The 12th Continuing Medical Education in Clinical Pathology

PENDIDIKAN BERKESINAMBUNGAN PATOLOGI KLINIK 2013

MAKALAH LENGKAP

Departemen Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

PENDIDIKAN BERKESINAMBUNGAN PATOLOGI KLINIK 2013

Editor :

Ina Susianti Timan

Dewi Wulandari

DEPARTEMEN PATOLOGI KLINIK

FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA

JAKARTA

Pendidikan Berkesinambungan Patologi Klinik 2013

Editor : Ina Susianti Timan, Dewi Wulandari

xv+214 halaman

15 cm x 21 cm

ISBN No. 978-602-7655-04-1

Copyright 2013

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

Dilarang memperbanyak, mencetak, dan menerbitkan sebagian atau seluruh isi buku ini dengan cara dan dalam bentuk apapun juga tanpa seizin penulis dan penerbit

Diterbitkan pertama kali oleh

Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

Jakarta, Juni 2013

KATA SAMBUTAN KETUA DEPARTEMEN PATOLOGI KLINIK FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA

Dengan mengucapkan puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, Departemen Patologi Klinik kembali menyelenggarakan Pendidikan Berkesinambungan Patologi Klinik (PBPK) tahun 2013. Acara ini merupakan program kerja tahunan sesuai dengan keputusan rapat kerja staf Departemen Patologi Klinik pada tahun 2008.

Tujuan utama PBPK ini adalah untuk menginformasikan perkembangan ilmu di bidang Patologi Klinik dan meningkatkan ketrampilan para pekerja laboratorium untuk meningkatkan mutu pelayanan.

Kami mengucapkan terima kasih kepada staf Departemen Patologi Klinik serta panitia yang telah bekerja keras untuk dapat menyelenggarakan acara PBPK ini dengan sebaik-baiknya, juga kepada para pembicara serta semua pihak yang ikut mendukung terselenggaranya acara PBPK 2013 ini.

Selamat bersimposia.

Dr. dr. Ina Susianti Timan, SpPK(K)
Ketua Departemen Patologi Klinik

KATA SAMBUTAN
KETUA UPK-PKB/CME-PDU FKUI

Departemen Patologi Klinik FKUI / RSCM secara teratur mengadakan kegiatan ilmiah Pendidikan Berkesinambungan Patologi Klinik. Hal ini perlu mendapat apresiasi karena telah membantu pengembangan ilmu kedokteran pada umumnya dan turut menyebarluaskan ilmu patologi klinik pada khususnya dan untuk Sejawat yang memerlukan.

Unit Pendidikan Kedokteran – Pengembangan Keprofesian Berkelanjutan (CME–CPD) FKUI menyambut baik dan senantiasa mendukung kegiatan ilmiah yang diselenggarakan oleh Departemen Patologi Klinik FKUI / RSCM dengan tema ***"Emerging Laboratory Challenges: Best Practice for Ultimate Patient Wellness".***

Sangatlah tepat untuk dibahas mengingat keamanan dan ketepatan diagnosis dapat ditegakkan dengan peningkatan mutu laboratorium. Hal lain yang menjadi pertimbangan mengapa kegiatan PKB perlu dilaksanakan adalah memberi kesempatan kepada para dokter muda untuk bertatap muka dengan para senior dan pakar dibidang patologi klinik.

Akhir kata, saya mengucapkan terima kasih dan penghargaan kepada seluruh Staff Departemen Patologi Klinik FKUI/RSCM atas keberhasilannya menyelenggarakan kegiatan ilmiah PKB tahun 2013 ini, semoga jerih payah panitia penyelenggara bermanfaat bagi para peserta.

Salam,

Prof. Dr. dr. Sri Rezeki Hadinegoro, SpA(K)
Ketua Unit PK-PKB/CME-CPD FKUI

DAFTAR KONTRIBUTOR TULISAN

dr. Alida R. Harahap, SpPK(K), PhD
Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

dr. Chaidir Arif Mochtar, SpU, PhD
Departemen Bedah Urologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

dr. Dalima Ari Wahono Astrawinata, M.Epid, SpPK(K)
Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

dr. Dante Saksono H, SpPD, KEMD, PhD
Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

dr. Dewi Wulandari, SpPK, MSc
Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

Dr. dr. Diana Aulia, SpPK(K)
Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

dr. Farida Oesman, SpPK(K)
Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

Dr. dr. Ina Susianti Timan, SpPK(K)
Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

Prof. dr. Marzuki Suryaatmadja, SpPK(K)
Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

dr. Nanang Sukmana, SpPD, KAI
Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

dr. Ninik Sukartini, DMM, SpPK(K)
Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

Prof. dr. Rahajuningsih D Setiabudy, SpPK(K), DSc, FACT
Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

Prof. dr. Riadi Wirawan, SpPK(K)
Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

dr. Rudi Hidayat, SpPD-KR
Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

Prof. dr. Suzanna Immanuel, SpPK(K)
Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

dr. Tonny Loho, DMM, SpPK(K)
Departemen Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia & Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta

DAFTAR ISI

Kata Sambutan Ketua Departemen Patologi Klinik FKUI iii

Kata Sambutan Ketua UPK-PKB/CME-PDU FKUI v

Prakata vii

Daftar kontributor tulisan ix

Daftar Isi xiii

Unstable hemoglobin
Ninik Sukartini 1

Diagnosis laboratorik thalasemia alfa
Riadi Wirawan 7

Diagnosis molekuler thalasemia alfa
Alida R Harahap 16

Patogenesis dan pemeriksaan laboratorium *hyper IgE syndrome*
Farida Oesman 22

Mutasi STAT-3 pada *hyper IgE syndrome*
Alida R Harahap 33

Clinical manifestation of hyper IgE syndrome
Nanang Sukmana 37

Patogenesis dan diagnosis laboratorik pradiabetes
Suzanna Immanuel 41

Peran pemeriksaan kadar HbA1C untuk diagnosis pradiabetes
Marzuki Suryaatmadja 57

Diagnosis dan tata laksana pradiabetes
Dante Saksono H 71

Pemeriksaan laboratorium pada osteoporosis
Ina Susianti Timan 79

Vitamin D pada osteoporosis
Dewi Wulandari 94

Peran penanda biokimia tulang pada osteoporosis
Rudi Hidayat 109

Karsinoma buli-buli : Etiologi, patofisiologi dan faktor risiko
Dalima Ari Wahono Astrawinata 118

Peran penanda tumor pada karsinoma buli-buli
Diana Aulia 128

Management of bladder cancer
Chaidir Arif Mochtar 145

***Small dense low density lipoprotein* sebagai faktor risiko aterogenik**
Marzuki Suryaatmadja 159

Defisiensi vitamin D sebagai faktor risiko penyakit jantung koroner
Suzanna Immanuel 175

Mikropartikel sebagai faktor risiko trombogenik
Rahajuningsih D Setiabudy 187

Peran penanda sepsis : diagnostik dan prognostik
Dalima Ari Wahono Astrawinata 196

Identifikasi cepat bakteri penyebab infeksi
Tonny Loho 208

IDENTIFIKASI CEPAT BAKTERI PENYEBAB INFEKSI

Tonny Loho

Departemen Patologi Klinik FKUI-RSCM

ABSTRAK

Untuk dapat menangani penyakit infeksi dengan cepat dan tepat dibutuhkan identifikasi bakteri penyebab infeksi dan tes kepekaan antimikroba yang juga cepat dan tepat. Identifikasi bakteri secara konvensional dilakukan dengan cara isolasi kuman penyebab dari spesimen dan setelah diperoleh koloni murni kuman maka dilakukan langkah-langkah identifikasi. Langkah ini berupa pewarnaan Gram, morfologi koloni pada agar darah dan McConkey atau agar yang lain, reaksi biokimia dan tes aglutinasi. Tetapi langkah identifikasi ini memerlukan waktu yang cukup lama sehingga dikembangkan cara lain yang lebih cepat. Salah satu caranya adalah teknik biologi molekuler seperti *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Tetapi cara ini cukup mahal sehingga dicari cara lain yang juga cepat tapi dengan biaya yang lebih murah. *Matrix assisted laser desorption ionization - time of flight* (MALDI-TOF) adalah teknik analisis protein molekuler dengan menggunakan cara ionisasi dengan sinar laser dan telah terbukti cukup baik dalam mengidentifikasi kuman secara cepat dengan biaya yang jauh lebih murah dibandingkan PCR. Cara ini telah digunakan di banyak laboratorium dengan hasil yang baik.

PENDAHULUAN

Pada penyakit infeksi, identifikasi bakteri penyebab infeksi dan tes kepekaan antimikroba yang cepat, sangat penting karena akan mempercepat dan memudahkan klinisi memutuskan terapi antimikroba definitif. Terapi antimikroba definitif yang lebih dini akan memberi kesembuhan yang lebih cepat pada pasien, mengurangi komplikasi yang timbul dan mengurangi angka mortalitas. Dalam keadaan dimana tes kepekaan antimikroba tidak dapat dilakukan lebih cepat dari yang sudah ada saat ini yaitu 6 – 18 jam, maka identifikasi bakteri penyebab infeksi (genus dan spesies) yang lebih cepat akan sangat membantu klinisi memilih terapi antimikroba empirik yang makin tepat, yaitu dengan cara melihat bagaimana profil kepekaan bakteri tersebut pada pola kuman yang ada di rumah sakit tersebut.[1]

Identifikasi bakteri secara rutin didasarkan pada pewarnaan Gram, biakan pada plat agar, sifat-sifat pertumbuhan serta reaksi biokimia. Walaupun beberapa tes dapat dilakukan dalam beberapa menit (misalnya tes katalase, tes oksidase dan aglutinasi) tetapi identifikasi lengkap memerlukan waktu beberapa jam dan bahkan beberapa hari untuk kuman yang sulit tumbuh. Sehingga identifikasi bakteri penyebab infeksi secara cepat hanya dapat dilakukan dengan pewarnaan Gram langsung dari spesimen. Contohnya dari swab luka, urin dan biakan darah yang positif. Tetapi cara ini hanya mampu memberikan informasi mengenai morfologi bakteri, apakah bakteri berbentuk batang atau kokus, lalu sifat pewarnaan Gram nya positif atau negatif tetapi tidak sampai genus dan spesies. Bagaimanapun juga hasil pewarnaan Gram sudah bisa membantu klinisi dalam memilih antimikroba empirik yang lebih tepat dibandingkan tanpa informasi tersebut.[1]

Dengan berkembangnya ilmu pengetahuan, maka akhir-akhir ini sudah ditemukan satu alat yang mampu mengidentifikasi bakteri penyebab infeksi hingga ke genus dan spesies dalam waktu kurang

dari 10 menit dengan syarat sudah ada koloni murni. Alat ini bekerja berdasarkan prinsip MALDI-TOF MS yaitu *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization – Time Of Flight, Mass Spectrometry*. Dalam makalah ini akan dibahas mengenai prinsip kerja MALDI-TOF MS, kemampuan alat yang sudah ada, dan potensi kemampuan alat ini di masa depan.

MALDI-TOF MS.

MALDI-TOF MS merupakan teknologi baru dalam bidang mikrobiologi. Teknologi *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization* (MALDI) sebenarnya sudah diperkenalkan pertama kali 25 tahun yang lalu yaitu pada tahun 1987. Pada awalnya teknologi ini hanya berupa *laser desorption ionization* dimana spesimen diletakkan pada sebuah target dan diberi sinar laser. Proses desorpsi sinar laser dan ionisasi spesimen terjadi dan kemudian dapat diukur massa dari spesimen tersebut. Keterbatasan ukuran dan stabilitas analit menyebabkan ditambahkannya matriks untuk membantu proses ini. Pada metode yang terbaru, analit dilarutkan dalam larutan matriks (senyawa dengan berat molekul rendah yang mampu menyerap sinar ultra violet) dan larutan ini ditempatkan pada sebuah target yang dapat diarahkan ke spektrometer massa. Rasio matriks terhadap analit biasanya sekitar 1000 banding 1. Ketika pelarut yang bersifat *volatile* mengalami evaporasi (penguapan) maka senyawa matriks mengalami kristalisasi dan memasukkan kedalamnya molekul analit. Sinar laser UV akan menyebabkan terbentuknya uap yang mengandung matriks dan analit yang kemudian berubah menjadi sekumpulan ion-ion yang dapat diarahkan ke alat analisis massa (*mass spectrometry*). MALDI hampir selalu digabungkan dengan *Time of Flight* (TOF) *mass analyzer* karena MALDI menghasilkan paket-paket ion yang sifatnya berdenyut (*pulsed*) dan *discrete* (terputus/tersendiri) yang dapat dianalisis oleh *mass spectrometry*. [2]

KEMAMPUAN ALAT YANG SUDAH ADA

Seng P dkk[3] membandingkan kemampuan identifikasi MALDITOF dengan cara konvensional pada 1660 isolat bakteri yang ditemukan sehari-hari di laboratorium rumah sakit di Marseille, Perancis. Spesimen berasal dari darah, cairan otak, pus, biopsi, saluran napas, luka dan feses. Cara identifikasi rutin yang digunakan adalah pewarnaan Gram, tes katalase dan oksidase, dilanjutkan dengan identifikasi menggunakan Vitek 2 (Biomerieux) atau API ANA (Biomerieux) untuk kuman anaerob. Koloni kuman dianalisis dengan Autoflex II Bruker Daltonik *mass spectrometer*. Spektrum peptida dibandingkan dengan data yang tersimpan pada Bruker BioTyper database version 2.0. Perbedaan identifikasi diselesaikan dengan identifikasi ribosom RNA 16 S dan identifikasi molekuler sekuens rpoB sebagi baku emas.[3]

Hasilnya, dari 1660 isolat yang dianalisis (termasuk 45 genus dan 109 spesies, dengan 1 – 347 isolat per spesies), 1586 isolat (95,5 %) teridentifikasi dengan benar oleh cara identifikasi rutin dan spektrometri massa MALDI-TOF; 84,1 % teridentifikasi sampai tingkat spesies dan 11,3 % teridentifikasi sampai tingkat genus. Kuman yang teridentifikasi sampai tingkat genus adalah 2 (100%) dari 2 isolat *Actinomyces sp*,2 (6,7%) dari 30 *Bacteroides sp*, 1 (7,1%) dari 14 *Citrobacter sp*, 7(46,7%) dari 15*Corynebacterium sp*,1 (1,4 %) dari 72 *Enterobacter sp*, 13 (15,5%) dari 84*Enterococcus sp*,2 (1%) dari 206 *Escherichia coli*, 1 (20%) dari 5 *Fusobacterium sp*, 2 (28,6%) dari 7 *Haemophilus sp*, 1 (50%) dari 2 *Kingella kingae*, 2 (1,9%) dari 104 *Klebsiella sp*, 1 (50%) dari 2 *Lactobacillus sp*, 2 (66,7%) dari 3 *Micrococcus luteus*, 27 (45%) dari 60 *Propionibacterium sp*, 2 (2,4%) dari 82 *Pseudomonas aeruginosa*, 23 (6,6%) dari 347*Staphylococcus aureus*,86 (22,3%) dari 385 *Staphylococcus sp* koagulase negative, 14 (17,3%) dari 81*Streptococcus sp*. [3]

Pada kebanyakan kasus, tidak adanya identifikasi (2,8% isolat) dan kesalahan identifikasi (1,7% isolat) disebabkan ketidakbenaran

masukan *database*. Ketepatan identifikasi spektrometer massa MALDI-TOF berkorelasi bermakna dengan 10 spektra rujukan pada *database*. Waktu rata-rata yang dibutuhkan oleh spektrometri massa MALDI-TOF untuk identifikasi 1 isolat kuman adalah 6 menit dengan biaya kira-kira 22 – 32 % dari biaya identifikasi cara yang rutin. [3]

Benagli C dkk[4] membandingkan identifikasi MALDI-TOF dengan cara identifikasi rutin yang dilakukan di *Cantonal Institute of Microbiology, Bellinzona, Switzerland dan Microbiology Unit, Plant Biology Department, University of Geneva, Switzerland*. Cara identifikasi rutin dilakukan dengan alat Phoenix (Becton Dickinson) dan API. Hasil yang berbeda, diselesaikan dengan analisis sekuens 16 S ribosom sebagai baku emas.

Dari 1019 isolat yang didapat pada pemeriksaan rutin di laboratorium, 965 isolat (94,7%) teridentifikasi sama antara MALDI-TOF dengan alat Phoenix. Analisis sekuens 16 S ribosom memberi konfirmasi pada hasil identifikasi MALDI-TOF pada 63 % hasil yang berbeda. Dengan demikian MALDI-TOF mampu memberi identifikasi benar pada lebih dari 98 % isolate. Alat MALDI-TOF yang digunakan berasal dari Shimadzu. [4]

Pada penelitian ini, MALDI-TOF terbukti memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang baik pada identifikasi *Acinetobacter baumanii, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Escherichia coli, Klebsiella oxytoca, Klebsiella pneumoniae, Morganella morganii, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa, Serratia marcescens* dan *Stenotrophomonas maltophilia*.[4]

Identifikasi *Gardnerella* spesies terbukti sangat baik. Demikian juga dengan *Enterococcus faecalis* dan *Enterococcus faecium*. Untuk genus *Streptococcus* ternyata agak sulit untuk diidentifikasi dengan MALDI-TOF kecuali untuk *S. agalactiae* dan *S. Pneumoniae*. Dibutuhkan analisis strain regional dan lokal untuk mendapatkan referensi spektra yang lengkap.[4]

PERBANDINGAN 2 ALAT MALDI-TOF

Cherkaoui A. dkk[5] membandingkan 2 alat MALDI-TOF dengan metode konvensional dalam mendeteksi bakteri sampai ke tingkat spesies. Penelitian ini dilakukan di *Clinical Microbiology Laboratory and Genomic Research Laboratory, University of Geneva Hospitals, Switzerland*. Spesimen yang digunakan adalah spesimen yang sehari-hari diterima di rumah sakit Universitas Geneva yang memiliki 2200 tempat tidur. Identifikasi bakteri cara konvensional dilakukan dengan pewarnaan Gram, tes indol, media *eosin methylene blue*, tes katalase, tes aglutinasi *Staph plus*, morfologi pada plat agar dan tes biokimia menggunakan API dan Vitek 2. Alat MALDI-TOF yang dibandingkan adalah pertama dari Bruker dan kedua dari Shimadzu. Bila terdapat perbedaan identifikasi maka diselesaikan dengan analisis sekuens 16 S ribosom RNA. Spesimen berasal dari urin (197 spesimen), feses (12), saluran napas (120), luka dan apus kulit (166), apus ginekologi (8), biakan darah (120) dan apus lain-lain (97).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa MALDI-TOF Bruker memberi identifikasi dengan tingkat kepercayaan tinggi pada 680 isolat, dimana 674 diantaranya (99,1%) betul dan MALDI-TOF Shimadzu memberi identifikasi dengan tingkat kepercayaan tinggi pada 639 isolat, dimana 635 diantaranya (99,4%) betul. Bila dibandingkan dengan cara konvensional maka penggunaan MALDI-TOF mampu memberikan penghematan sebesar 5 US dollar per isolat dan menurunkan *turn around time* sampai 8 jam tanpa kehilangan ketepatan identifikasi. [5]

POTENSI KEMAMPUAN ALAT MALDI-TOF DIMASA DEPAN

Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa MALDI-TOF dapat digunakan untuk berbagai tujuan antara lain deteksi DNA dan RNA bakteri, deteksi protein rekombinan, karakterisasi protein yang belum diketahui, proteomiks, deteksi petanda virulensi bakteri, dan karakterisasi bakteri sampai tingkat strain. Petanda virulensi kuman yang sudah dapat dideteksi adalah *Staphylococcus* yang resisten *methicillin*.[6]

RINGKASAN

MALDI-TOF adalah suatu metode dan cara baru untuk identifikasi cepat bakteri hingga ke tingkat genus dan spesies dalam waktu yang relatif singkat, hanya kurang dari 10 menit. Biaya yang dibutuhkan juga jauh lebih murah dari pada metode konvensional yang digunakan sehari-hari. Pada awalnya memang dibutuhkan investasi alat MALDI-TOF. Selain itu alat ini juga mampu mendeteksi petanda virulensi bakteri seperti resisten *methicillin* dan bisa digunakan untuk mendeteksi bakteri hingga ke tingkat strain.

DAFTAR PUSTAKA

1. Carroll KC, Weinstein MP. Manual and automated systems for detection and identification of microorganisms. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA eds. Manual of Clinical Microbiology. 9th edition. Washington. ASM Press; 2007.p.192-217.
2. Annesley T, Rockwood AL, Sherman NE. Mass spectrometry. In : Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 4th edition. St. Louis. Elsevier Saunders; 2006.p.165-90.
3. Seng P, Drancourt M, Gouriet F, La Scola B, Fournier PE, Rolain JM, Raoult D. Ongoing revolution in Bacteriology: Routine identification of Bacteria by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. Clin Infect Dis 2009;49:543-51.
4. Benagli C, Rossi V, Dolina M, Tonolla M, Petrini O.2011. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for the Identification of Clinically Relevant Bacteria. PloS One 6: e 16424.
5. Cherkaoui A, Hibbs J, Emonet S, Tangomo M, Girard M, Francois P, Schrenzel J. Comparison of two Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry methods with conventional phenotypic identification for routine identification of bacteria to the species level. J Clin Microbiol 2010; 1169-75.
6. Lay JO. MALDI-TOF mass spectrometry of bacteria. Mass Spectromet Rev 2001; 20: 172-94.