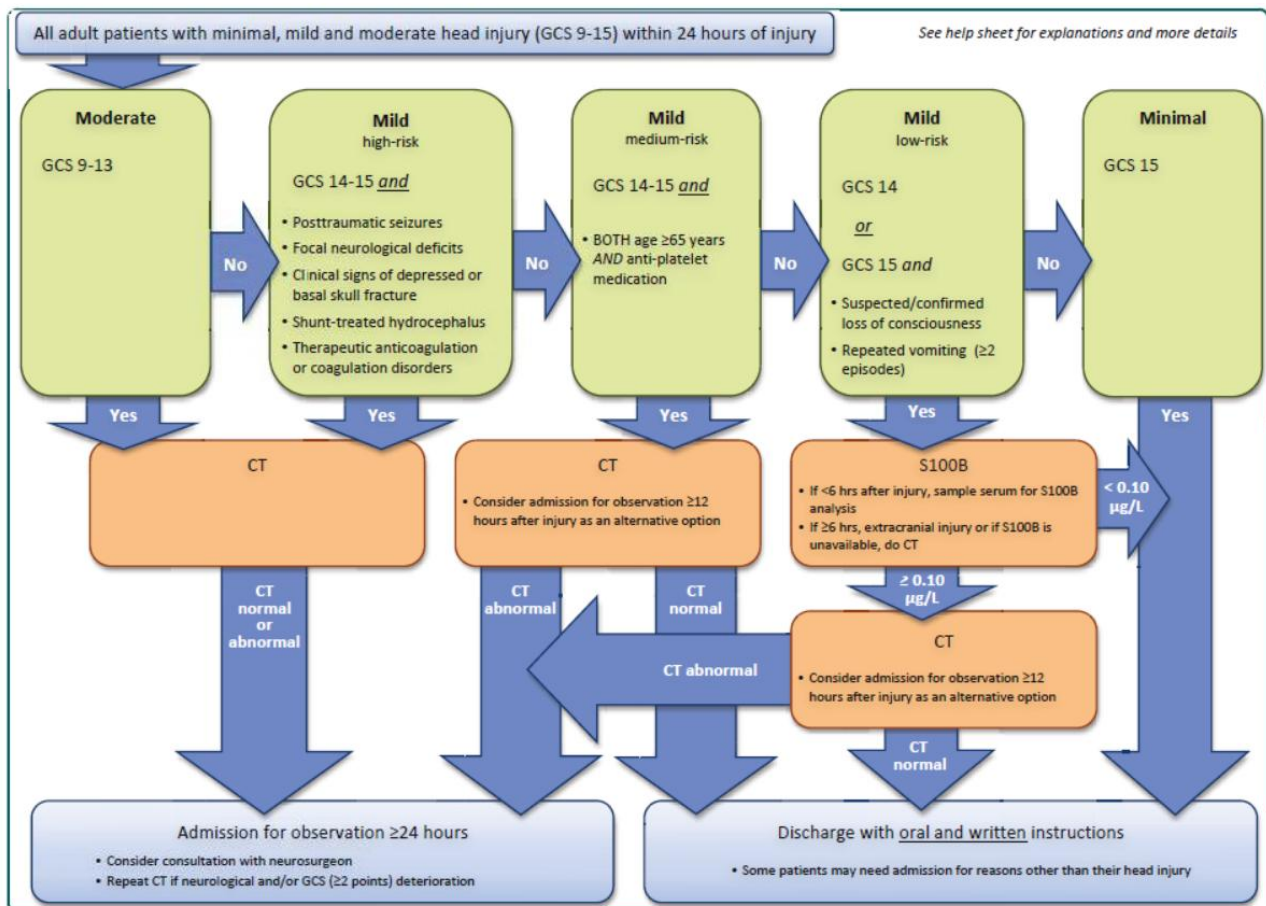
In 2013 werd deze biomarker geïntroduceerd in de Scandinavian Neurotrauma Committee (SNC13) guidelines (figuur 3), met als doel het bekomen van meer objectieve, reproduceerbare en gebruiksvriendelijke beslissingsregels. De beslisregel heeft als primair eindpunt het identificeren van patiënten waarbij neurochirurgische/medische interventie vereist is, als secundair eindpunt het opsporen van om het even welke vorm van door trauma veroorzaakte schade die zichtbaar is op een CT-scan van de hersenen(2,7). Toepassen van deze guidelines zou leiden tot een theoretische reductie van het aantal CT-scans van ongeveer 30%(2,25).

Alle beslisregels hebben dezelfde beperking, namelijk dat deze gebaseerd zijn op zelf-rapportering van de gebeurtenis, symptomen en risicofactoren door de patiënt. Daarnaast is de anamnese vaak onbetrouwbaar bij geïntoxiceerde patiënten. Ook de evaluatie a.h.v. de GCS is sterk afhankelijk van de ervaring en het klinisch oordeel van de clinicus(26). Vanuit dit standpunt is de integratie van een biomarker in klinische beslisregels niet enkel een praktische tool om een reductie van het aantal CT-scans te bekomen, maar ook een objectieve variabele.

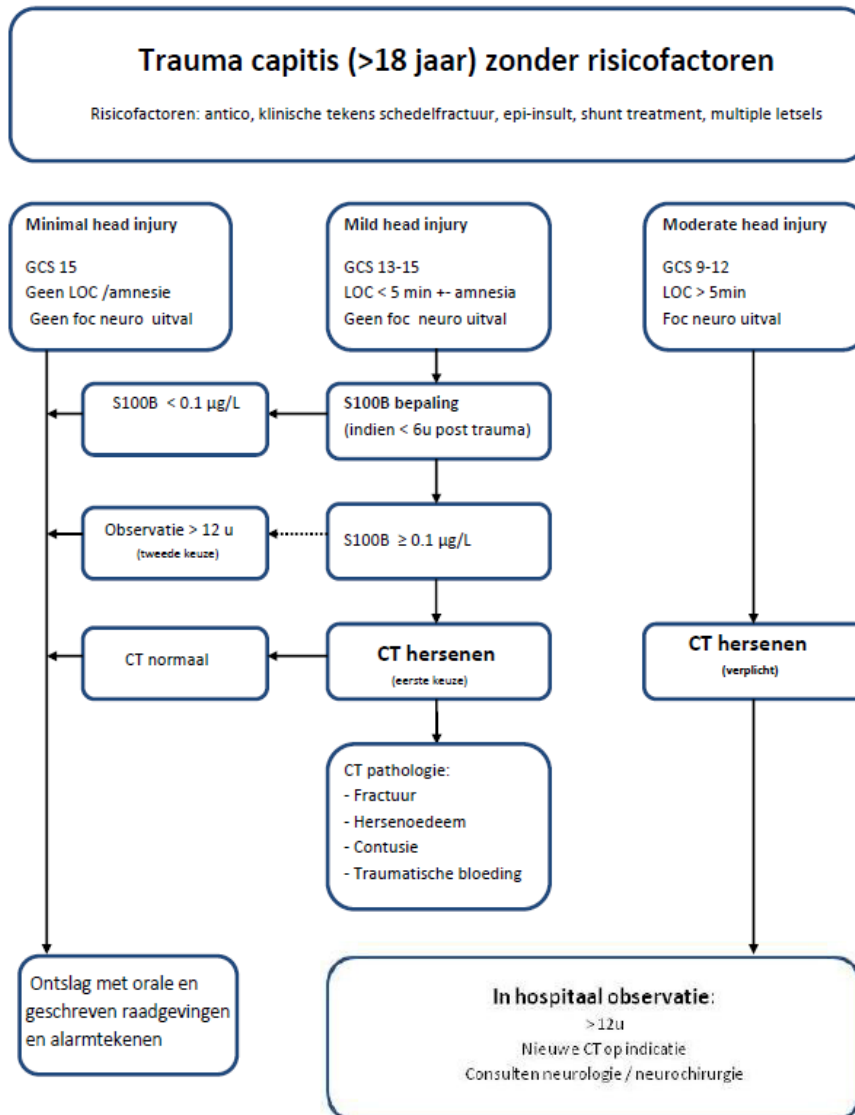
In de spoedgevallendienst van het AZ Sint-Lucas in Gent werd recent een algoritme geïntroduceerd voor CT-scan gebruik bij mTBI bij volwassenen afgeleid van de SNC13 guidelines (figuur 4). Dit algoritme – en bijgevolg ook de labotest S100 – werden op vraag van de spoedartsen geïmplementeerd zonder een voorafgaande klinische validatie. Na een analytische validatie in het laboratorium en een korte communicatie naar spoedartsen en neurologen werd deze parameter in AZ Sint-Lucas geïmplementeerd.

Het doel van deze CAT is om de meerwaarde van S100B in het management van volwassen patiënten met mTBI in AZ Sint-Lucas te evalueren, rekeninghoudende met bovengenoemde beperkingen. Daarnaast willen we de theoretische veiligheid en het potentieel kostenbesparend vermogen van deze biomarker in onze populatie in kaart brengen. Ook correct gebruik van de biomarker en compliance aan de huidige guidelines worden nagegaan. Tevens willen we nagaan in welke mate de afkapwaarde van 0,105 µg/l in staat is om de afwezigheid van intracranieële pathologie en neurochirurgische interventie te voorspellen.

Figuur 3. SNC13 guidelines voor initieel management van minimaal, mild en matig hooftrauma bij volwassenen (7)



Figuur 4. Algoritme AZ Sint-Lucas voor selectie van patiënten die CT-scan moeten krijgen



## QUESTION(S)

---

- 1) Wat is de analytische state of the art voor de bepaling van S100B?
- 2) Is er evidentie voor S100B om intracerebrale laesies bij mTBI bij volwassenen uit de sluiten?
- 3) Welke impact heeft de implementatie van de SNC guidelines?
- 4) Evaluatie situatie AZ Sint-Lucas.

## SEARCH TERMS

---

- 1) MeSH Database (PubMed): MeSH term: “ s100 $\beta$  ”, “ traumatic brain injury ”, “mild traumatic brain injury ”, “diagnosis mild traumatic brain injury”, “SNS guidelines and S100”
- 2) PubMed Clinical Queries (from 1966; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>): Systematic Reviews; Clinical Queries using Research Methodology Filters (S100 and diagnosis, S100 sensitivity, S100 negative predictive value, S100 specificity)
- 3) Pubmed (Medline; from 1966) “ s100 $\beta$  ”, “ traumatic brain injury ”, “mild traumatic brain injury ”, “diagnosis mild traumatic brain injury”, “SNS guidelines and S100”

## ABBREVIATIONS

---

TBI	traumatic brain injury, traumatische hersenschade
VKO	verkeersongeval
Mild TBI	mTBI
CT	computertomografie
MRI	magnetic resonance imaging, magnetische resonantie beeldvorming
DTI	diffusion tensor imaging
CCHR	Canadian CT Head Rule
NOC	New Orleans Criteria
SNC8/13	Scandinavian Neurotrauma Committee guidelines 2008/2013
NICE	National Institute of Clinical Excellence
NCWFNS	Neurotrauma Committee of the World Federation of Neurosurgical Society
NEXUS-II	National Emergency X-Radiography Utilization Study II
CSF	cerebrospinale vloeistof
BBB	blood-brain barrier, bloed-hersenbarrière,
GFAP	glial fibrillary acidic protein
NSE	neuron-specifiek enolase
MBP	myelin basic proteïn
pNF-H	phosphorylated neurofilament-H
SPDP	spectrin breakdown products
NPV	negative predictive value, negatief predictieve waarde
CI	confidentie interval
TAT	turnaround time

### Pathofysiologie van traumatische hersenschade

Hersenschade als gevolg van TBI verloopt in verschillende stadia (figuur 5). Primaire hersenschade wordt veroorzaakt door directe weefselschade als gevolg van een mechanische kracht op de hersenen (bijvoorbeeld contusies, laceraties, en schade door schuifkrachten). Secundaire schade kan vervolgens ontstaan via een reeks biochemische, cellulaire en fysiologische processen die bijdragen tot weefselschade en celdood. Het tijdsvenster waarin deze secundaire schade tot stand komt kan verschillen van enkele minuten tot weken of zelfs jaren na het initieel insult(27,28).

### Fysiologische processen

Primaire hersenschade wordt veroorzaakt door mechanische krachten afhankelijk van het type trauma. Dit kan leiden tot ruptuur van de bloedhersenenbarriere (blood-brain barrier, BBB), waardoor componenten vanuit het bloed in direct contact staan met hersenweefsel, wat tot verdere schade leidt. Diffuse axonale schade ontstaat wanneer schuifkrachten leiden tot gestoord axonaal transport, zwellen en degeneratie van axonen, of in het ergste geval scheuren van het cytoskelet. Hersenoedeem ontstaat als gevolg van verstoring van de BBB en schade aan de celwand van vasculair endotheel (vasogeen oedeem), osmotisch onevenwicht tussen bloed en weefsel (osmotisch oedeem) of als gevolg van een cellulaire respons op biochemische processen (cytotoxisch oedeem). Vasospasme is een ernstige presentatie van TBI en ontstaat na verstoring van de cerebrovasculaire autoregulatie (vasoconstrictie-vasodilatatie). Tot slot kan een verhoogde intracranieële druk door cerebraal oedeem/hematoomvorming leiden tot hypoperfusie, accumulatie van lactaat en ischemie(27).

### Cellulaire en biochemische processen

De diverse cellulaire en biochemische processen die optreden bij traumatische hersenschade maken deel uit van complexe pathways die leiden tot secundaire schade. Excitotoxiciteit, apoptose en oxidatieve stress zijn belangrijke mechanismen betrokken bij secundaire schade. Daarnaast speelt migratie en mobilisatie van immuuncellen een sleutelrol in het ontstaan van een inflammatoire respons. Elke biochemische cascade vormt op deze manier een potentiële bron van biomerkers die een toepassing kunnen hebben in management van acuut TBI(27,29).

Figuur 5. Pathofysiologie van hersenschade(27)

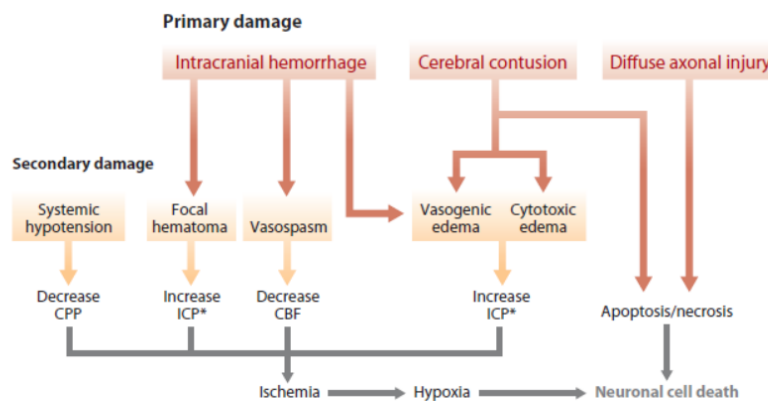


Figure 1

Pathophysiology of brain injury. Abbreviations: CBF, cerebral blood flow; CPP, cerebral perfusion pressure; ICP, intracranial pressure. The asterisks indicate the presence of ICP biomarkers C-tau, GFAP, and S100β.



### Biomerkers voor hersenschade

Pathologische veranderingen die plaatsvinden in de hersenen onmiddellijk na TBI kunnen in bloed of CSF gedetecteerd worden aan de hand van biomerkers(29). De concentratieverandering en het tijdsafhankelijk patroon van deze biomerkers biedt belangrijke informatie met betrekking tot ernst en outcome, en kan potentieel een plaats hebben in diagnose, prognose of therapie monitoring bij TBI(27).

Beschadiging van neuronen en steuncellen in het CZS leidt tot vrijstelling van cytoplasmatische proteïnen (onder andere S100, neuron-specifiek enolase (NSE), gliaal fibrillair zuur proteïne (GFAP) en myeline basisch proteïne (MBP)) en gemodificeerde structurele proteïnen afkomstig van neuronale processen (bv pNF-H, c-tau en SBDP). We hebben dus talrijke potentieel interessante biomerkers voor hersenschade tot onze beschikking(27,29).

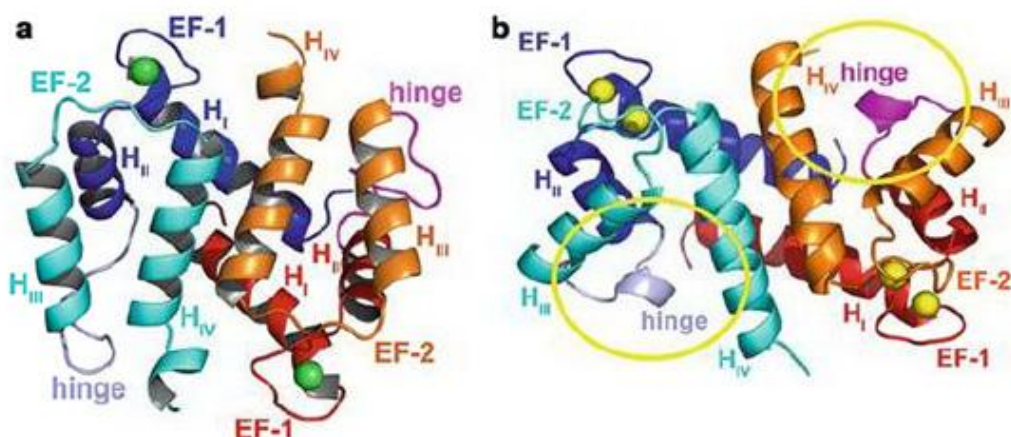
De moeilijkheid van diagnose van TBI door middel van neurobiomerkers ligt in de complexe en inhomogene structuur van de hersenen, het niet uniform gevoelig zijn van verschillende weefsels/celtypes voor verschillende vormen van schade, alsook het unieke karakter van elk TBI. De relatief niet-invasieve aard van een bloedstaal maakt dit het staaltype bij voorkeur voor diagnose van TBI. Ondanks dit voordeel moet bij gebruik van bloed rekening gehouden worden met bepaalde uitdagingen zoals de constante en complexe flux van proteïnen in het bloed en de uitwisseling tussen gezonde en apoptotische cellen(27).

### S100 proteïne: molecule en functies

Het proteïne S100 werd voor het eerst geïsoleerd uit runderhersenen in 1965 bij experimenten tijdens de zoektocht naar zenuwstelsel-specifieke proteïnen. De benaming is afkomstig van de 100% oplosbaarheid 'solubility' in een verzadigde ammoniumsulfaat oplossing bij neutrale pH(30).

S100 is een overkoepelende benaming voor >25 verschillende proteïnen (S100B, S100A1-13, S100G, S100P,..) met klein molecuulgewicht (10-12 kDa), die gekenmerkt worden door een EF-hand- $\text{Ca}^{2+}$  bindend domein (figuur 6)(31). S100 proteïnen komen fysiologisch overwegend voor als homodimeer; in mindere mate als heterodimeer of oligomeer(19). Elk S100 proteïne wordt gekenmerkt door een cel-specifiek expressiepatroon. S100 proteïnen zijn betrokken bij belangrijke cellulaire functies zoals celproliferatie, differentiatie, calciumhomeostase, inflammatoire respons en apoptose. Intracellulair is S100 betrokken bij de regulatie van verschillende processen (figuur 7). Daarnaast wordt S100 in beperkte mate extracellulair vrijgesteld, waarbij het een rol speelt als signaalproteïne. Tot slot kan S100 vrijgesteld worden na cellulaire schade (31).

Figuur 6. Secundaire structuur van het S100 proteïne(32)

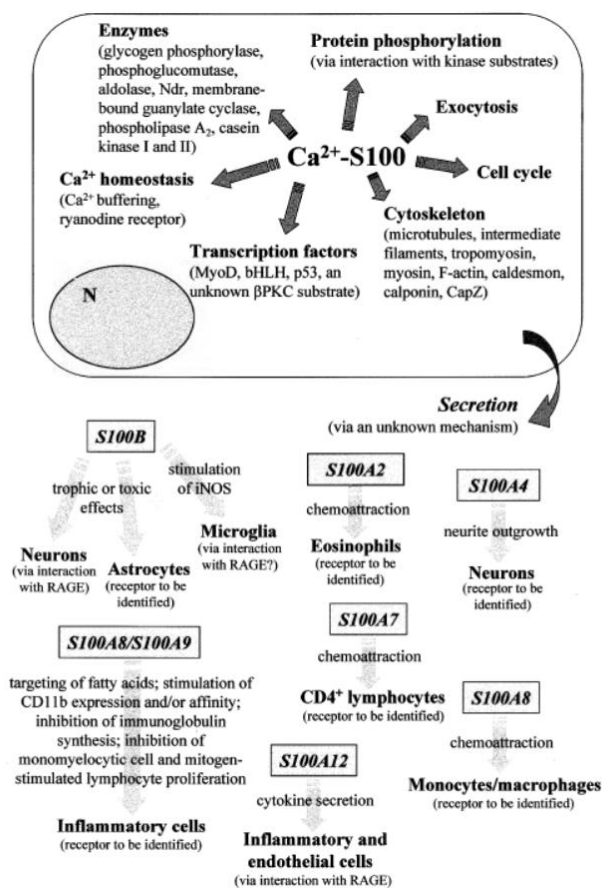


## S100B

S100B (of ook S100BB) is een dimeer molecule bestaande uit twee  $\beta$ -subunits. S100B wordt zowel binnen als buiten het centraal zenuwstelsel tot expressie gebracht. In het centraal zenuwstelsel wordt S100B hoofdzakelijk teruggevonden in astrocyten. Daarnaast is het proteïne terug te vinden in oligodendrocyten, dendritische cellen, Schwann cellen, melanocyten, chondrocyten, adipocyten, myocyten en lymfocyten. Het effect en de fysiologische functies van door astrocyten vrijgesteld S100B is concentratie afhankelijk: bij lage (nanomolaire) concentraties is er voornamelijk een neurotroof effect (neuronale maturatie, proliferatie glia cellen), bij hoge (micromolaire) concentraties wordt een toxisch effect waargenomen (apoptose, expressie proinflammatoire cytokines)(19).

In het centraal zenuwstelsel komt voornamelijk voor de homodimeer S100BB en in mindere mate de heterodimeer S100A1B voor. Deze fractie (S100BB en S100A1B) wordt gewoonlijk aangeduid als 'S100B'.

Figuur 7. Intra- en extracellulaire functies van het S100 proteïne (31)



## I. Wat is de state of the art voor de bepaling van S100?

### I.I Preanalytische factoren

#### **Vrijzetting en eliminatie**

Het mechanisme waarmee S100 na TBI de bloedbaan bereikt is vrij complex en nog niet volledig opgehelderd. Enerzijds leidt beschadiging van de bloed-hersenbarrière tot vrijstelling van het proteïne vanuit het CSF, anderzijds zou S100 via het glymfatisch systeem de bloedbaan kunnen bereiken(19).

S100 wordt geëlimineerd door renale klaring, bijgevolg worden verhoogde waarden waargenomen bij patiënten met nierfalen(19). De halfwaardetijd van S100 in serum is ongeveer 25-30 minuten. De halfwaardetijd van S100 in serum na TBI is echter niet eenduidig vast te stellen aangezien de netto concentratie bepaald wordt door zowel influx vanuit de hersenen als de snelheid en mate van renale eliminatie. Bij TBI is het vrijzettingsspatroon van S100 afhankelijk van de aard van het trauma, alsook het verloop en ontstaan van secundaire schade. Bovendien kan ook extracerebraal vrijgesteld S100 bijdragen tot de serumconcentratie; S100 vrijgekomen langs deze extracraniele weg blijkt echter wel sneller geëlimineerd te worden dan S100 die vrijkomt bij hersenschade(19).

Verskillende studies hebben getracht een schatting te maken van de halfwaardetijd van S100 $\beta$  bij patiënten met TBI. Jackson et al (2000) vonden bij 30 patiënten met ernstig TBI een mediane halfwaardetijd van 198 min(33). Townend et al (2006) vond bij een groep van 14 patiënten met minimale TBI een gemiddelde halfwaardetijd van 97 min (95% CI 75-136 min)(34).

#### **Stabiliteit en interferentie**

Raabe et al. vonden geen verschil in S100 concentratie tussen stalen bewaard bij KT versus bij 4°C gedurende een tijdsperiode van 24 uur(35). Daarentegen vonden Djukanovic et al. een belangrijke invloed van monsterbehandeling en concluderen dat na bloedafname het serum onmiddellijk moet gescheiden en ingevroren worden(36). Muller et al. tonen aan dat langdurige staalbewaring (>5 jaar bij -70°C) leidt tot een significante toename in gemeten S100 concentraties(37). Delefortrie et al. vinden stabiele S100 concentraties bij scheiding van serum binnen 30 min na bloedafname en staalbewaring gedurende 2 jaar bij -80°C(38). In meerdere studies wordt aangetoond dat S100 concentraties niet beïnvloed worden door hemolyse (19,39).

#### **Patiëntkarakteristieken**

S100B mRNA wordt slechts 1.44 keer meer tot expressie gebracht in de cerebrale cortex in vergelijking met vetweefsel, het op één na meest S100 bevattend weefsel. Daarnaast kunnen ook andere extracraniele weefsels bijdragen tot de S100-waarde in serum zoals spierweefsel, melanocyten en botweefsel.

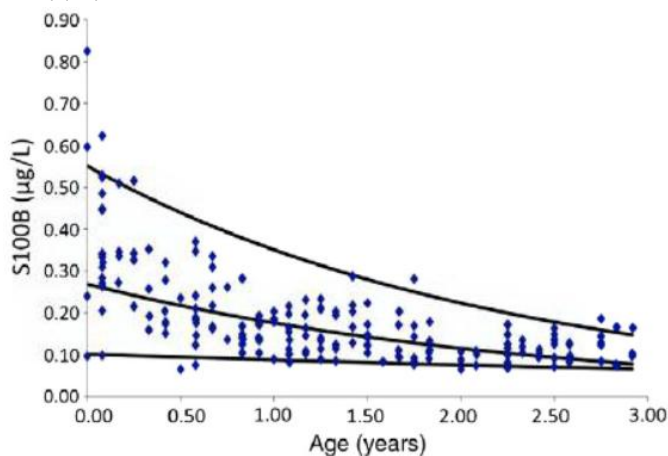
Aangezien melanocyten onder fysiologische omstandigheden kleine hoeveelheden S100 synthetiseren, heeft huidpigmentatie een invloed op S100 waarden. Hogere serumconcentraties worden gevonden bij personen met donkere huid (0,091  $\mu\text{g/L}$  [0,082-0,16] i.v.m. blanke personen (0,046  $\mu\text{g/L}$  [0,04-0,11], Roche S100 kit)(40,41). In mindere mate worden ook bij Aziatische personen hogere serumconcentraties gevonden in vergelijking met Cauciërs(40). BMI en zwangerschap hebben geen invloed op S100 concentraties(42).

Een omgekeerde correlatie wordt waargenomen tussen leeftijd en S100 concentraties met de hoogste waarden bij de geboorte die daarna dalen tot een leeftijd van 2 jaar (figuur 8)(42,43). Meerdere verklaringen worden gesuggereerd zoals een verhoogde cerebrale circulatie en permeabiliteit van de BBB, verhoogde proteïne turnover in neuronale cellen, de neurotrofe rol van S100 en een lage renale excretie. Ook een correlatie met hoofdomtrek, de invloed van vaginale partus en een verlengde arbeid wordt beschreven- elementen die kunnen bijdragen tot een hogere variabiliteit van S100 concentraties bij pasgeborenen. Dit heeft als gevolg dat het moeilijk is om duidelijke cutoff waarden op te stellen bij een pediatrie populatie. Een studie van Bouvrier et al. vonden geen verschillen tussen S100 concentraties bij kinderen tussen 25-36 m en kinderen ouder dan 36m.

Voor volgende leeftijdscategorieën worden referentiewaarden voorgesteld: 0-3m, 4-9m, 10-24m, >24m-18j (n=236) (figuur 9); voor patiënten >2j wordt vooropgesteld een cutoff waarde van 0,11 µg/L te hanteren (Roche® S100 kit) (41,42).

Management van TBI bij kinderen en zwangere vrouwen is delicaat omwille van de risico's geassocieerd met straling door CT-scans. Daarnaast is de anamnese en het klinisch onderzoek bij kinderen met TBI niet altijd mogelijk of betrouwbaar. Leeftijdsafhankelijke referentiewaarden dienen gehanteerd te worden bij kinderen <2 jaar, doch er zijn onvoldoende studies naar geschikte referentiewaarden. Bovendien werden slechts een beperkt aantal klinische studies naar TBI bij kinderen uitgevoerd. Hoewel S100 in de pediatrie populatie dus veel te bieden heeft, is verder onderzoek noodzakelijk.

Figuur 8. Quantiele regressie-analyse van S100 concentraties bij een gezonde pediatrie populatie (N=186)(42)



Figuur 9. Referentiewaarden pediatrie populatie afkomstig van Bouvrier et al. (2011) (Roche S100 kit)(42)

**Table 1**  
S100B levels in children from 0 to 16 years. Serum S100B concentrations were present in different ages defined for each group defined by the number of samples (n), mean, standard deviation (SD) and 95th percentile.

Age group	n	S100B µg/L		
		Mean	SD	95th percentile
0-3 months	24	<b>0.38</b>	<b>0.17</b>	<b>0.62</b>
4-6 months	14	0.28	0.10	0.35
7-9 months	20	0.21	0.08	0.34
<b>4-9 months</b>	<b>34</b>	<b>0.23</b>	<b>0.09</b>	<b>0.35</b>
10-12 months	17	0.18	0.05	0.26
13-15 months	20	0.15	0.05	0.22
16-18 months	19	0.16	0.06	0.23
19-21 months	13	0.14	0.04	0.22
22-24 months	12	0.13	0.06	0.18
13-18 months	39	0.16	0.05	0.23
19-24 months	25	0.13	0.05	0.22
13-24 months	64	0.16	0.05	0.23
<b>10-24 months</b>	<b>81</b>	<b>0.16</b>	<b>0.05</b>	<b>0.23</b>
<b>25-36 months</b>	<b>47</b>	<b>0.11</b>	<b>0.03</b>	<b>0.17</b>
<24 months	139	0.21	0.12	0.49
<b>&gt;24 months</b>	<b>97</b>	<b>0.11</b>	<b>0.03</b>	<b>0.18</b>
<36 months	186	0.18	0.12	0.45
<b>&gt;36 months</b>	<b>50</b>	<b>0.11</b>	<b>0.03</b>	<b>0.18</b>

Bold in the entries corresponds to the condensed reference ranges constituted by the detailed references (normal format).

Bij polytrauma patiënten worden hogere waarden waargenomen, onafhankelijk van het optreden van hersenschade(37). Ook bij lichte kneuzingen worden verhoogde waarden gezien(44). S100 vrijgekomen langs deze extracraniale weg blijkt echter wel sneller geëlimineerd te worden dan S100 die vrijkomt bij hersenschade.

Serum S100 waarden worden beïnvloed door extracerebraal trauma/verwonding, met een lage positief predictieve waarde voor hersenletsels als gevolg(19).

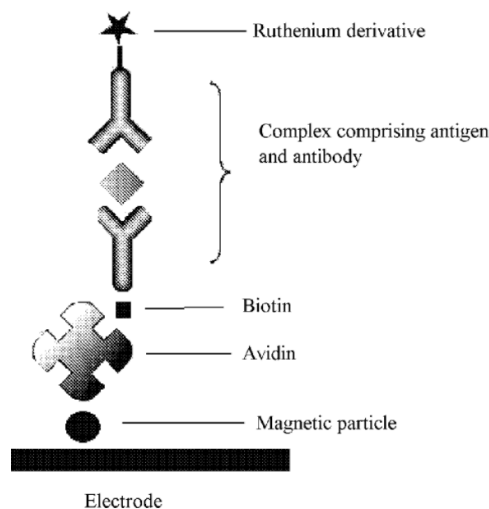
## 1.2 Analytische factoren

### Bepaling van S100

De meest courante methode voor de bepaling van S100 in laboratoria is een enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Talrijke kits van verschillende producenten zijn commercieel beschikbaar (Sangtec, CanAG Diagnostics, Syn X Pharma Inc. Nanogen,..). Dit type analyse neemt echter 4-6 uur in beslag, waardoor het niet bruikbaar is in de klinische setting van acuut TBI management(19).

Er zijn twee commercieel beschikbare kits voor handen voor de bepaling van S100 in een klinische setting: de Roche® Elecsys S100 kit en de Diasorin® Liaison S100 kit. De Diasorin® Liaison S100 kit maakt gebruik van een sandwich chemilumescentie immunassay (CLIA) principe voor de bepaling van S100B. De totale analysetijd bedraagt 20 minuten. Deze kit werd initieel ontwikkeld voor bepaling van S100 als tumormerker bij melanomen. Het analytisch testprincipe van de Roche® Elecsys S100 kit is gebaseerd op een sandwich electrochemiluminescentie immunoassay (ECLIA, figuur 10) die gebruik maakt van monoclonale antistoffen tegen S100B. Hierbij wordt zowel de homodimeer S100BB alsook heterodimeer S100A1B in serum kwantitatief bepaald. De totale analysetijd bedraagt 18 minuten. Aangezien er geen internationale referentiestandaard bestaat worden cutoff waarden door de producent voorgesteld: Roche® Elecsys S100 en Diasorin® Liaison S100 respectievelijk  $<0.105 \mu\text{g/L}$  en  $<0.15 \mu\text{g/L}$ .

Figuur 10. Schematische illustratie sandwich immunoassay Roche® Elecsys S100



### Analytische performantie

Een recente studie vergeleek beide kits wat betreft analytische performantie(38). Zoals reeds in verschillende studies aangetoond werd een goede correlatie gevonden tussen beide kits ( $n=110$ , Diasorin® Liaison S100 kit =  $1.168$  (Roche® Elecsys S100 kit) +  $0.133$ ) ( $R=0.953$ ;  $p=0.05$ ). Naar analogie met eerdere publicaties worden met de Diasorin® Liaison S100 kit hogere concentraties gevonden in vergelijking met de Roche® Elecsys S100 kit (gemiddeld verschil bij S100 concentratie  $<1 \mu\text{g/L}$  was  $0.11 \mu\text{g/L}$  (95% CI  $0.07-0.14$ ). Beide kits zijn bijgevolg niet uitwisselbaar (figuur 11, tabel 1).

Figuur 11. Correlatie en absoluut verschil Diasorin® Liaison en Roche® Elecsys S100 kit

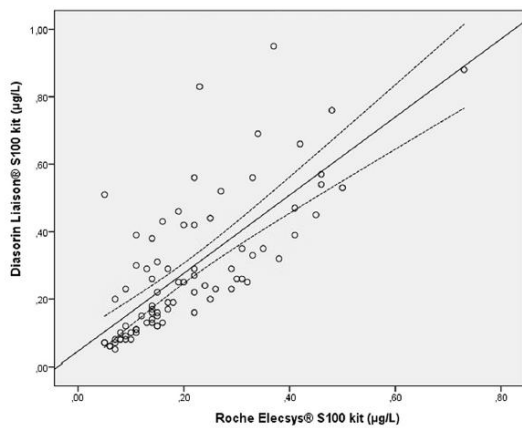


Fig. 2. Relationship between S100b results obtained using either the Roche Elecsys® S100 kit or the Liaison® S100 kit. In order to better visualize difference between both kits, only results below 1 µg/L were presented.

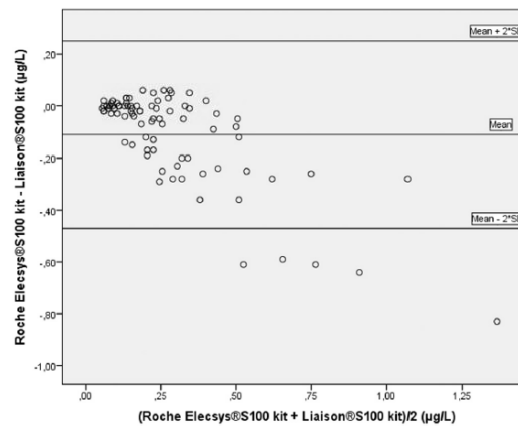


Fig. 3. Bland-Altman plot comparing the Roche Elecsys®S100 kit and the Liaison®S100 kit (mean difference for S100β < 1 µg/L = - 0.11 µg/L with 95% CI of - 0.14 µg/L and - 0.07 µg/L). In order to better visualize difference between both kits, only results below 1 µg/L were presented.

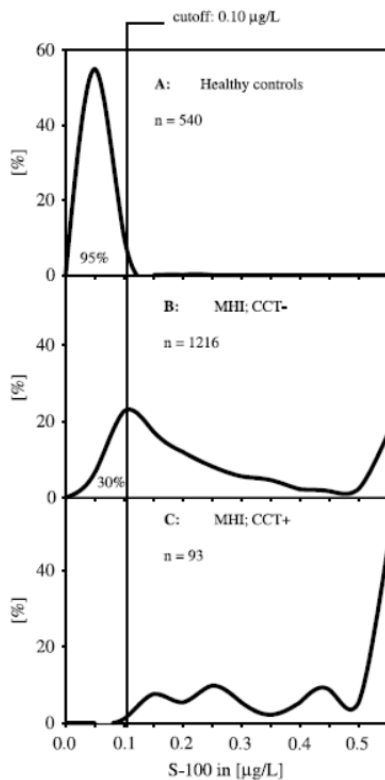
Tabel 1. Analytische performantiekarakteristieken en gegevens m.b.t. Roche® en Diasorin® immunoassays (data producent)

Analyser	Roche® Elecsys S100 kit Cobas	Diasorin® Liaison S100 kit Liaison
Staalvolume	12µL	100µL (+150µL dood volume)
Analysetijd	18 min	20 min
Staaltypes	Serum	Serum/CSF
Stabiliteit	8h 20-25°C, 2d 2-8°C, 3m - 20°C, tot 5x invriezen	24h 2-8°C, langer: beneden - 20°C, niet herhaaldelijk invriezen
Aantal bepalingen	100	100
Detectielimiet (µg/L)	0.015	-
Kwantificatielimiet (µg/L)	0.02	0.02
Analytisch meetbereik (µg/L)	0.015-30	0.02-30
Herhaalbaarheid (%)	2.6 [0.091 µg/L]	6.4 [0.11 µg/L]
Reproduceerbaarheid (%)	3.8 [0.091 µg/L]	8.5 [0.13 µg/L]
Aanbevolen cut off (volwassenen) µg/L	<0.105	<0.15

### Cutoff waarden

Biberthaler et al. (2006) bepaalden S100 concentraties bij 540 gezonde vrijwilligers, 55 patiënten met matig/ernstig hoofdtrauma en 1309 patiënten met mTBI en vond dat een cutoff waarde van 0.10 µg/L een sensitiviteit en NPV van respectievelijk 99% en 100 heeft voor detectie van intracranieële laesies (figuur 12) (25).

Figuur 12. Distributiecurven van S100B serum concentraties in gezonde vrijwilligers en mTBI patiënten zonder (CCT-) en met (CCT+) trauma geïnduceerde radiologische bevindingen



2. Is er evidentie voor S100 om intracerebrale laesies bij mTBI bij volwassenen uit de sluiten? Kan S100 gebruikt worden als screeningstool voor CT na mTBI?

In een **prospectieve multicenter studie** van Biberthaler et al. (2006) werd bij 1309 mTBI patiënten serum S100 concentraties bepaald. Bij alle patiënten werd een CT-scan genomen in overeenstemming met geldende klinische beslissingsregels. Bij een cutoff waarde van 0.1 µg/L werd een sensitiviteit gevonden van 99% (96-100) en een specificiteit van 30% (29-31). Één vals-negatief resultaat werd bekomen. Het betrof een patiënt met een GCS 15, amnesie en fractuur van de linker frontale schedel(25).

In een **evidence-based review en meta-analyse** van Undén et al. (2010) werden 12 wetenschappelijke publicaties geïncludeerd, waarbij 2466 mTBI patiënten met S100 bepaling en CT scan werden bestudeerd. De auteurs vinden een gepoolde sensitiviteit en specificiteit van respectievelijk 97% (91-99) en 40% (30-51) bij een cutoff van 0.1 µg/L. Rekening houdend met de prevalentie van intracranieële laesies na mTBI in deze studies (8%), werd een NPV bekomen van >99% (98-100). Bij de 2466 patiënten werden 6 vals-negatieve resultaten vastgesteld (0.26%) (s100 <0.1 µg/L maar positieve CT): 2 kleine subarachnoïdale bloedingen, 2 schedelfracturen, 1 kleine cerebrale contusie en 1 subduraal hematoom. Enkel bij de patiënt met het subduraal hematoom was neurochirurgische interventie noodzakelijk (17 dagen posttrauma, door neurologische deterioratie).

In een andere **systematische review en meta-analyse** hebben Heidari et al (2015) een overzicht gemaakt van observationele studies waarbij de rol van S100 als screeningstool voor CT bij patiënten met mTBI werd nagegaan. Er werd een positieve associatie gevonden tussen S100 concentraties en een positieve CT. De sensitiviteit was afhankelijk van de cutoff waarde; bij een cutoff van 0.1-0.15 µg/L, 0.16-0.20 µg/L en >20 µg/L

werd een sensitiviteit van respectievelijk 93.83% (88.99-98.67), 98.65% (95.53-101.77) en 99.63% (96.00-103.25) gevonden. Daarnaast werd een lage specificiteit gevonden, respectievelijk 37.07% (29.67-44.44), 50.69% (40.69-60.69) en 46.94% (39.01-54.87)(12).

Een belangrijke beperking van deze studies is confounding, echter inherent aan dit type studie. Zo wordt geen rekening gehouden met factoren die een invloed kunnen hebben op de S100 serum concentratie, zoals bijvoorbeeld het type assay. Zoals reeds vermeld zijn de verschillende beschikbare assays voor S100 bepaling niet uitwisselbaar. Desalniettemin worden hogere waarden bekomen met de Liaison S100 methode, waardoor het onlogisch zou zijn dat de sensitiviteit in het gedrang komt indien rekening gehouden wordt met type test.

Het is belangrijk om in het achterhoofd te houden dat een CT niet 100% sensitief is voor het opsporen intracranieële laesies na mTBI. Bepaalde laesies kunnen enkel door middel van MRI gedetecteerd worden. Meerdere studies suggereren dan ook dat bepaalde “vals-positieve” resultaten op deze manier verklaard zouden kunnen worden.

Daarnaast speelt het tijdstip van bloedafname een belangrijke rol. In de literatuur variëren afnametijdstippen van < 3 uur posttrauma tot <24 uur posttrauma. Gezien het natuurlijk en onvoorspelbare verloop van intracranieële laesies impliceert dit dat er in bepaalde gevallen de mogelijkheid van te vroege sampling met daaraan gekoppeld vals-negatieve resultaten plaatsvindt.

### 3. Welke impact heeft de implementatie van de SNC13 guidelines?

De SNC13 guidelines stellen dat TBI patiënten met GCS 14-15, zonder risicofactoren en met S100 concentraties <0.1 µg/L binnen 6u posttrauma het ziekenhuis veilig kunnen verlaten. De patiënten kunnen ontslagen worden zonder nemen van een CT-scan (level of evidence protocol: strong recommendation, moderate quality).

In tegenstelling tot bovengenoemde meta-analysen waarbij zowel positieve CT bevindingen alsook neurochirurgische interventie primaire eindpunten zijn, hebben de SNC guidelines als primair eindpunt de detectie van kinisch relevante intracranieële bevindingen. Dit heeft als gevolg dat in theorie hogere NPV worden bekomen met zeer nauwe CI gezien de lage prevalentie van chirurgische interventie en kinisch relevante hersenschade na mTBI(17).

In tegenstelling tot bestaande beslissingsregels zoals de CCHR en NOC die patiënten selecteren met een *verhoogd* risico op een intracranieële complicatie/een positieve CT, wordt S100 in de 2013 SNC guidelines bepaald in een cohortte van patiënten met een *laag* risico op ICC. Deze lage pretest probabiliteit resulteert in een hoge NPV en lage PPV in deze patiëntpopulatie.

Slechts 1 studie voerde een klinische validatie uit van de SNC guidelines bij 662 patiënten. Er werd een sensitiviteit en specificiteit van respectievelijk 97% (84-100) en 34% (30-37) bekomen. Bij 1 mTBI patiënt met een S100 concentratie net onder de cut off (0.09 µg/L) werd op CT-scan een contusie opgemerkt. Hoewel deze patiënt geen specifieke interventie vereiste, is een traumatische bevinding op CT een niet onbelangrijk secundair eindpunt(2).

Ook andere studies die S100 toepassen in een gelijkaardige setting, vinden niet altijd 100% sensitiviteit(38). Echter, in vergelijking met een labotest zoals D-dimeer die gebruikt wordt om patiënten te selecteren die geen radiologisch onderzoek benodigen vertoont S100 een betere performantie.

Op het ogenblik van presentatie op de spoedgevallen zijn 30 tot 50% van patiënten met mTBI onder invloed van ethyl, wat de klinische evaluatie bemoeilijkt(17). Deze patiënten hebben een gedaald bewustzijn eerder



door ethylintoxicatie dan door trauma, en worden dus zeer snel gescand en/of gedurende een bepaalde periode in observatie gehouden gebruik makende van lokale criteria (CCHR, NOC..). Daarnaast kan deze patiëntengroep moeite hebben met het zich herinneren van de gebeurtenis of van bepaalde symptomen. Deze factoren dragen enerzijds bij tot een praktisch management probleem, maar anderzijds maken deze factoren deze patiëntengroep enorm kwetsbaar. S100 zou hier enigszins wat objectiviteit kunnen bieden.

Een klein aantal studies rapporteren tegenstrijdige bevindingen over S100 concentraties na alcohol inname (45–47). De meeste studies vinden echter geen effect van alcohol op S100 bloedspiegels(17,48,49).

#### 4. Wat zijn de bevindingen in het AZ Sint-Lucas Gent?

##### 5.1 Analytisch

In het laboratorium van AZ Sint-Lucas werd er voor de bepaling van S100 gekozen voor de Roche® Elecsys s100 kit. De analyse gebeurt op het volledig geautomatiseerde Cobas 8000® platform (e801 module, Roche). In onze studieopzet is de Roche analyser het meest geschikt gezien deze de snelste turnaround time (TAT) biedt (<1 uur).

Een beperkte analytische validatie werd uitgevoerd (within-run, between-run precisie) (tabel 2). Voor de within-run precisie werd Biorad controlemateriaal gebruikt (Lyphocheck Tumor Marker). Between-run precisie werd geëvalueerd aan de hand van zowel Biorad (Lyphocheck Tumor Marker) als Roche controlemateriaal (PeciControl Universal).

Tabel 2. Resultaten analytische validatie AZ Sint-Lucas (within- en between-run precisie)

	N	Gemiddelde (µg/L)	Standaarddeviatie (µg/L)	CV (%)	CV <sub>producent</sub> (%)
Within-run L1 (Biorad)	10	0.080	0.001	1.26	-
Within-run L2 (Biorad)	10	0.722	0.010	0.87	-
Between-run L1 (Biorad)	16	0.080	0.003	3.63	-
Between-run L2 (Biorad)	16	0.731	0.018	2.45	-
Between-run L1 (Roche)	16	0.194	0.004	1.95	1.7
Between-run L2 (Roche)	16	2.310	0.030	1.38	1.8

Finaal werd gekozen om Biorad controlemateriaal te gebruiken en een controlefrequentie van 2/week te hanteren op een normale S100 concentratie (Biorad Lyphocheck Tumor Marker L1). Er werden ondertussen 94 controles bepaald, met een gemiddelde waarde van 0.071 µg/L en een CV van 3.87 %.

##### 5.2 Klinische

###### Algoritme

Het algoritme voor CT-scan gebruik bij acuut TBI bij volwassenen werd opgesteld door de spoedartsen in AZ Sint-Lucas, en is afgeleid van de SNC13 guidelines. Patiënten met een risicofactor, nl. therapeutische anticoagulatie, klinische tekens van een schedelfractuur, posttraumatisch epileptisch insult, hydrocefalus met therapeutische drainage en multipale uitwendige kwetsuren boven schouder niveau (hoog-energetische trauma's) moeten standaard een CT-hersenen krijgen. Patiënten met minimaal TBI (GCS 15, geen LOC/amnesie/neurologische uitval), kunnen ontslagen worden met mondelinge en geschreven raadgevingen. Bij patiënten met mild TBI (GCS13-14 of GCS 15 en bewustzijnsverlies <5 min en/of amnesie voor de gebeurtenis en zonder neurologische uitval) wordt S100 bepaald (indien staalafname <6 uur na trauma). Bij negatieve S100 waarden (<cutoff 0.105 µg/L) kunnen patiënten ontslagen worden met wekadvis. Bij positieve S100 waarden (>cutoff 0.105 µg/L) is een CT hersenen de eerste keuze, in een tweede instantie kan de patiënt >12u in observatie gehouden worden (al dan niet thuis). Bij patiënten met matig TBI (GCS 9-12, LOC>5 min of focaal neurologische uitval) is een CT hersenen verplicht.

Voor trauma onder invloed van ethyl beslisten de spoedartsen S100 te gebruiken als hulpmiddel en beslist de arts overal al dan niet een CT. Dit omdat ethyl de klinische evaluatie sterk bemoeilijkt. Deze patiënten hebben een gedaald bewustzijn (GCS) en kunnen als gevolg van ethyl eerder dan als gevolg van het trauma bepaalde neurologische symptomen (amnesie, nausea, vertigo, etc) vertonen.

De belangrijkste verschillen tussen het algoritme van AZ Sint-Lucas en de SNC13 guidelines zijn dat bij de SNC guidelines mild TBI patiënten >65 jaar die antiaggregerende medicatie innemen een CT-scan moeten krijgen en dat mild TBI patiënten met herhaald braken ( $\geq 2$  keer) een CT-scan moeten krijgen. Herhaald braken werd niet opgenomen in het algoritme van AZ Sint-Lucas. Herhaald braken kan een neurologisch symptoom zijn als gevolg van een verhoogde intracranieële druk. Daarom werden antiaggregatie, braken en nausea en een aantal andere klinische symptomen (hoofdpijn, vertigo, veranderd bewustzijn met name sufheid en verwardheid) opgenomen in de gegevensverzameling (zie studieopzet).

#### *Doeleinden:*

- Bestuderen van de klinische implementatie van S100 in een algoritme afgeleid van de SNC13 guidelines.
- Evalueren van de performantie van het algoritme om relevante intracranieële letsels te identificeren bij mild TBI.
- Evalueren in welke mate de cutoff van 0.105  $\mu\text{g/L}$  in staat is om afwezigheid van intracranieële pathologie en neurologische interventie te voorspellen.
- Evalueren van de compliantie aan het huidig algoritme.
- In de mate van het mogelijke een uitspraak over kosten-baten van S100 implementatie in deze klinische beslisregel.
- Evalueren van de meerwaarde van S100 in het management van patiënten met mild TBI in AZ Sint-Lucas (discussie).

#### *Studieopzet*

Alle patiënten waarbij S100 bepaling uitgevoerd werd, werden bestudeerd. Volgende gegevens werden verzameld: patiëntkarakteristieken (leeftijd, geslacht), type letsel, medicatie (anticoagulatie/antiaggregatie), gegevens m.b.t. het klinisch onderzoek (GCS, hoofdpijn, nausea/braken, LOC, veranderd bewustzijn, amnesie), nierfunctie, CT resultaten, beleid (ontslag & wekadvis, observatie, opname), opname duur op spoedgevallen en S100-waarde in serum.

Patiënten werden ingedeeld in categorieën minimaal, mild, matig en ernstig TBI volgens een algoritme afgeleid van de SNC13 guidelines opgesteld door de spoedartsen van AZ Sint-Lucas. In de ontslagbrief van de spoedarts wordt echter doorgaans geen TBI categorie vermeld. Deze indeling gebeurde pas achteraf in het laboratorium op basis van gegevens bekomen uit het patiëntendossier. Dit brengt dus een belangrijke factor subjectiviteit met zich mee.

Volgens het algoritme kunnen patiënten die serum S100 concentraties  $< 0,105 \mu\text{g/L}$  hebben en die voldoen aan bepaalde criteria (mild TBI, geen risicofactoren noch neurologische uitval) het ziekenhuis verlaten met mondelinge en geschreven raadgevingen (wekadvis). Bij deze patiënten, waarbij geen CT-scan genomen wordt, kunnen we niet met zekerheid weten wat de outcome was. Via surrogaatmerkers werd getracht dit te evalueren. Één maand na de initiële aanmelding op de spoedgevallendienst werd een opvolging voorzien van alle patiënten waarbij S100 bepaald werd. Hierbij werden gegevens verzameld die kunnen wijzen op mogelijke complicaties, bijvoorbeeld heropname, consult neurologie, ... De patiënt zelf werd niet gecontacteerd, noch werd nagegaan of er bij de huisarts een consult plaatsvond noch of de patiënt in een ander ziekenhuis werd opgenomen (bv. via COZO).

## Resultaten

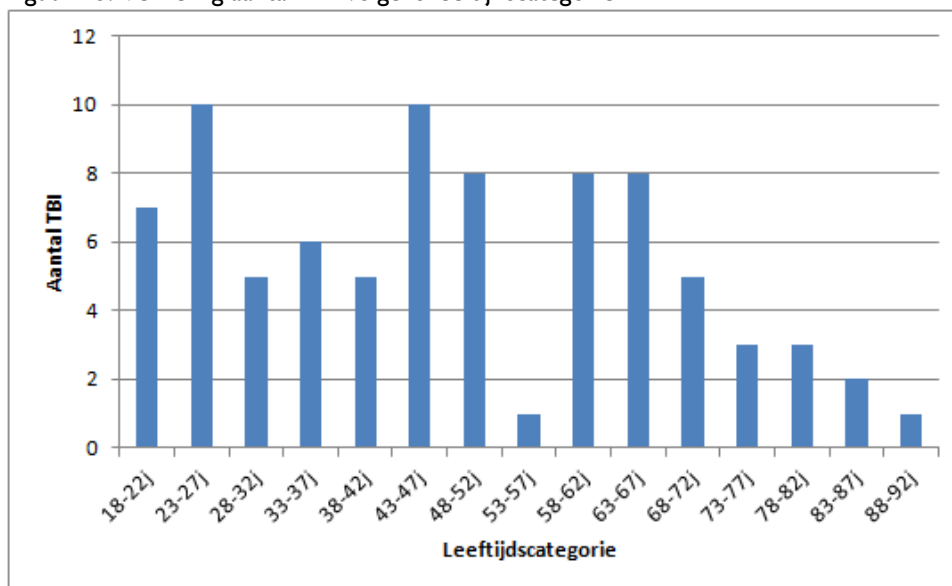
### Klinische implementatie S100

Vanaf de implementatie van deze parameter in september 2017 tot twee weken voor de CAT presentatie (februari 2018) werden 103 bepalingen uitgevoerd. De mediane TAT bedroeg 50 minuten. Van de 103 bepalingen overschreden 36 (35%) een TAT van 1 uur.

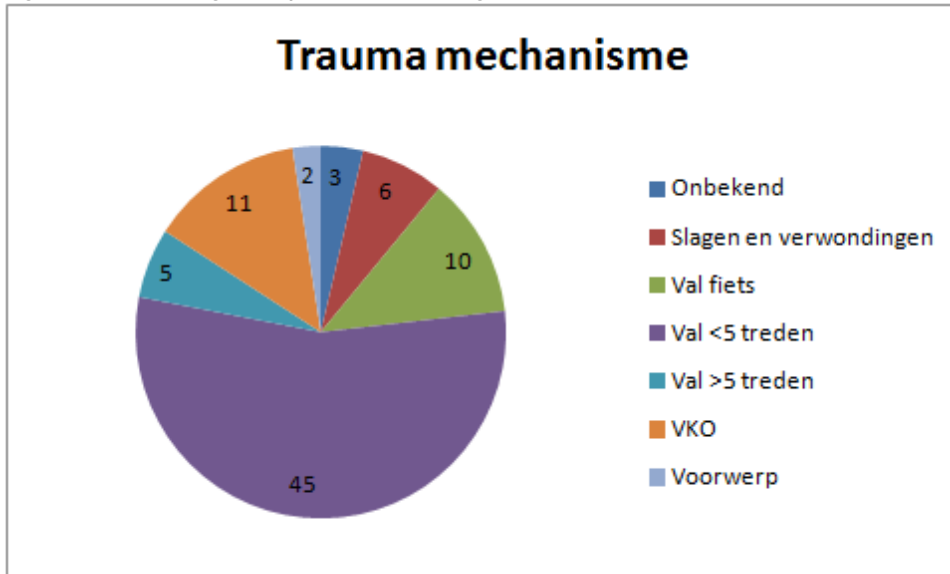
Patiënten waarbij er geen hoofdtrauma plaatsvond, patiënten <18 jaar en patiënten waarbij staalafname > 6 uur na TBI plaatsvond werden geëxcludeerd. De bekomen TBI studiepopulatie bestond uit 82 patiënten. Demografische data worden weergegeven in bijlage 3. De meeste TBI kwamen voor in leeftijdscategorieën 18-27j, 43-52j en 58-67j (figuur 13). De meerderheid van de patiënten (72%) werden met de ziekenwagen naar de spoedgevallendienst gebracht. Met betrekking tot de etiologie van het trauma komen een val, verkeersongevallen, en een val met de fiets het meest frequent voor (respectievelijk 45%, 11% en 10%)(figuur 14). 43% van de patiënten werden opgenomen onder invloed van ethyl (mediane alcohol bloedconcentratie 2.61 g/L). Indien we kijken naar TBI categorie, werd S100 het meest aangevraagd bij minimaal TBI (48%), vervolgens bij mild TBI (39%), patiënten met een risicofactor (9%), matig TBI (4%) en ernstig TBI (1%) (zie tabel 3). Slechts 3 patiënten hadden een gestoorde nierfunctie. Deze patiënten hadden een verhoogde S100 concentratie (eGFR 58.9, 34.5 en 57.9). Vermoedelijk was de verhoging in S100 niet te wijten aan de nierfunctie (patiënten met respectievelijk Alzheimer, hypovolemische shock en miltruptuur, en een humerusfractuur). De mediane verblijftijd van TBI patiënten op de spoedgevallendienst was 3uur en 28 minuten. Bij 30 patiënten werden op CT-hersenen elementen opgemerkt die stricto sensu geen hersenschade omvatten (bijvoorbeeld sinusitis, subgaleaal hematoom en aangezichtsfracturen). Slechts acht patiënten hadden een pathologische CT en dus effectief zichtbare hersenschade (10% van de studie cohorte). Bij twee patiënten was neurochirurgische interventie noodzakelijk (zie bijlage 2).

De meeste S100 bepalingen werden aangevraagd door ASO spoedartsen. Dit werd afgeleid uit de spoedbrieven, waarbij we er vanuit zijn gegaan dat de arts die de spoedbrief opstelt de patiënt geëvalueerd heeft en dus ook S100 aangevraagd heeft. Dit kan mogelijks geen volledig correcte weergave zijn. Van de 14 spoedartsen (stafleden) van het AZ Sint-Lucas hebben er 2 nooit S100 aangevraagd (zie figuur 15).

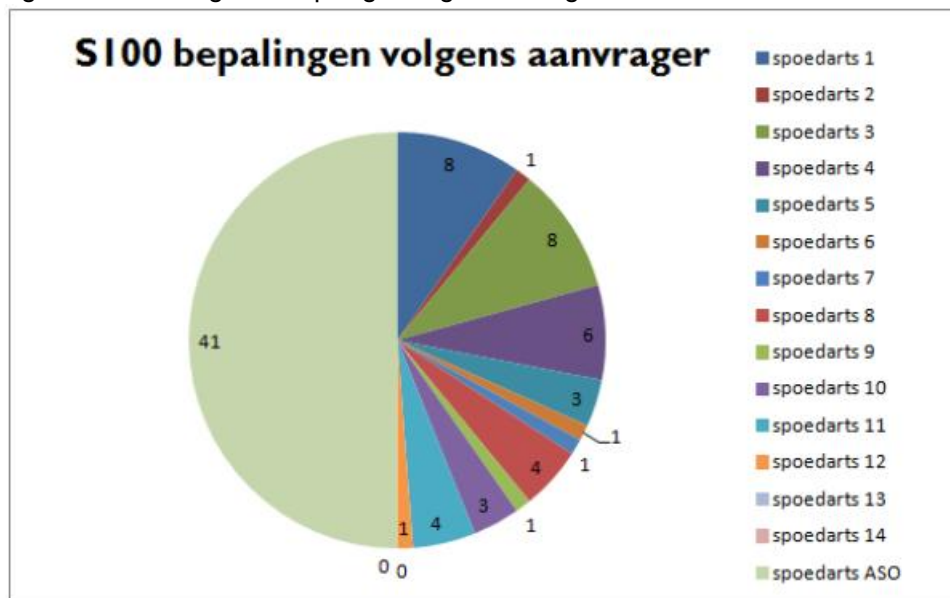
Figuur 13. Verdeling aantal TBI volgens leeftijdscategorie



Figuur 14. Verdeling TBI op basis van etiologie van het trauma



Figuur 15. Verdeling S100 bepalingen volgens aanvrager



Tabel 3. Studiepopulatie: indeling, mediane S100 concentraties, uitvoering en resultaat CT scans

Studie populatie N= 82					
Indeling	N(%)	S100 (µg/L) mediaan	S100 positief - N(%)	CT uitgevoerd (%)	CT positief - N(%) / (#patiënten)
Minimal	48	0,144	59	44	3(1)
Mild	39	0,136	53	66	3(1)
Moderate	4	0,226	100	67	0(0)
Severe	1	0,618	100	100	100(1)
Risico	9	1,430	100	100	71(5)

### Performantie algoritme om relevante intracranieële letsels te identificeren

Slechts bij 1 mild TBI patiënt met een serum S100 concentratie 0.134 µg/L werd een intracranieel letsel op CT gevonden nl. een subduraal hematoom alsook hersenoedeem. Dit werd uiteindelijk door de arts geïnterpreteerd als een oud subduraal hematoom en vermoedelijk dus geen trauma-geïnduceerd letsel. Het betrof een val onder invloed van ethyl, met kort GCS 14 en bewustzijnsverlies. De patiënt werd gedurende 10 uur in observatie gehouden op de spoedgevallendienst.

### Evaluatie cutoff waarde

In alle patiënten waarbij een intracranieel letsel op CT gezien werd, was S100 > 0.105 µg/L. Bij geen enkele patiënt met S100 <0.105 µg/L werd een intracranieële complicatie opgespoord. Bij patiënten waarbij S100 <0.105 µg/L maar waarbij geen CT uitgevoerd werd, werd bij opvolging na 1 maand geen complicatie gevonden. De cutoff waarde werd in onze patiëntpopulatie bijgevolg adequaat bevonden om hersentrauma uit te sluiten.

### Compliantie aan het algoritme

Bij 36 van de 82 patiënten (45%) werd het algoritme niet correct gevolgd. Bij 5 patiënten werd een risicofactor geïdentificeerd en werd alsnog S100 aangevraagd. Bij respectievelijk 22, 2 en 1 patiënten werd een minimaal TBI, matig en ernstig TBI vastgesteld, maar werd toch S100 bepaald. Bij twee patiënten met mild TBI en positieve S100 werd geen CT uitgevoerd. Bij 4 patiënten met mild TBI was S100 negatief en werd alsnog een CT hersenen uitgevoerd.

### Kostenbesparend vermogen

Bij 21 patiënten met mild TBI was S100 positief. Bij 17 van deze patiënten werd een CT uitgevoerd, bij 4 patiënten werd geen CT uitgevoerd. Van deze 4 patiënten hadden er 2 een CT geweigerd. Voor derde patiënt was het uit de ontslagbrief niet duidelijk waarom geen CT uitgevoerd werd. De laatste patiënt betrof een val <5 treden; deze patiënt was kort bewusteloos geweest en had nausea. De GCS bepaald in de ziekenwagen was 15. De spoedarts besliste om geen CT uit te voeren op basis van een randpositieve S100 waarde (0.110 µg/L).

Bij 11 patiënten met mild TBI was S100 negatief. Bij 4 patiënten werd toch een CT uitgevoerd. **Bij 7 patiënten werd op basis van de S100 waarde beslist om geen CT te doen.** Dit wil zeggen dat in de mild TBI patiëntengroep op basis van het algoritme 7 CT's vermeden werden. Zie tabel 4.

Een patiënt op spoedgevallen betaalt €9.92 voor een CT hersenen, dit kost het RIZIV €151.96 (RIZIV). Gezien er geen RIZIV-nomenclatuur is voor S100, betaalt de patiënt de kostprijs van de test. 1 kit Roche Elecsys S100 waarmee 100 bepalingen kunnen uitgevoerd worden kost €1630 (BTW inbegrepen). De kalibrator (Roche CalSet S100) kost €131.65 (BTW inbegrepen). In AZ Sint-Lucas werd ervoor gekozen om voor S100-bepaling €25 aan te rekenen aan de patiënt. Bijgevolg kost het voor de patiënt €15.01 meer indien een S100 bepaling gebeurt die negatief is in plaats van een CT-scan. Het voordeel is echter dat de patiënt niet blootgesteld wordt aan eventuele schadelijke straling. Indien we zouden veronderstellen dat S100 (gedeeltelijk) terugbetaald zou worden, zou dit voor de maatschappij alsnog een kostenbesparing betekenen. Zie tabel 4 en 5.

Tabel 4. Samenvattende tabel indeling, S100 concentratie en CT-gebruik bij TBI patiënten

	totaal	S100 positief	CT	geen CT	S100 negatief	CT	geen CT
Minimaal	39	23	16	7	16	1	15
Mild	32	21	17	4	11	4	7
Matig	3	3	2	1	-	-	-
Ernstig	1	1	1	-	-	-	-
Risico	5	5	5	-	-	-	-

Tabel 5. Evaluatie kosten CT en S100 bij mild TBI

Mild TBI	CT	S100
Totaalkost	€161,88x21= €3399.48	€25x32= €800
Kost voor patiënt	€9.92x21= €208.32	€25x32= €800
Kost voor gemeenschap (RIZIV)	€151.96x21= €3191.16	€0

*Evaluatie meerwaarde S100 in AZ Sint-Lucas (discussie)*

Onze studie heeft een aantal beperkingen. Enerzijds de beperkte studiegrootte en anderzijds het feit dat niet bij alle patiënten een CT-scan werd uitgevoerd. Talrijke studies en meta-analysen hebben echter reeds aangetoond dat een negatieve S100 betrouwbaar de afwezigheid van relevante intracranieële bevindingen kan voorspellen. Wij begrijpen dus de beslissing van de spoedartsen om S100 te implementeren zonder voorafgaande klinische validatie. Bovendien werden alle patiënten 1 maand na S100 bepaling opgevolgd om eventuele complicaties op te sporen, maar deze opvolging is was zeer beperkt. Mogelijks wordt deze studie verdergezet door een ASO spoedarts die dan patiënten kan opvolgen in COZO en/of telefonisch contacteert.

Zoals reeds aangehaald kan een MRI-scan in bepaalde gevallen intracranieële laesies aantonen die niet gezien kunnen worden door middel van een CT-scan. De vraag hierbij is echter wel of het dan nog gaat om relevante intracranieële laesies (dus waar een interventie noodzakelijk zou zijn).

Een andere beperking van onze studie is dat bij mild trauma niet standaard een bloedonderzoek gedaan wordt op de spoedgevallen. Het uitvoeren van een bloedonderzoek bij mild hoofdtrauma met daarbij al dan niet aanvragen van S100 is echter de vrije keuze van de spoedarts. Dit verschilt niet van het aanvragen van alle andere labotesten. Alle artsen op de spoedgevallendienst werden op de hoogte gebracht van deze studie en het implementeren van de SNC13 guidelines. Het afwijken van deze guidelines/het niet toepassen van deze guidelines (want deze zijn dan ook enkel een hulpmiddel voor de arts), is de vrije keuze van de arts. In geen enkel geval wilden wij de artsen op de spoedgevallendienst een werkwijze opleggen. Bij het verwerken van de resultaten konden we wel afleiden dat bepaalde artsen meer met S100 werken en andere nooit. Patiënten waarbij enkel een CT gebeurde werden dan ook niet opgespoord. Enkel patiënten waarbij S100 bepaald werd, werden bestudeerd. Enkel daarover werd een uitspraak gedaan.

Nog een beperking van de studie is het subjectieve aspect m.b.t. indeling van de patiënten in de verschillende TBI categorieën.

Zoals blijkt uit onze studie kan S100 veilig gebruikt worden als tool om intracranieële laesies uit te sluiten bij een geselecteerde mTBI groep. Indien het algoritme correct toegepast wordt, biedt dit een mogelijkheid om een significante reductie te bekomen in het aantal CT's. In de praktijk zien we echter dat de parameters van de richtlijn moeilijk te beoordelen zijn, en dat het aanvragen van S100 maar in 55% van de gevallen correct gebeurt. In de huidige situatie kan dit mogelijks zelfs leiden tot een toename in het aantal CT's. Bovendien werd in de periode september 2017- februari 2018 slechts 103 bepalingen van S100 uitgevoerd. Voorlopig zien wij dus geen meerwaarde in het verder aanbieden van S100.

**TO DO/ACTIONS**

- 1) Overleg met spoedartsen: verder met S100???

## ATTACHMENTS

---

### Attachment I. Glasgow Coma Scale (GCS)

**TABLE 1-2. Glasgow Coma Scale**

Eye opening (E)	Spontaneous	4
	To speech	3
	To pain	2
	Nil	1
Best motor response (M)	Obeys	6
	Localizes	5
	Withdrawn	4
	Abnormal flexion	3
	Extensor response	2
	Nil	1
Verbal response (V)	Oriented	5
	Confused conversation	4
	Inappropriate words	3
	Incomprehensible sounds	2
	Nil	1
Coma score (E + M + V)=3-15		

---

Attachment 2. Samenvattende tabel van intracranieële complicaties in de studiepopulatie

CT+ patiënten	Indeling	GCS	risicofactor	SI100 (µg/L)	gebeurtenis	extracranieel trauma?	CT resultaat	Neurochirurgie ?
Patiënt 1	minimaal	15	-	3,280	val <5 treden	fractuur humerus, orbita, zygoma	intraparenchymateuze bloeding	Nee
Patiënt 2	mild	14	(ethyl)	0,134	val <5 treden	geen	subduraal hematoom en oedeem, oude component?	Nee
Patiënt 3	ernstig	<9	(ethyl)	0,618	VKO	schaafwonden	suburale/intraparenchymateuze bloeding, deviatie middellijn	Ja
Patiënt 4	risico	(14)	antico (ethyl)	3,110	val <5 treden	wonde	subarachnoidale/subcorticale bloeding	Nee
Patiënt 5	risico	13	teken schedelfractuur (ethyl)	2,170	val >5 treden	geen	epidurale/subdurale/subarachnoidale bloeding, beperkte deviatie middellijn	Ja
Patiënt 6	risico	-	antico	0,724	val <5 treden	geen	Contre coup letsel, subdurale tot subarachnoidale bloeding	Nee
Patiënt 7	risico	10	teken schedelfractuur	1,430	VKO	schaafwonde	subarachnoidale bloed en oedeem	Nee
Patiënt 8	risico	15	antico	4,460	val fiets	hematoom/schaafwonde	subarachnoidale bloeding	Nee



Attachement 3. Demografische, klinische en biologische karakteristieken studie S100 AZ Sint-Lucas

Totale populatie N= 103			
<b>Geen TBI - N (%)</b>	12		
<b>&lt;18 jaar - N (%)</b>	7		
<b>Staalafname &gt;6u posttrauma - N (%)</b>	3		
Studie populatie N= 82 S100 positief N = 55 S100 negatief N = 27			
<b>Geslacht - N (%)</b>			
Man	62	64	59
Vrouw	38	36	41
<b>Leeftijd (jaar) - mediaan</b>	49	56	34
<b>Historiek - N (%)</b>			
VKO	13	15	11
Val fiets	12	9	19
Val <5 treden	55	58	48
Val >5 treden	6	7	4
Slagen en verwondingen	7	5	11
Voorwerp	2	-	7
Onbekend	4	5	-
<b>GCS speed- N (%)</b>			
<9	1	2	-
9-12	4	5	-
13	2	4	-
14	4	4	4
15	34	29	44
Onbekend	55	56	52
<b>Symptomen - N (%)</b>			
Nausea	21	13	37
Hoofdpijn	13	5	30
Vertigo	5	5	4
Bewustzijnsverlies	28	29	26
Veranderd bewustzijn	21	22	19
<b>Risico factor – N (%)</b>			
Teken schedelfractuur	2	4	-
Anticoagulatie	6	9	-
Antiaggregatie	10	11	7
> 65 jaar	19	27	2
Alcohol intoxicatie	43	55	19
<b>S100 (µg/L) mediaan</b>	0,147	0,250	0,072

## RELEVANT EVIDENCE/REFERENCES

---

1. Menon DK, Schwab K, Wright DW, Maas AI, Demographics and Clinical Assessment Working Group of the International and Interagency Initiative toward Common Data Elements for Research on Traumatic Brain Injury and Psychological Health. Position statement: definition of traumatic brain injury. *Arch Phys Med Rehabil.* november 2010;91(11):1637–40.
2. Undén L, Calcagnile O, Undén J, Reinstrup P, Bazarian J. Validation of the Scandinavian guidelines for initial management of minimal, mild and moderate traumatic brain injury in adults. *BMC Med.* 9 december 2015;13:292.
3. Brazinova A, Rehorcikova V, Taylor MS, Buckova V, Majdan M, Psota M, e.a. Epidemiology of Traumatic Brain Injury in Europe: A Living Systematic Review. *J Neurotrauma.* 25 augustus 2016;
4. Tagliaferri F, Compagnone C, Korsic M, Servadei F, Kraus J. A systematic review of brain injury epidemiology in Europe. *Acta Neurochir (Wien).* maart 2006;148(3):255–268; discussion 268.
5. Taylor CA, Bell JM, Breiding MJ, Xu L. Traumatic Brain Injury-Related Emergency Department Visits, Hospitalizations, and Deaths - United States, 2007 and 2013. *Morb Mortal Wkly Rep Surveill Summ Wash DC 2002.* 17 maart 2017;66(9):1–16.
6. Faul M, Coronado V. Epidemiology of traumatic brain injury. *Handb Clin Neurol.* 2015;127:3–13.
7. Undén J, Ingebrigtsen T, Romner B, Scandinavian Neurotrauma Committee (SNC). Scandinavian guidelines for initial management of minimal, mild and moderate head injuries in adults: an evidence and consensus-based update. *BMC Med.* 25 februari 2013;11:50.
8. Bazarian JJ, McClung J, Cheng YT, Flesher W, Schneider SM. Emergency department management of mild traumatic brain injury in the USA. *Emerg Med J EMJ.* juli 2005;22(7):473–7.
9. Borg J, Holm L, Cassidy JD, Peloso PM, Carroll LJ, von Holst H, e.a. Diagnostic procedures in mild traumatic brain injury: results of the WHO Collaborating Centre Task Force on Mild Traumatic Brain Injury. *J Rehabil Med.* februari 2004;(43 Suppl):61–75.
10. Ingebrigtsen T, Waterloo K, Jacobsen EA, Langbakk B, Romner B. Traumatic brain damage in minor head injury: relation of serum S-100 protein measurements to magnetic resonance imaging and neurobehavioral outcome. *Neurosurgery.* september 1999;45(3):468–75; discussion 475-476.
11. Kolbe SC, van der Walt A, Butzkueven H, Klistorner A, Egan GF, Kilpatrick TJ. Serial Diffusion Tensor Imaging of the Optic Radiations after Acute Optic Neuritis. *J Ophthalmol.* 2016;2016:2764538.
12. Heidari K, Vafaei A, Rastekenari AM, Taghizadeh M, Shad EG, Eley R, e.a. S100B protein as a screening tool for computed tomography findings after mild traumatic brain injury: Systematic review and meta-analysis. *Brain Inj.* 11 juni 2015;1–12.
13. Boyle A, Santarius L, Maimaris C. Evaluation of the impact of the Canadian CT head rule on British practice. *Emerg Med J EMJ.* juli 2004;21(4):426–8.
14. Stein SC, Fabbri A, Servadei F, Glick HA. A critical comparison of clinical decision instruments for computed tomographic scanning in mild closed traumatic brain injury in adolescents and adults. *Ann Emerg Med.* februari 2009;53(2):180–8.
15. Stiell IG, Lesiuk H, Wells GA, Coyle D, McKnight RD, Brison R, e.a. Canadian CT head rule study for patients with minor head injury: methodology for phase II (validation and economic analysis). *Ann Emerg Med.* september 2001;38(3):317–22.

16. Stiell IG, Clement CM, Rowe BH, Schull MJ, Brison R, Cass D, e.a. Comparison of the Canadian CT Head Rule and the New Orleans Criteria in patients with minor head injury. *JAMA*. 28 september 2005;294(12):1511–8.
17. Undén J, Romner B. Can low serum levels of S100B predict normal CT findings after minor head injury in adults?: an evidence-based review and meta-analysis. *J Head Trauma Rehabil*. augustus 2010;25(4):228–40.
18. Neher MD, Keene CN, Rich MC, Moore HB, Stahel PF. Serum biomarkers for traumatic brain injury. *South Med J*. april 2014;107(4):248–55.
19. Thelin EP, Nelson DW, Bellander B-M. A review of the clinical utility of serum S100B protein levels in the assessment of traumatic brain injury. *Acta Neurochir (Wien)*. februari 2017;159(2):209–25.
20. Ingebrigtsen T, Romner B, Marup-Jensen S, Dons M, Lundqvist C, Bellner J, e.a. The clinical value of serum S-100 protein measurements in minor head injury: a Scandinavian multicentre study. *Brain Inj*. december 2000;14(12):1047–55.
21. Böhmer AE, Oses JP, Schmidt AP, Perón CS, Krebs CL, Oppitz PP, e.a. Neuron-specific enolase, S100B, and glial fibrillary acidic protein levels as outcome predictors in patients with severe traumatic brain injury. *Neurosurgery*. juni 2011;68(6):1624–30; discussion 1630-1631.
22. Cervellin G, Benatti M, Carbuticchio A, Mattei L, Cerasti D, Aloe R, e.a. Serum levels of protein S100B predict intracranial lesions in mild head injury. *Clin Biochem*. april 2012;45(6):408–11.
23. Laribi S, Kansao J, Borderie D, Collet C, Deschamps P, Ababsa R, e.a. S100B blood level measurement to exclude cerebral lesions after minor head injury: the multicenter STIC-S100 French study. *Clin Chem Lab Med*. april 2014;52(4):527–36.
24. Pandor A, Goodacre S, Harnan S, Holmes M, Pickering A, Fitzgerald P, e.a. Diagnostic management strategies for adults and children with minor head injury: a systematic review and an economic evaluation. *Health Technol Assess Winch Engl*. augustus 2011;15(27):1–202.
25. Biberthaler P, Linsenmeier U, Pfeifer K-J, Kroetz M, Mussack T, Kanz K-G, e.a. Serum S-100B concentration provides additional information for the indication of computed tomography in patients after minor head injury: a prospective multicenter study. *Shock Augusta Ga*. mei 2006;25(5):446–53.
26. Green SM. Cheerio, laddie! Bidding farewell to the Glasgow Coma Scale. *Ann Emerg Med*. november 2011;58(5):427–30.
27. North SH, Shriver-Lake LC, Taitt CR, Ligler FS. Rapid analytical methods for on-site triage for traumatic brain injury. *Annu Rev Anal Chem Palo Alto Calif*. 2012;5:35–56.
28. Wright RM, Ramesh KT. An axonal strain injury criterion for traumatic brain injury. *Biomech Model Mechanobiol*. januari 2012;11(1–2):245–60.
29. Kawata K, Liu CY, Merkel SF, Ramirez SH, Tierney RT, Langford D. Blood biomarkers for brain injury: What are we measuring? *Neurosci Biobehav Rev*. 2016;68:460–73.
30. Moore BW. A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochem Biophys Res Commun*. 9 juni 1965;19(6):739–44.
31. Donato R, Cannon BR, Sorci G, Riuzzi F, Hsu K, Weber DJ, e.a. Functions of S100 proteins. *Curr Mol Med*. januari 2013;13(1):24–57.
32. Heizmann CW, redacteur. *Calcium-Binding Proteins and RAGE: From Structural Basics to Clinical Applications* [Internet]. Humana Press; 2013 [geciteerd 19 februari 2018]. (Methods in Molecular Biology). Beschikbaar op: [//www.springer.com/us/book/9781627032292](http://www.springer.com/us/book/9781627032292)

33. Jackson RG, Samra GS, Radcliffe J, Clark GH, Price CP. The early fall in levels of S-100 beta in traumatic brain injury. *Clin Chem Lab Med.* november 2000;38(11):1165–7.
34. Townend W, Dibble C, Abid K, Vail A, Sherwood R, Lecky F. Rapid elimination of protein S-100B from serum after minor head trauma. *J Neurotrauma.* februari 2006;23(2):149–55.
35. Raabe A, Kopetsch O, Gross U, Zimmermann M, Gebhart P. Measurements of serum S-100B protein: effects of storage time and temperature on pre-analytical stability. *Clin Chem Lab Med.* mei 2003;41(5):700–3.
36. Djukanovic D, Hofmann U, Sucker A, Schadendorf D. Melanoma tumour markers S100B and MIA: evaluation of stability in serum and blood upon storage and processing. *Br J Dermatol.* december 2001;145(6):1030–1.
37. Müller K, Elverland A, Romner B, Waterloo K, Langbakk B, Undén J, e.a. Analysis of protein S-100B in serum: a methodological study. *Clin Chem Lab Med.* 2006;44(9):1111–4.
38. Delefortrie Q, Lejeune F, Kerzmann B, Levy R, Adam J-F, Sottiaux T, e.a. Evaluation of the Roche® Elecsys and the Diasorin® Liaison S100 kits in the management of mild head injury in the emergency room. *Clin Biochem.* februari 2018;52:123–30.
39. Beaudoux JL, Léger P, Dequen L, Gandjbakhch I, Coriat P, Foglietti MJ. Influence of hemolysis on the measurement of S-100beta protein and neuron-specific enolase plasma concentrations during coronary artery bypass grafting. *Clin Chem.* juli 2000;46(7):989–90.
40. Ben Abdesselam O, Vally J, Adem C, Foglietti M-J, Beaudoux J-L. Reference values for serum S-100B protein depend on the race of individuals. *Clin Chem.* mei 2003;49(5):836–7.
41. Bouvier D, Duret T, Rouzaire P, Jabaudon M, Rouzaire M, Nourrisson C, e.a. Preanalytical, analytical, gestational and pediatric aspects of the S100B immuno-assays. *Clin Chem Lab Med.* mei 2016;54(5):833–42.
42. Bouvier D, Castellani C, Fournier M, Dauphin J-B, Ughetto S, Breton M, e.a. Reference ranges for serum S100B protein during the first three years of life. *Clin Biochem.* juli 2011;44(10–11):927–9.
43. Castellani C, Stojakovic T, Cichocki M, Scharnagl H, Erwa W, Gutmann A, e.a. Reference ranges for neuroprotein S-100B: from infants to adolescents. *Clin Chem Lab Med.* 2008;46(9):1296–9.
44. Anderson RE, Hansson LO, Nilsson O, Dijlai-Merzoug R, Settergren G. High serum S100B levels for trauma patients without head injuries. *Neurosurgery.* juni 2001;48(6):1255–8; discussion 1258–1260.
45. Enochsson L, Carlsson-Sanz S, van der Linden J. The influence of alcohol and time on the S-100B levels of patients with minor head injury. *Eur J Neurol.* juni 2005;12(6):445–8.
46. Lange RT, Brubacher JR, Iverson GL, Procyshyn RM, Mitrovic S. Differential effects of alcohol intoxication on S100B levels following traumatic brain injury. *J Trauma.* mei 2010;68(5):1065–71.
47. Lange RT, Iverson GL, Brubacher JR. Clinical utility of the protein S100B to evaluate traumatic brain injury in the presence of acute alcohol intoxication. *J Head Trauma Rehabil.* april 2012;27(2):123–34.
48. Mussack T, Biberthaler P, Kanz KG, Heckl U, Gruber R, Linsenmaier U, e.a. Immediate S-100B and neuron-specific enolase plasma measurements for rapid evaluation of primary brain damage in alcohol-intoxicated, minor head-injured patients. *Shock Augusta Ga.* november 2002;18(5):395–400.
49. Calcagnile O, Holmén A, Chew M, Undén J. S100B levels are affected by older age but not by alcohol intoxication following mild traumatic brain injury. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med.* 6 juli 2013;21:52.