
Elektronenmicroscopie in de diagnostiek

WAT IS ELEKTRONENMICROSCOPIE?

- Een bundel elektronen die de inhoud van objecten af kan beelden
- Bewerkelijk en een hoge deskundigheid is vereist
- Hoge resolutie van de microscoop ($\pm 0,1\text{nm}$)
- Vergrotingen tot 100.000 keer

WAAROM ELEKTRONENMICROSCOPIE?

- Vrijwel alle details in een cel worden zichtbaar
- In circa 25% van de gevallen leidt EM-onderzoek tot verandering of belangrijke verfijning van de diagnose
- Het is onmisbaar voor de diagnostiek van o.a. neurodegeneratieve aandoeningen, stapelingsziekten, spierpathologie en nierpathologie



Basis Techniek

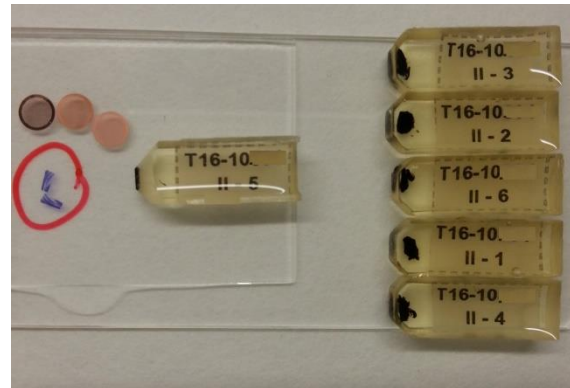
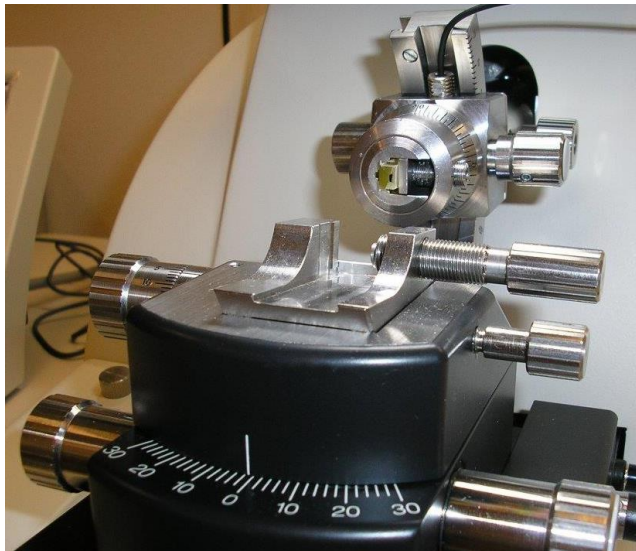
Materiaal:

- Fragmentjes van ca. 4 mm doorsnee
- Fixeren in Glutaaraldehyde, 2-3 mm/uur doordringbaarheid, eiwitfixatie
- Spoelen met buffer
- Na-fixatie met Osmium voor vastleggen v.d. (phosfo)lipiden, 1mm/uur
- Ethanol en Eponmengsel doorvoer en inbedden in Epon (epoxyhars)



Basis Techniek vervolg

- Overtollige Epon verwijderen
- Semidun snijden 1 μ met Tb-kleuring
- Ultradun snijden 70 -90 nm, opvangen op dragergrids
- Contrasteren met Uranyl- en loodoplossing
- Grids drogen en bekijken in de TEM (Transmissie Elektronen Microscoop)
- Opnamen digitaal vastleggen
- Bespreking met de Patholoog



Rondzending Elektronenmicroscopie spier 2015

BIJSLUITER
ELEKTRONENMICROSCOPIE 2015.1

Bigaand ontvangt u de monsters voor de rondzending Elektronenmicroscopie 2015.1

Contactinformatie
Gelieve alle monsters te controleren op breuk en volledigheid.
Voor vragen kunt u, onder vermelding van uw SKML deelnemernummer, contact opnemen over:
• de monsters, per email: info@scndepathologie.nl of telefonisch: +31 (0)33 4551877.
• QBase: centraal facilitair bureau van de SKML, via: office@skml.nl of telefonisch: +31 (0)24 3616637.

Bijzonderheden
n.v.t.

Startdatum en uiterste inzenddatum van de ronde
zie website: <http://www.skml.nl/rondzendingen/agenda> of venster "Agenda", hoedscherm QBase

Verantwoordelijk coördinator
Ing. I. Sluis

Beschrijving van het monstermateriaal
- 1 verzenddoosje met daarin 1 eponblokje
- 1 leeg opslagdoosje voor retourneren EM gride(s)
- Etiketten (1 stuk)

Opslag en bewaarcondities tot het moment van meten
De houdbaarheid van het monster is gelijk aan die van patiëntmateriaal.

Expiratiedatum monstermateriaal
n.v.t.

Gebruiksbaar maken
Monster is gebruiksklaar.

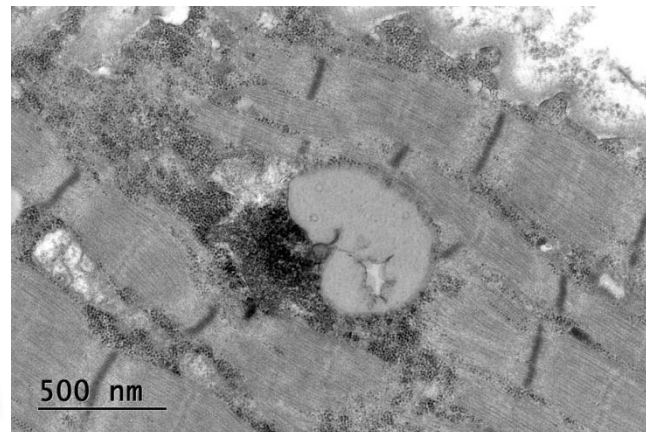
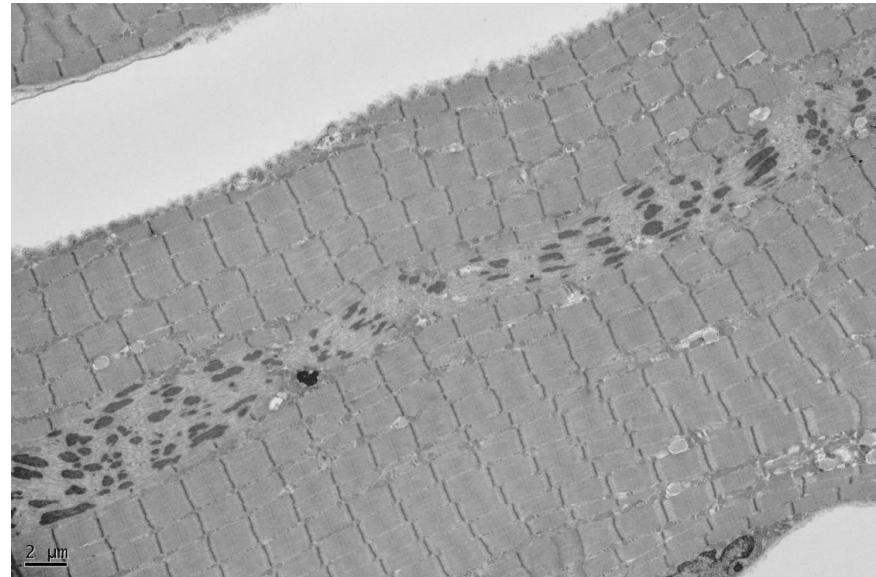
Resultaat invoer
Het inskuren van de resultaten gaat via QBase. U heeft hiervoor van de SKML instructies en een ingoosnaam gekregen.
De vraagstelling bij het monster is in QBase te raadplegen.

Retour zenden
Het preparaat en gride(s) dienen uiterlijk op **25 september 2015** retour gestuurd te worden in de grijze enveloppe.
Voor retourzending het adreskaartje achter het venster van de enveloppe omdraaien (dit geldt ook voor deelnemers het buitenland).
- Eén verzenddoosje met daarin één preparaat met daarop een semi dunne coupe van het rondzendmateriaal.
- Voorzorgen van het bijgeleverde etiketje.
- Eén opslagdoosje met daarin gride(s) met de ultra dunne coupe van het rondzendmateriaal.

Risico
Het materiaal dient, analoos aan patiëntmateriaal, als potentieel besmettelijk te worden beschouwd en als zodanig worden behandeld.

Opmerkingen
Om breuk van het glaasje worden

SKML - wetenschappelijk
EM 2015.1
Semi dunne coupe
Deelnemer



Een nieuw begin

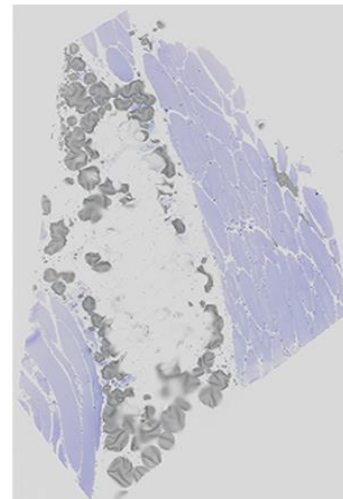
Het bewerkte materiaal

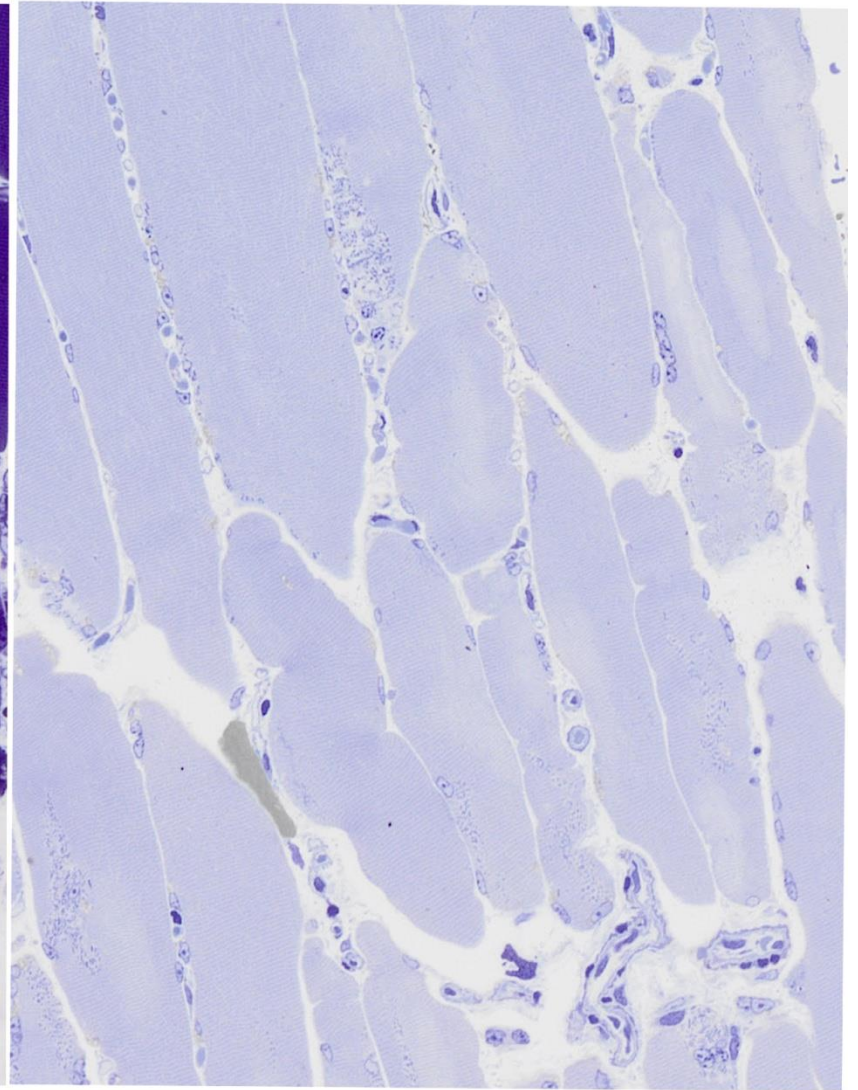
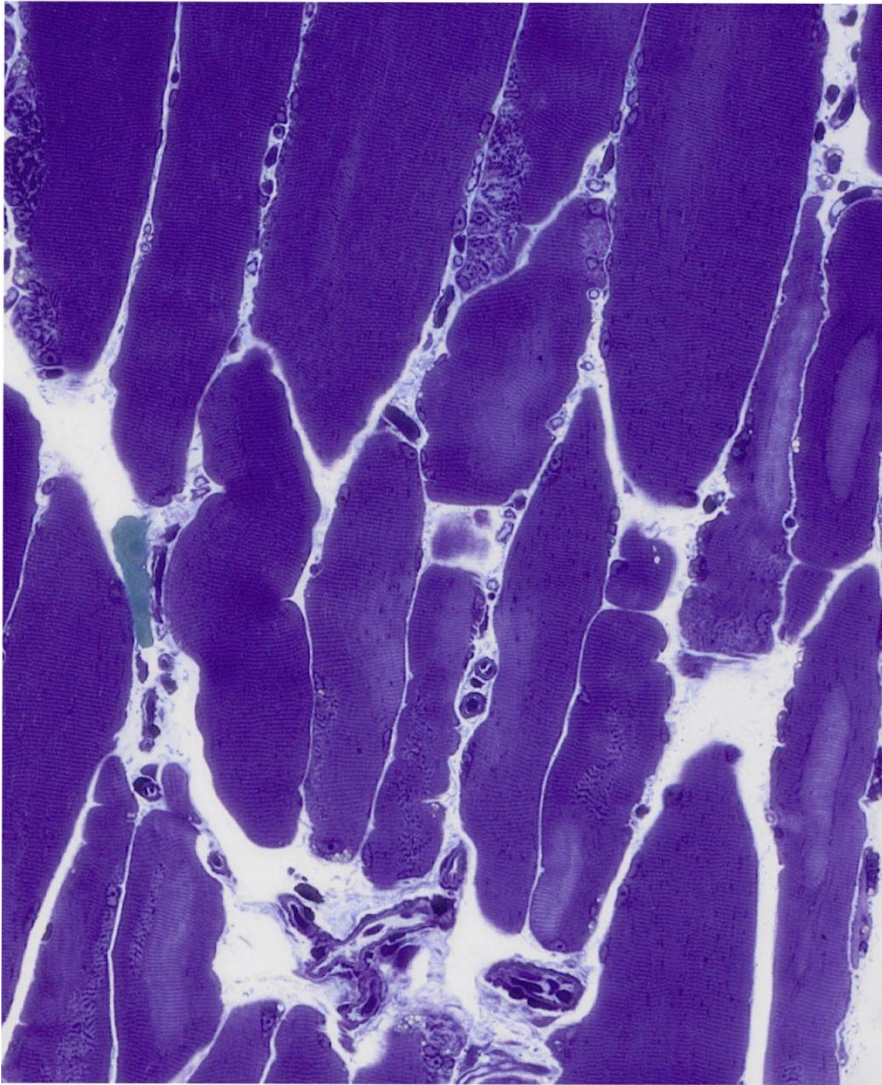
Elke deelnemer heeft een Eponblokje ontvangen van dezelfde patiënt

Eponblokje: Semidunne coupes met Toluidineblauw kleuring
 Ultradunne coupes met contrastering zoals men gewoon is
 EM opnamen die beoordeeld zijn

Er werd verschil opgemerkt in de semidunne en ultradunne coupes wat betreft kwaliteit en intensiteit van de contrastering en in de gehaalde scores

Semidunne coupes



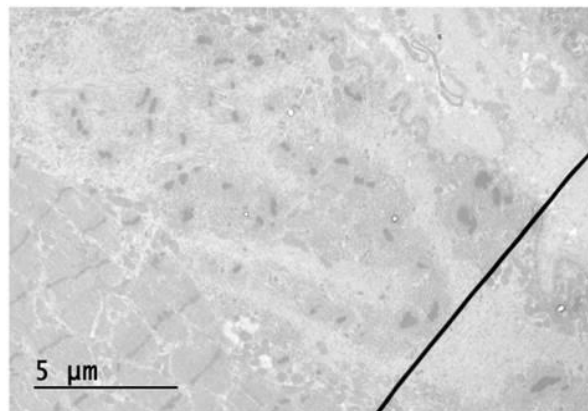
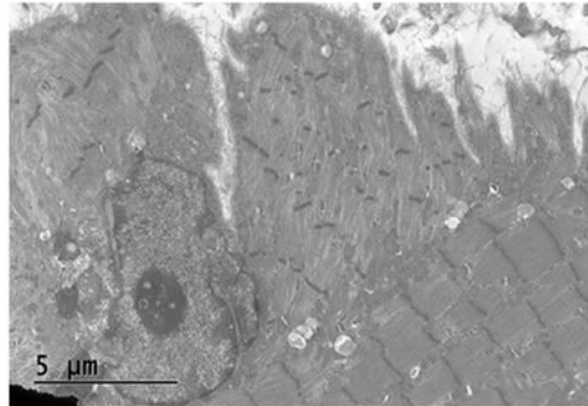
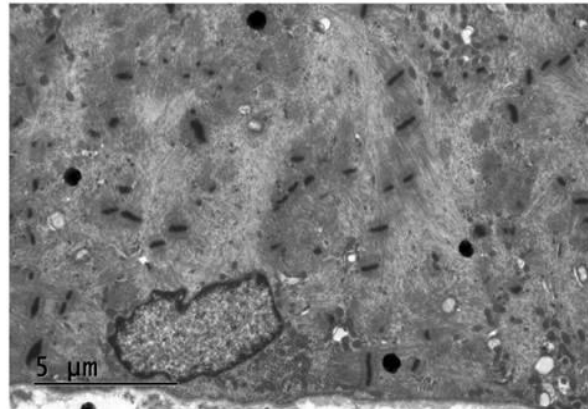


Toluidineblauw lang en kort gekleurd waarbij duidelijk de afwijkingen te zien zijn en waarbij de mate van intensiteit kan helpen bij herkenning hiervan.

Ultradunne opnamen
Met Jeol 1400 en Gatan
camera

Alle opnamen zijn genomen
met diafragma 3, bij 1_2K en
het camerabeeld is op het
scherm niet verbeterd

Er is duidelijk verschil in
contrast te zien



Mogelijke onderwerpen voor bespreking

Semidun:

- Hoe groot maken we de weefselstukjes en waarom
- Epon verwijderen: hoeveel en waarom
- Snijden en afdekken van coupes
- Voorkomende artefacten

Ultradun:

- Snijden
- Contrasteren



Bespreking scores

Totale score = 44	Deelnemers = 5
40	2
37	1
36	1
30	1

- Zijn de scores duidelijk
- Zijn er vragen over de lijst met mogelijke waarnemingen
- Zijn er vragen over de interpretatie

Expertwaarden rondzending 2016 EM SPIER

Waarneming	Geen Absent	Twijfel/Soms Sparse	Overtuigend Abundant
Core			X
Abnormal mitochondria		X	
Nuclear inclusions	X		
Filamentous body	X		
Rods			X
Glycogen		X	
Neutral lipid bodies		X	
Myelin structures	X		
Lipofusine		X	
Lysosomes		X	
Tubular aggregates	X		
Redundant membranes		X	
Z-band streaming		X	
Thick filaments	X		
Cytoplasmic bodies	X		
Neuromuscular junction	X		
Disturbed myofibrills		X	
Rimmed vacuole	X		
Presence of Nerves	X		
Concentric lamellated bodies	X		
Ring fibre	X		
Vacuoles	X		

Totaal = 44



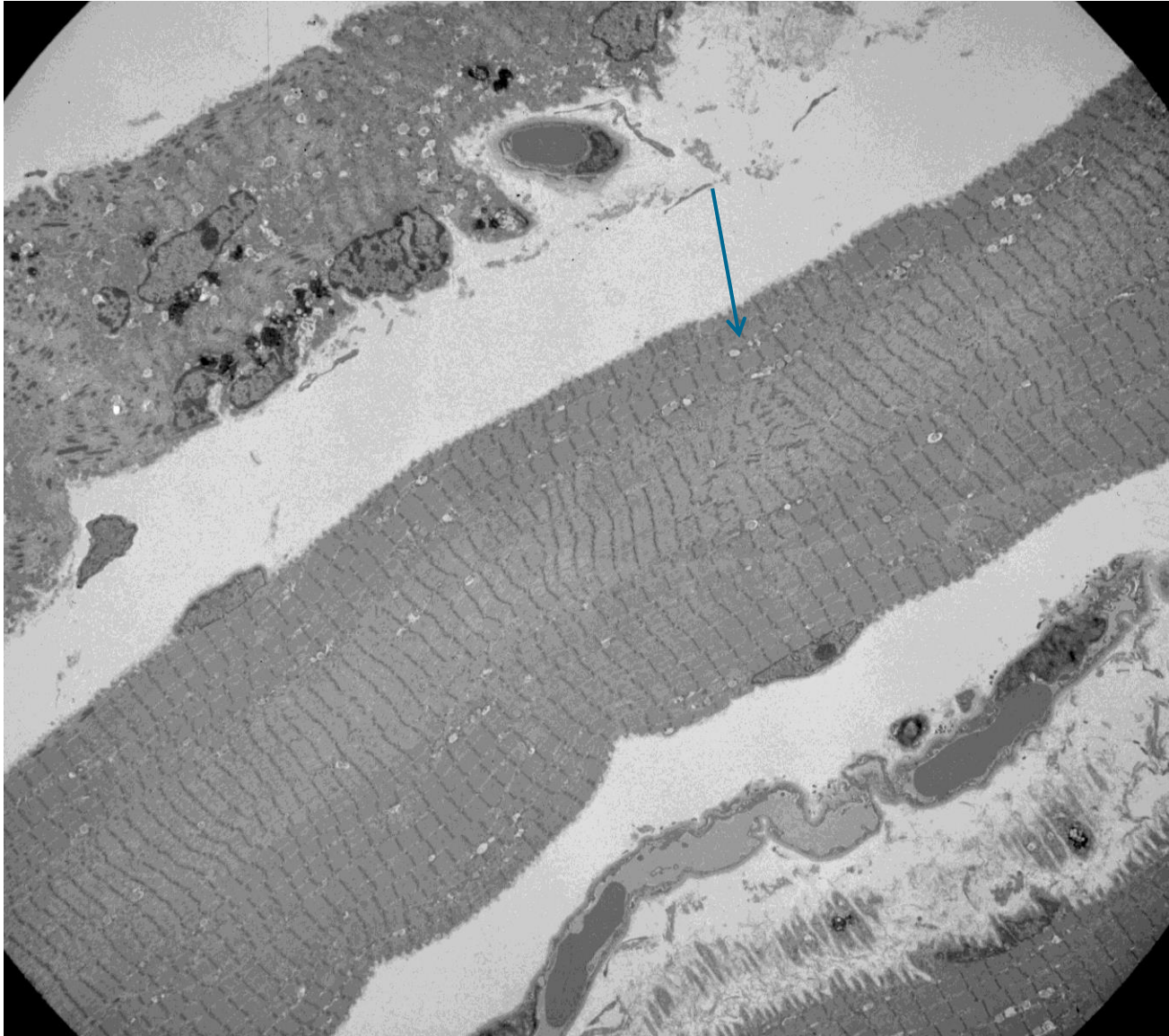
Mogelijke onderwerpen voor bespreking

Interpretatie van het EM-beeld

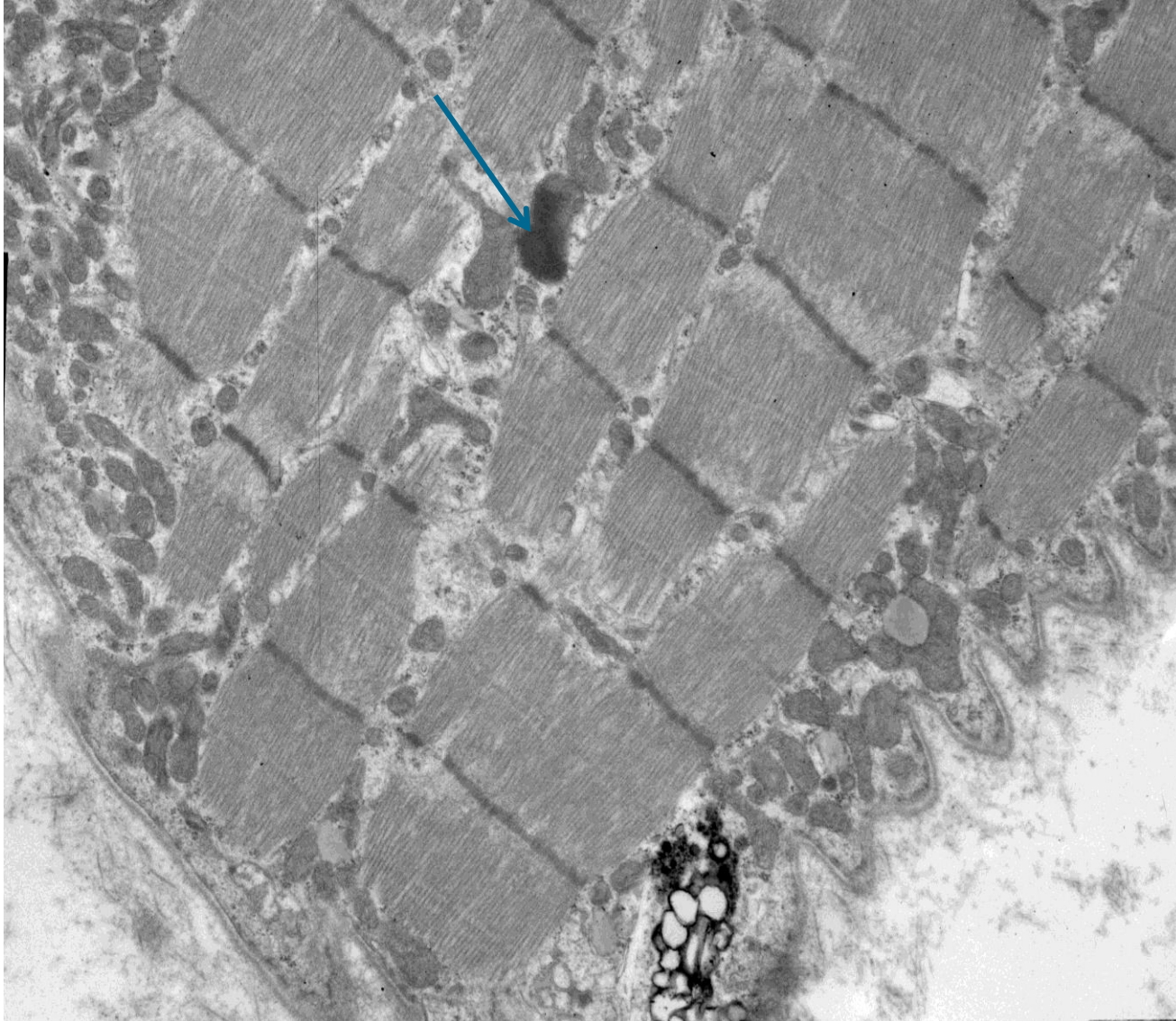
- zijn er vragen?
- We bekijken voorbeelden van score 1 en 2



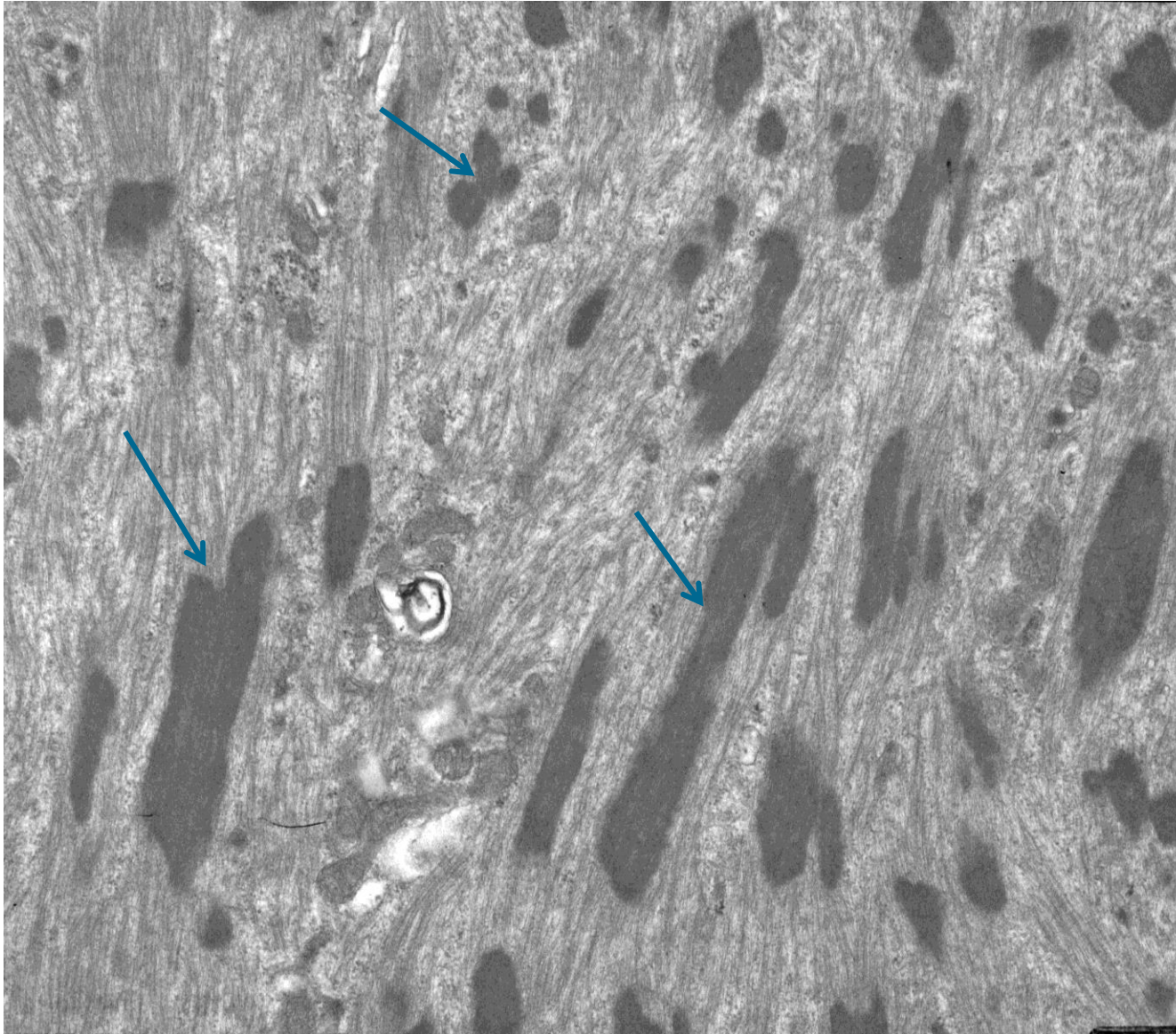
Core abundant



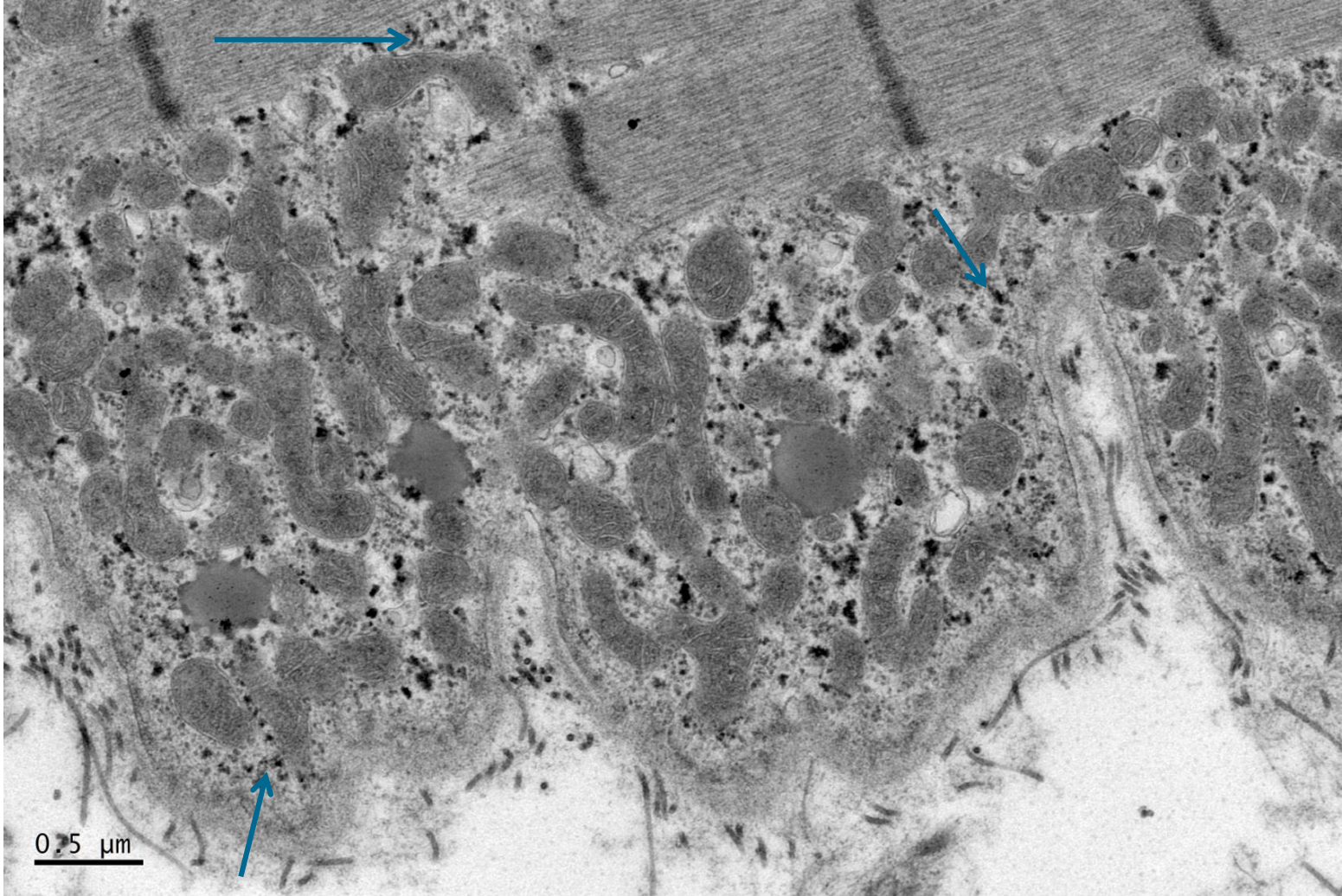
Abnormal mitochondria sparse



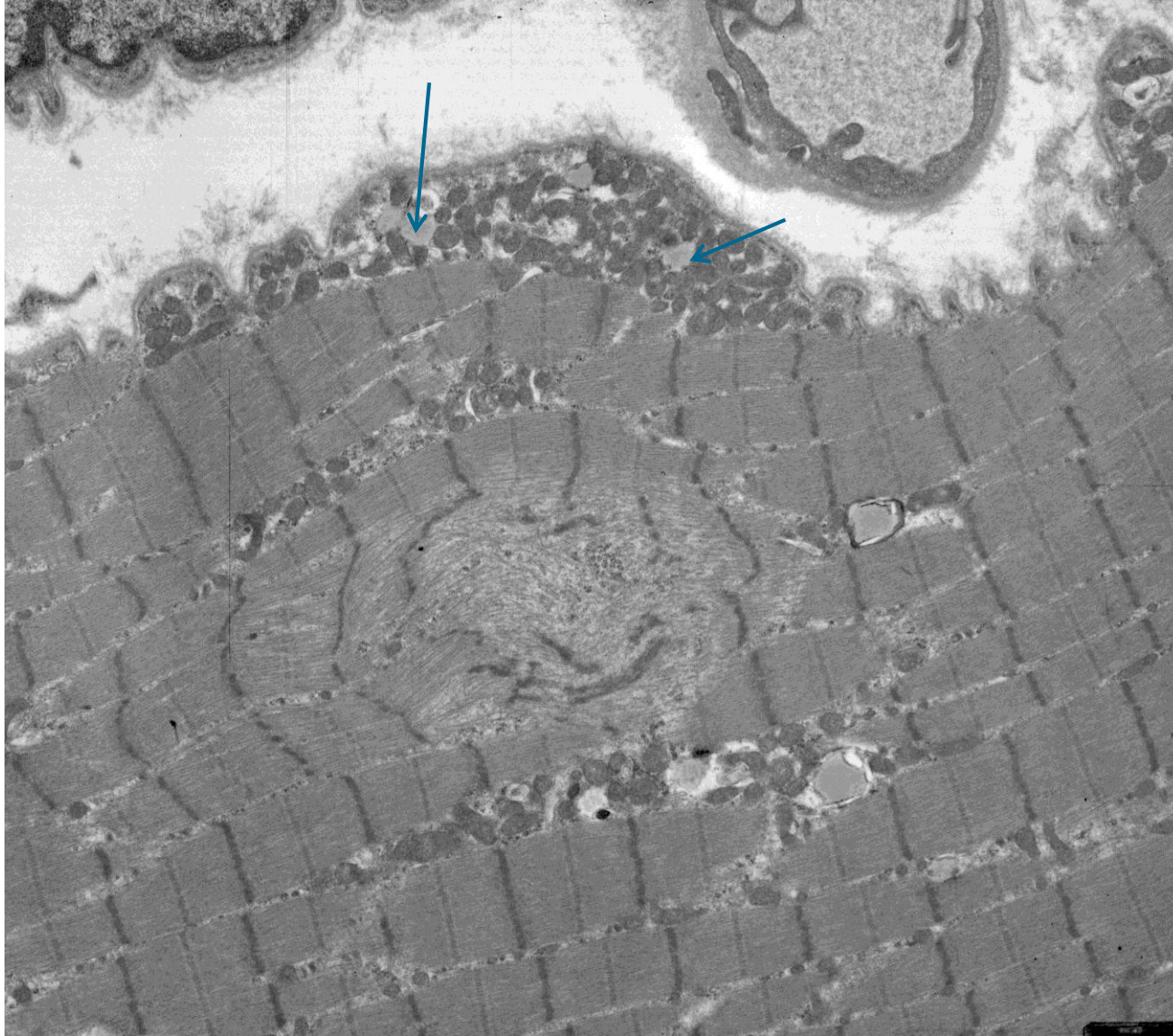
Rods abundant



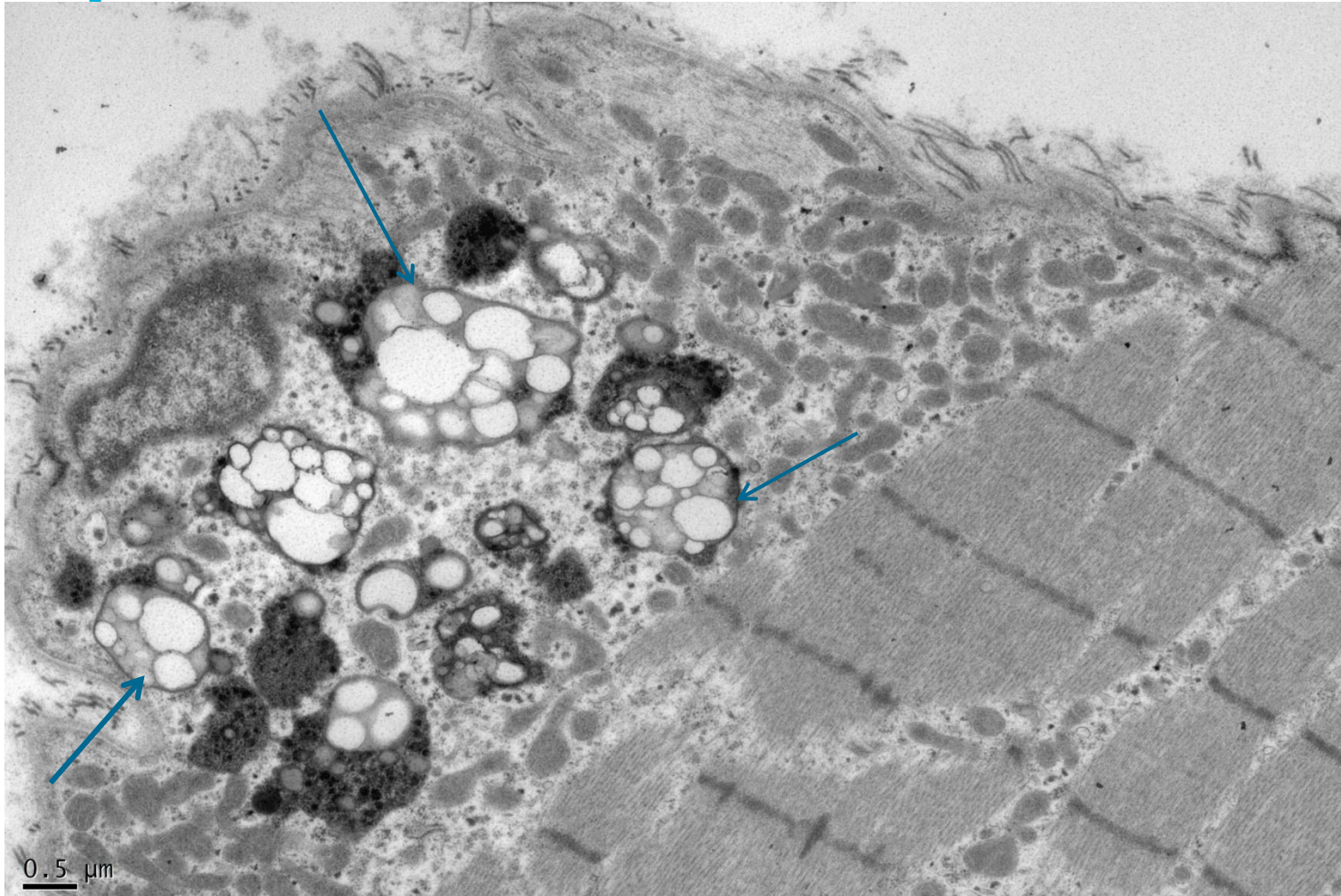
Glycogen_{spars}



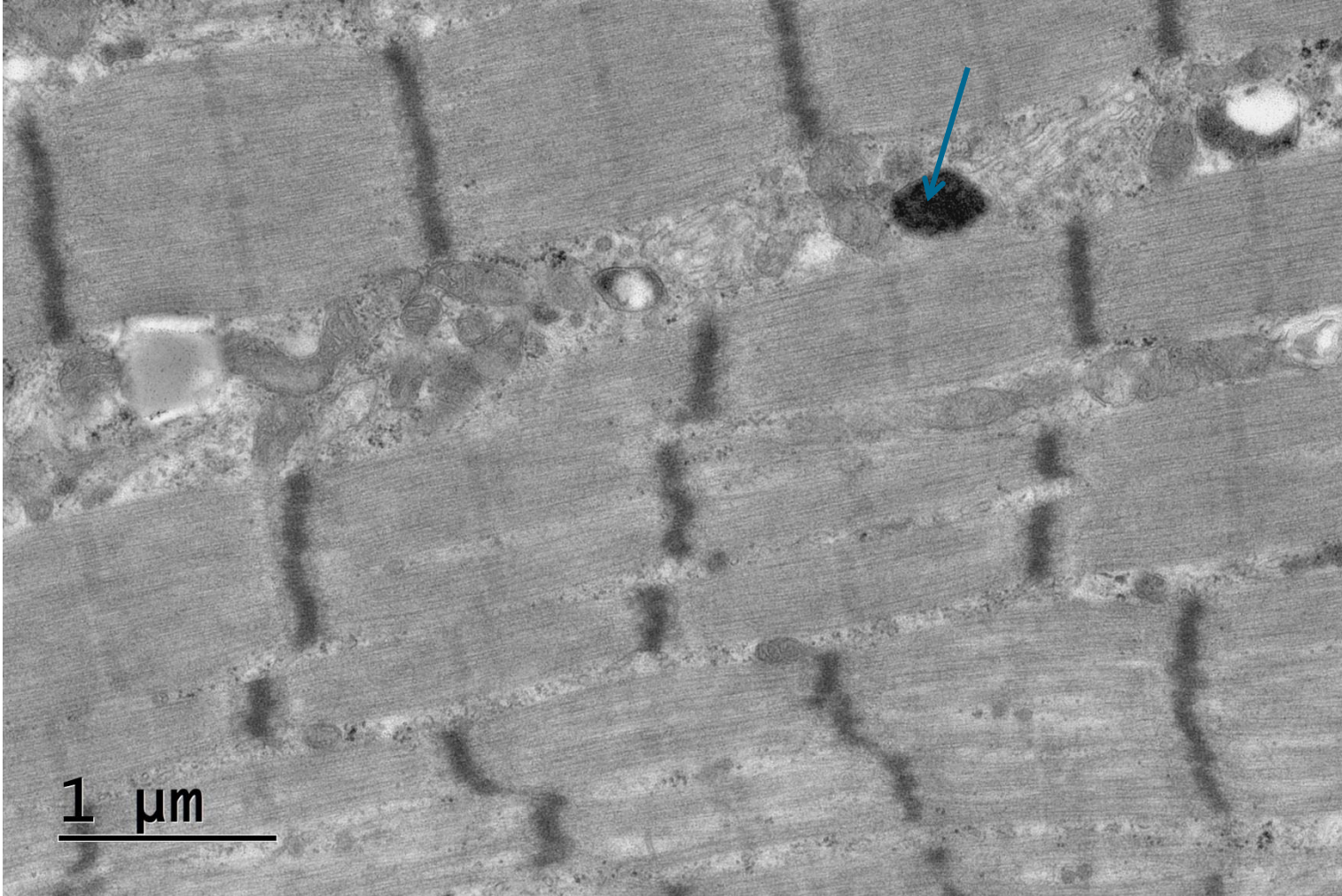
Neutral lipid bodies sparse



Lipofuc sine sparse



Lysosomen sparse

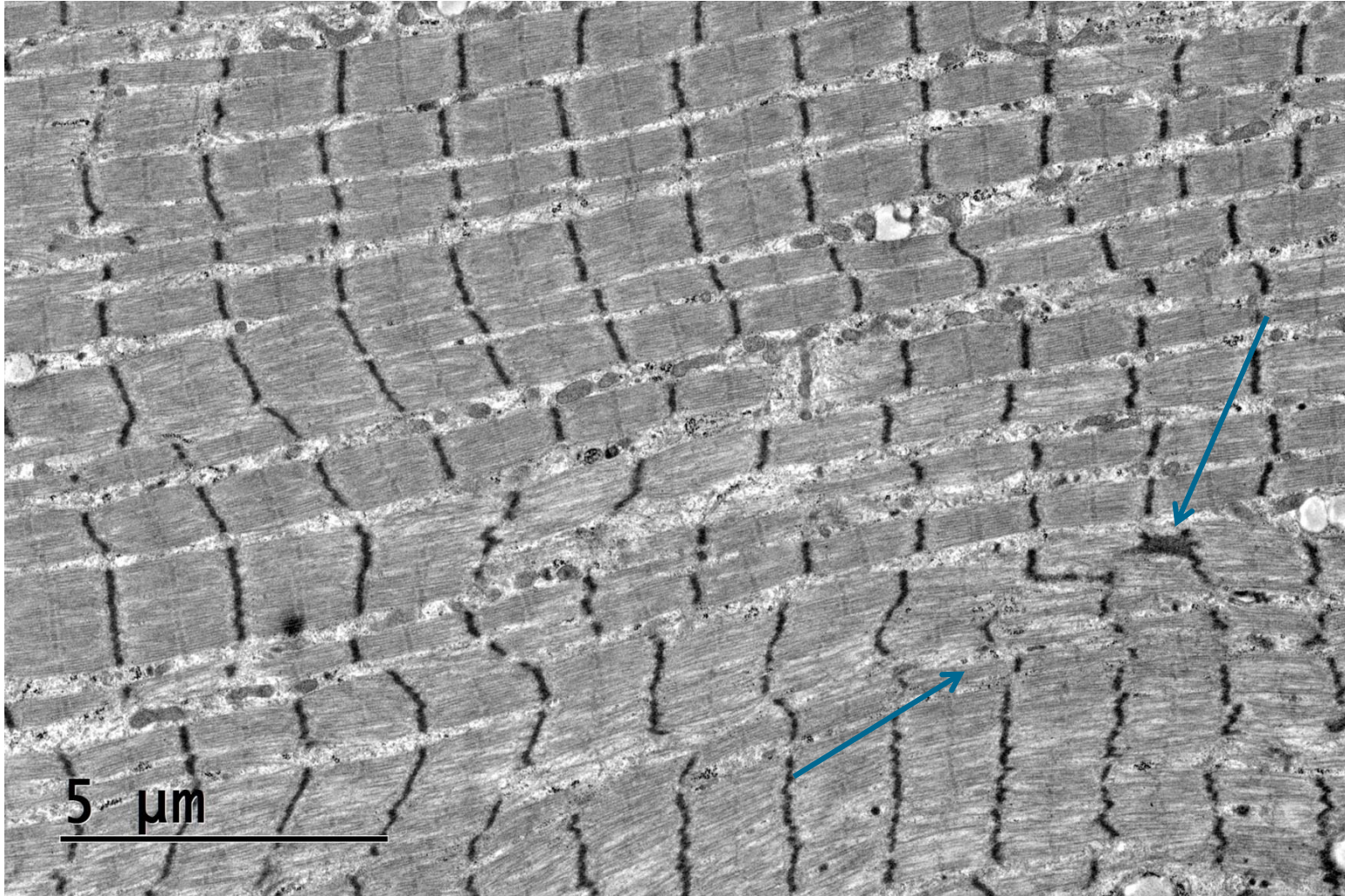


Redundant membranes sparse

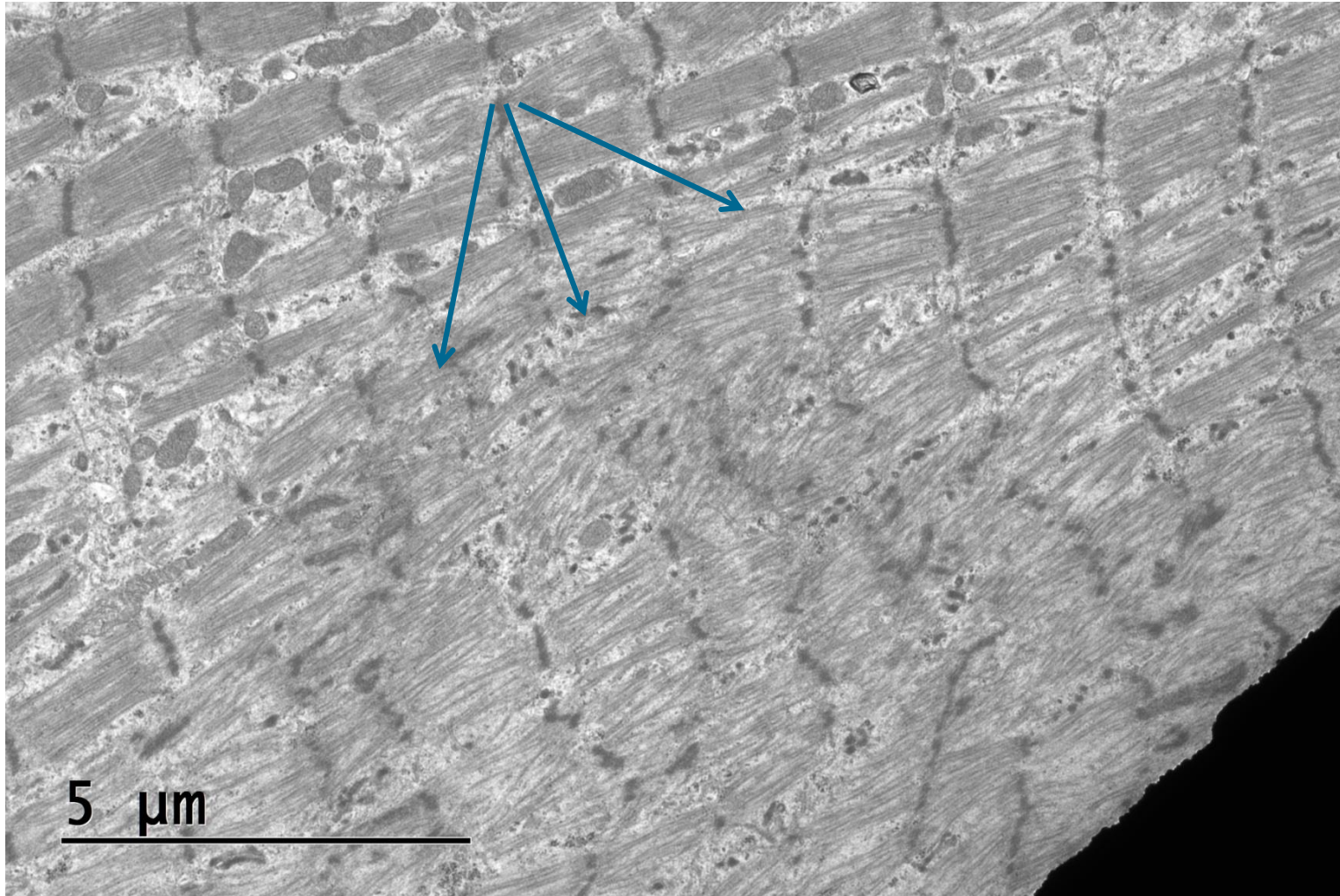


Z-band streaming

sparse



Disturbed myofibrils sparse



Bespreking Opmerkingen

- Er zal nooit EM worden aangevraagd op spier materiaal zonder dat er naar de enzymatische kleuringen is gekeken
 - *Dat is zo*
- De basaalmembranen van de capillairen zijn sterk verdikt. Gemiddeld 250nm. Sarcolemma is sterk gegolfd.
 - *De opmerking over sarcolemma en het basaalmembraan van de capillairen is een bevinding die niet van invloed hoeft te zijn op de diagnose maar zeker goed is om op te merken en aan te geven*
- Beeld polymembraneuze myopathie
 - ???
- Onze interpretatie van de scoring: Absent = niet aanwezig, Sparse = wel aanwezig maar 'normaal' of 'niet pathologisch', Abundant = aanwezig in overvloed, pathologisch
- 'Disturbed myofibrils' wel aanwezig maar alleen als gevolg van cores/rods/Z-band steaming
 - *Klopt, maar de bedoeling hier is dat voor elk item iets wordt ingevuld*
- Meerdere cores bevatten rods
 - *Klopt*



Verslag Patholoog

Spierbiopsie: musculus quadriceps femoris: het betreft een bijzondere spieraandoening waarbij we zowel de aanwezigheid van central cores opmerken als aanwezigheid van cores met zeer talrijke nemaline staafjes. Het betreft een gecombineerde central core - nemaline myopathie. Geen tekens van neurogene atrofie. Graag klinisch overleg.

Suggesties voor de volgende rondzending?

Bijvoorbeeld:

- Alleen ongecontrasteerde grids rondsturen die door de deelnemers zelf worden bewerkt?
- Meer?



The background image shows a laboratory environment. In the center, a large, white electron microscope (JEOL JEM-14) is mounted on a desk. To its right, there are two computer monitors displaying images, a keyboard, and a control panel with various buttons and knobs. In the background, there are shelves with books and a yellow box. The room has a white ceiling with fluorescent lights.

EM Pathologie Radboudumc rondzending spier 2015.1

Dr. Benno Kusters, patholoog

Lilian Eshuis, senioranalist