



ARAŞTIRMA / RESEARCH

Genç erişkin bireylerde tükürük ürik asit düzeylerinin biyosensör yöntemi ile değerlendirilmesi

Evaluation of saliva uric acid levels in young adult individuals by biosensor method

Umur Kökbaş¹, Rabia Şemsi², Burak Arslan², Aylin Sepici Dinçel², Erdal Ergünol³, Levent Kayrin¹

¹Girne Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Girne, K.K.T.C.

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, Turkey

³Kıbrıs Sağlık ve Toplum Bilimleri Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, K.K.T.C.

Cukurova Medical Journal 2020;45 (3):1137-1143

Abstract

Purpose: The aim of this study was to use a new amperometric biosensor for the determination of uric acid in saliva samples. Besides the good working conditions of the electrode was determined and identified the factors affecting the study.

Materials and Methods: By the prepared biosensor the used BSA/gelatin has crosslinked the uricase enzyme on the graphite electrode to glutaraldehyde. During characterization studies, linearity, repeatability of the measurements and shelf life were carried out. For the validation and verification studies, formed the control group of the young adult individuals (n=26). Uric acid values from saliva samples were measured by autoanalyzer working with chemiluminescence principle and compared biosensor results.

Results: Limit of detection 6.0×10^{-4} mM, and linear results are obtained between the ranges of 6.0×10^{-4} – 5.0×10^{-3} mM for uric acid concentration. As for shelf life studies, at the end of 40th day of responses has been preserved by 82.5%, repeatability of the measurement (n=15) standard deviation (S.S) = ± 0.1 and % coefficient of variation (V.K)=0.2, respectively. When the autoanalyser results were compared statistically to biosensor results, 97% accuracy rate was obtained from the drawn ROC curve.

Conclusions: By using the method we developed in our study, a portable and non-invasive uric acid analyzer can be produced with advanced studies.

Keywords: Biosensor, uric acid, saliva

Öz

Amaç: Bu çalışmada tükürük numunelerinde ürik asit miktar tayini için yeni bir amperometrik biyosensör kullanılması amaçlanarak, hazırlanan sistemde elektrodun iyi çalışma koşullarının belirlenmesi ve çalışmayı etkileyen faktörlerin tanımlanması hedeflenmiştir.

Gereç ve Yöntem: Hazırlanan biyosensörde, BSA/jelatin kullanarak grafit elektrot üzerindeki ürikaz enzimi glutaraldehit ile çapraz bağlanmaktadır. Optimizasyon çalışmaları sırasında jelatin, sıvı serum albümini ve glutaraldehit miktarları belirlendi. Karakterizasyon çalışmaları sırasında tekrarlanabilirlik, doğrusal ölçüm aralığı ve raf ömrü çalışmaları yapılmıştır. Validasyon ve verifikasyon çalışmaları için genç erişkin bireyler kontrol grubunu oluşturdu (n=26). Tükürük örneklerinden ürik asit değerleri kemilüminesans prensibi ile çalışan otoanalizör ile ölçüldü ve biyosensör sonuçları ile karşılaştırıldı.

Bulgular: Tayin sınırının $6,0 \times 10^{-4}$ mM olduğu ve ürik asit konsantrasyonu için $6,0 \times 10^{-4}$ - $5,0 \times 10^{-3}$ mM aralığında doğrusal sonuçlar elde edildiği belirlenmiştir. Raf ömrü çalışmalarına baktığımızda sonuçlar 40. günün sonunda %82,5 oranında korunmuştur, ölçüm tekrarlanabilirliği (n=15) standart sapması (S.S)= $\pm 0,1$ ve % varyasyon (değişim) katsayısı (V.K)=0,2'dir. Otoanalizör sonuçları biyosensör sonuçları ile istatistiksel olarak karşılaştırıldığında çizilen ROC eğrisinde %97 doğruluk oranı elde edilmiştir.

Sonuç: Çalışmamızda geliştirdiğimiz yöntem kullanılarak ileri çalışmalarla taşınabilir ve girişimsel olmayan bir ürik asit tayin cihazı üretilebilir.

Anahtar kelimeler: Biyosensör, ürik asit, tükürük

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Umur Kökbaş, Girne Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Girne, K.K.T.C. E-mail: umutkokbas@gmail.com

Geliş tarihi/Received: 05.05.2020 Kabul tarihi/Accepted: 23.06.2020 Çevrimiçi yayın/Published online: 31.08.2020

GİRİŞ

Günümüzde endüstri, tıp, biyomedikal ve ilaç alımlarındaki gelişmelerden dolayı gün geçtikçe yeni teknikler ve yüksek hassasiyet gerektiren yöntemlere ihtiyaç artmaktadır. Bu yeni tekniklerden biri de seçiciliği yüksek olan sensörlerin kullanılmasıdır¹. Sensörler, kimya, mühendislik gibi birden fazla bilim dalının birleşmesi sonucu ortaya çıkan bilgi birikiminden yararlanıp moleküllerin ya da sistemlerin seçicilik özellikleri ile elektronik tekniklerin bir araya gelmesiyle ortaya çıkan analitik cihazlar olarak tanımlanabilir^{2,3}. Biyosensörler, analiz edilen maddenin biyosensör yüzeyindeki aktif bileşen ile etkileşime girmesi ve bu etkileşim sonucu ile dönüştürücü yüzeyinde analit miktarı ile orantılı bir şekilde ortaya çıkan sinyali ölçüm cihazına iletmesi prensibine dayanır^{4,5,6,7}.

Ürik asit (UA, ürat, 2,6,8-trihidroksipürin), insan vücudunda pürin katabolizmasının sonucudur. Biyolojik sıvılardaki ürik asit miktarı hastalık tanı, takip ve tedavisinde önemlidir. Ürik asit düzeyinde gözlenen anormal değişiklikler gut, Lesch-Nyhan sendromu, yüksek kolesterol ve böbrek hastalıkları gibi birçok hastalığın sonucudur. Bunlardan dolayı, ürik asit düzeyinin tayini pürin metabolizmasındaki bozukluklardan kaynaklanan hastalıkların teşhis edilmesi için büyük bir tıbbi öneme sahiptir ve vazgeçilmezdir⁸.

Günümüzde ürik asit miktarını belirlemek için geleneksel yöntemler olan kolorimetrik, kromatografik ve spektrofotometrik yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler, ürik asidin allantoina enzimatik dönüşümü ya da kolorimetrik ölçüm veya UV spektrofotometri ile doğrudan izleme ile birleştirilmiş bir ürikaz enzimi kullanılarak CO₂ ve H₂O₂ üretilmesine dayanır. Diğer bir alternatif yöntem ise, fosfotungstik asidin ürik asit ile tungsten mavisine indirgenmesine dayanmaktadır. Fakat, bu yöntemlerin bir çoğu fazla zaman alıcı olduğu için kullanışsızdır ve ürik asit miktarında direkt oksidasyona yol açmaktadır. Ayrıca, oldukça masraflı ve deneyimli personele ihtiyaç duyan yöntemlerdir. Bu yöntemler dışında, ürik asit düzeyinin tayini için biyosensör-bazlı yöntemler de tercih edilmektedir. Çünkü bu yöntemler, ön ayırma işlemi olmadan, doğrudan gerçek zamanlı ve online veri analizi sağlamaktadır. Ayrıca, biyosensörlerin diğer yöntemlere göre en önemli avantajı ekonomik, pratik ve belirlenecek maddelere özgü olmasıdır. Ürik asit

biyosensörlerinin bir çoğu amperometrik, potansiyometrik, kemilüminesans ve enzimatik veya enzimatik olmayan elektrokimyasal yöntemlerdir. Literatürde ürik asit tayinine yönelik geliştirilmiş çeşitli potansiyometrik ve amperometrik enzim sensörlerine rastlanmaktadır^{9,10,11,12}. Ürik asit analizlerinde analitik reaktif olarak kullanılan ürikaz enzimi özellikle biyosensör uygulamalarında sıkça kullanılmaktadır. Ürikaz enzimi bir elektrot üzerine immobilize edildiğinde amperometrik olarak ürik asit bulundurmaktadır.

Bu çalışmada, tükürük örneklerinde ürik asit tayini için yeni bir amperometrik biyosensör geliştirilerek sistemde elektrodun iyi çalışma koşullarının belirlenmesi ve etkileyen faktörlerin tanımlanması hedeflenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma grubu genç erişkin bireyler Kıbrıs Sağlık ve Toplum Bilimleri Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi öğrencilerinden oluşturuldu (n=26). Helsinki ölçütlerine göre düzenlenen çalışmamıza katılan öğrencilere aydınlatılmış onam formu imzalatılmıştır. Öğrencilerin özgeçmiş ve soygeçmişleri çalışma olgu formuna kaydedilmiştir. Çalışma örneklerinin alındığı dönemde akut veya kronik rahatsızlığı bulunmayan katılımcılar çalışmaya dahil edilirken, akut veya kronik rahatsızlığı bulunanlar çalışmaya dahil edilmemiştir. Çalışma için Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 12.11.2018 tarih 831 sayılı karar numarası ile onaylandı. Katılımcılardan çalışma öncesi aydınlatılmış onam alınmıştır. Tükürük örneklerinden ürik asit değerleri kemilüminesans prensibi ile çalışan otoanalizör (UniCel DxI 800 ACCESS Immunoassay System) ile ölçüldü ve biyosensör sonuçları ile karşılaştırıldı.

Kullanılan malzemeler

Bu çalışmada, grafit elektrot kullanılmaktadır. Çalışmada, Ürikaz (Ürat Oksidaz E.C.1.7.3.3), Monosodyumhidrojenfosfat NaH₂PO₄, Disodyumhidrojenfosfat Na₂HPO₄, Sodyum asetat trihidrat, Asetik asit, Glisin, Distile/Bidistile su, Glutaraldehit, NaOH, HCl, Alümina, Alümina solüsyonları, %96 Etanol, Sığır Serum Albümini, Jelatin, Ürik Asit kullanılmıştır tüm kimyasal malzemeler Merck (Almanya) firmasından sağlanmıştır.

pH ölçümleri Mettler Toledo pH metre, tükürük ürik asit düzeyleri UniCel DxI 800 ACCESS Immunoassay System marka otoanalizör ile gerçekleştirilmiştir.

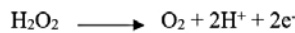
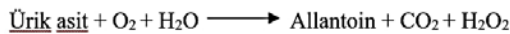
Biyosensörün hazırlanması

Temiz bir çalışma elektrodu elde etmek için ilk basamakta kadife yüzeye gama alumina çözeltisi damlatıldı ardından grafit elektrot kadife yüzey üzerinde hafif bir şekilde gezdirilerek yüzeyindeki tabaka ya da kirlilik giderilmiş oldu. Distile su ile durulandıktan sonra absorlanmış partükülleri uzaklaştırmak için %96'lık etanolde ve sonikatör içerisinde 5-10 dakika bekletildi ve ardından durulandı. Elektrodun yüzeyinin elektrokimyasal olarak temizlenmesi için 0.1 N HCl çözeltisinde +1,0 ve -1,0 potansiyelleri arasında en az on beş kez döngüsel voltammogram alındı.

Biyosensörün biyoaktif tabakası aşağıdaki deney prosedürü kullanılarak hazırlandı: 45 mg jelatin ve 30 mg BSA, 300 µL asetat tamponu pH 6,5 içerisinde çözülüp 35° C'de 20 dakika bekletildi. Daha sonra karışımın 10 µL'si, daha önce hazırlanan 30 µL enzim çözeltisi ile karıştırılarak elde edilen toplam hacim 40 µL olarak grafit çalışma elektrodu üzerine yayıldı. Elektrot +4° C'de 1 saat bekletildikten sonra fiziksel olarak bağlanması amacı ile 1 saat UV ışık altında bekletildi. Daha sonra %2,5'lik glutaraldehit çözeltisinde 5 dakika çapraz bağlanmanın gerçekleştirilmesi sağlandı. Son olarak elektrot, içerisinde pH 6,5'de asetat tamponu bulunan tepkime hücrelerine alındı. Bütün deneyler aynı elektrot tipi kullanılarak üçer tekrarlı olarak yapıldı.

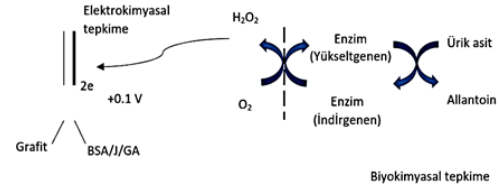
Biyosensörün ölçüm prosedürü

Bilindiği gibi ürik asit tayin için kullanılan enzimatik tepkimelerde genellikle ürün olarak H₂O₂ açığa çıkmaktadır. Enzim temelli biyosensörler için hazırlanan elektrotların çoğu, uygulanan sabit potansiyelde çalışma elektrodunun yüzeyinde tepkime sonucunda oluşan H₂O₂'nin yükselgenmesine dayanmaktadır. Tepkime aşağıda Çizim-1 olarak gösterilmiştir^{13,14,15}.



Çizim 1. Biyoaktif tabakada gerçekleşen tepkime

Sabit bir potansiyelde grafit elektrot yüzeyinde hidrojen peroksit yükselgenmektedir. Devreden geçenanodik akım ile oluşan hidrojen peroksit derişimi, ürik asit derişimi ile orantılıdır. Ürik asidin ölçülmesinde çözeltide ve elektrot yüzeyinde gerçekleşen tepkimeler Şekil-1 de gösterilmektedir.



Şekil 1. Biyosensörün çalışma prensibi.

Biyosensörün çalışma koşullarının optimizasyonu

Çalışılacak koşullar optimize edildikten sonra biyosensörün en iyi cevap verdiği koşulların bulunması için (çalışma aralığı, tampon pH'ı, derişimi ve sıcaklığı) çalışmalar yapıldı. Optimum koşullar belirlenmesinde, her deneyde diğer değişkenler sabit tutulurken sadece optimum koşulları araştırılan değişkenin farklı miktarları kullanılmıştır. Tüm değişkenlerin ayrı ayrı optimizasyonu sağlandıktan sonra toplu olarak çalışmaları değerlendirildi.

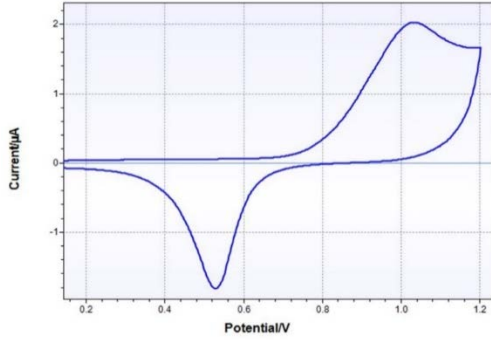
İmmobilizasyon değişkenlerinin optimizasyonu

İmmobilizasyon değişkenlerinin optimum miktarının belirlenmesi için (BSA, glutaraldehit ve jelatin miktarının biyosensör cevabı üzerine etkisi) çalışmalar yapıldı. Optimizasyon çalışmaları sırasında jelatin, sığır serum albümini ve glutaraldehit miktarları belirlendi. İmmobilizasyon değişkenlerinin optimizasyonunda da çalışma koşullarının optimizasyonu çalışmalarında olduğu gibi önce tüm parametrelerin tek tek optimum değerleri bulundu. Her parametrenin optimum derişimi bulunduğundan sonra çalışmalar belirlenen optimum derişimlerde yapılmıştır.

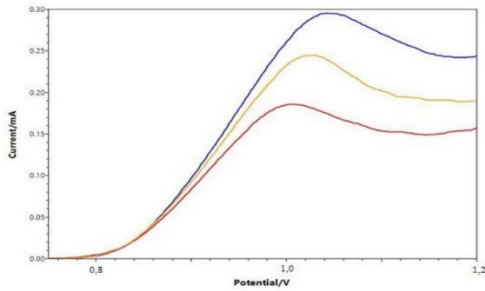
Biyosensörün karakterizasyon çalışmaları

Optimum koşullarda hazırlanan biyosensörün karakterizasyon (doğrusal ölçüm aralığının belirlenmesi, analiz sonuçlarının tekrarlanabilirliği ve raf ömrünün belirlenmesi) çalışmaları yapıldı. Tekrarlanabilirlik çalışmasında biyosensörün ölçüm

aralığına giren ve derişimi bilinen standart ürik asit çözeltisinin arka arkaya 50 defa ölçümü gerçekleştirildi. Tekrarlanabilirlik çalışmaları tamamlandıktan sonra raf ömrü çalışmalarında tekrarlanabilirlik çalışmalarında kullanılan standart ürik asit çözeltisiyle elektrot performansı %80'e düşene kadar her gün standart eğri çizildi.



Şekil 2. Ürik asit tayinine yönelik hazırlanan biyosensörün Döngüsel Voltammogramı



Şekil 3. Ürik asit tayinine yönelik hazırlanan biyosensöre farklı derişimlerde ürik asit eklenmesi ile elde edilen Diferansiyel puls grafiği

Girişim çalışmaları

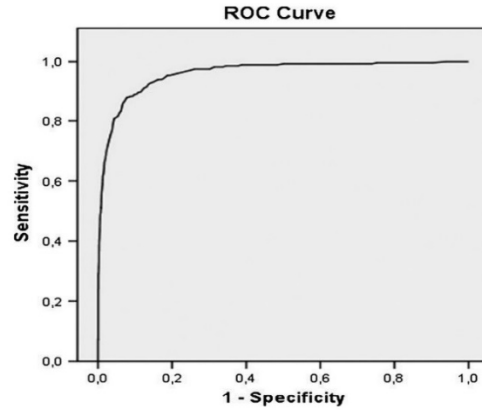
Girişim denemelerinde ürik asit ile girişim yapabilecek üre, glukoz, laktik asit, askorbik asit, glisin, DL- α -alanin, DL-sistein, NaCl, KCl, MgSO₄, CaCl₂ ve NH₄Cl kullanıldı. Ölçüm yapılan çalışma hücrelerine literatürdeki yöntemlerde girişim yapabildiği bildirilen bu maddeler eklenerek derişimi bilinen ürik asit standardı ayrı ayrı ve karışım olarak eklendi. Girişim denemelerinde ürik asitle yaygın olarak girişim yaptığı bilinen maddelerden hiçbirinin biyoelektrokimyasal ölçümde girişim göstermedi.

İstatistiksel analiz

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 19.0 yazılım paketi kullanılarak yapıldı. İstatistiksel analiz çalışmaları kapsamında ROC (Receiver Operator Characteristics Curve) analizi yapıldı.

BULGULAR

Biyosensörün çalışma koşullarının optimizasyonu BSA-Jelatin kullanılarak hazırlanan biyosensörde kutupların bir ucu elektroda diğer ucu ise ölçüm hücrelerine daldırılıp sabitlenerek Şekil-2 de görülen döngüsel voltammogram alındı ve ortaya çıkan sonuçlar neticesinde çalışmalara 0,1 V'da devam edildi. İmmobilizasyon değişkenlerinin optimizasyonu Hazırlanan biyosensöre farklı derişimlerde ürik asit eklenmesi ile elde edilen Diferansiyel puls grafiği Şekil-3 de gösterilmektedir.



Şekil 4. Ürik asit tayinine yönelik hazırlanan biyosensörde ölçüm yapılan örneklerin sonuçlarının otoanalizör sonuçları ile karşılaştırıldığı ROC eğrisi.

Biyosensörün karakterizasyon çalışmaları

Tayin sınırının $6,0 \times 10^{-4}$ mM olduğu ve ürik asit konsantrasyonu için $6,0 \times 10^{-4}$ - $5,0 \times 10^{-3}$ mM aralığında doğrusal sonuçlar elde edildiği belirlenmiştir. Raf ömrü çalışmalarına baktığımızda sonuçların 40.günün sonunda %82,5 oranında korunmuştur, ölçüm tekrarlanabilirliği (n=15) standart sapması (S.S)= $\pm 0,1$ ve % varyasyon (değişim) katsayısı (V.K)=0,2'dir.

Tükürük örneklerinde ürik asit tayini

Biyosensör, genç erişkin bireylerin tükürük örneklerindeki ürik asit miktarını belirlemek için tasarlandı. Tüm örneklerde ürik asit miktarı eş zamanlı olarak kemilüminesans prensibi ile çalışan rutin biyokimya otoanalizörü (UniCel DxI 800 ACCESS Immunoassay System) ile tayin edildikten sonra, sonuçlar biyosensör ölçüm değerleri ile karşılaştırıldı.

Otoanalizör ve biyosensör de alınan tükürük ürik asit düzeyleri karşılaştırılması Şekil-4 de gösterilmektedir. Otoanalizör sonuçları biyosensör sonuçları ile istatistiksel olarak karşılaştırıldığında çizilen ROC eğrisinde %97 doğruluk oranı elde edilmiştir. ROC eğrisi SPSS 19 programında grafiğin altında kalan alan hesabına göre yapılmıştır¹⁶.

TARTIŞMA

Bu çalışmada, ürik asit derişiminin daha kısa sürede daha düşük maliyet ile ölçülmesini sağlayan Grafit/BSA-J/Ürikaz biyosensörü geliştirildi. Hazırlanan bu biyosensörün çalışma koşulları, optimizasyon ve karakterizasyon çalışmaları yapıldı. Tarama hızı ve çalışma aralığı belirlenmesinin ardından optimum pH, sıcaklık ve tampon derişimleri bulundu. Çalışmada optimum sıcaklığı belirlemek için alınan sıcaklık değerleri 10 °C, 15°C, 20 °C, 25 °C, 30°C, 35°C, 40°C, 45 °C, 50 °C ve 55 °C'dir. Maksimum aktivite için optimum sıcaklık 35°C olarak bulundu. Literatürdeki çalışmalara bakıldığı zaman ürikaz enziminin çalışma sıcaklığı 30-40°C aralığında olduğu görülmektedir^{17,18,19}.

Çalışılan ortam koşulları enzimlerin aktiviteleri için önemlidir ve bu aktiviteyi etkileyen en önemli etken de ortamın pH'dır. Gerçekleştirilen immobilizasyondan sonra ortamın pH'ını belirlemek biyosensörün çalışma koşullarının belirlenmesi açısından önemlidir. Biyoaktif tabaka yüzeyinde kullandığımız enzimlerin beraber çalışabildiği optimum pH değerinin tayin edilmesi biyosensörün tayin hassasiyetini arttıran anahtar faktörlerden birisidir. Ortamın pH'ını belirlemek için pH 3 ila 10 arasında farklı değerlerde ölçümler alındı ve optimum çalışma pH'ı 6,5 olarak bulundu. Literatür taramasında ürikaz enziminin pH aralığının 5 ile 9 arasında olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda pH 6,5 bulunmuştur ve yapılan araştırmalar sonucunda bulunan değerlerin arasında olması ürikaz enziminin optimum pH değerinde çalıştığını göstermektedir^{19,20,21}.

Hazırlanan biyosensör biyoaktif tabakasında kullanılan BSA ile ürikaz enzimi ile yapılacak bağ sayısı azaltılarak enzim aktivitesinin azalmasının engellenmesi ayrıca çapraz bağlayıcı olarak kullanılan glutaraldehit ile oluşacak çapraz bağ sayısı artırılmaktadır.

Literatürdeki birçok çalışmaya kıyasla ölçüm hassasiyetini arttırmak ve girişim etkisini ortadan kaldırmak için biyoaktif tabaka dizaynında bienzimatik olarak tasarlandı²².

Bu çalışmada, ürik asit miktarının tayini amaçlı biyosensör geliştirilmesi için grafit elektrot hazırlandı. Bu hazırlanan elektrot ürik asidin özgül bağlanması için BSA/jelatin kullanarak grafit elektrot üzerindeki ürikaz enzimi glutaraldehit ile çapraz bağlanarak immobilize edildi. Hazırlanan enzim elektrodunun optimum şartları belirlendi. Biyosensörün tükürük örneklerindeki performansı değerlendirildi ve ürik asit miktar tayini yapıldı.

Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığı zaman görüleceği gibi ürik asit enzim temelli biyosensör hem sulu çözeltilerde hem de idrar örneklerinde ürik asidi tespit etmek için başarıyla kullanıldı²¹. Tükürük örneklerinde ürik aside özgül olabilmesi için seçici enzimler kullanıldı. Girişim yapabilecek benzer gruplara sahip maddelerle gerçekleştirilen girişim denemelerinde biyosensörün ürik asit dışında bir madde ile etkileşim göstermediği belirlenmiştir. Hazırlanan sensör ürik asit için yüksek seçiciliğe sahiptir ve aynı zamanda tekrarlanabilir özellik taşımaktadır.

Günümüzde ürik asit konsantrasyonlarını belirlemek için farklı kolorimetrik, kromatografik ve spektrofotometrik yöntemler kullanılmaktadır. Bununla birlikte, biyosensör temelli yöntemler, genellikle zaman almayan ve ucuz sistemler oldukları için tercih edilir. Biyosensörlerin diğer yöntemlere göre en önemli avantajı, belirlenecek maddeler için ekonomik, pratik ve özgül olmalarıdır²³.

Çalışmamızda kısıtlayıcı faktör, $6,0 \times 10^{-4}$ mM olarak belirlenen tayin sınırından daha yüksek derişimlerde ürik asit içeren çözeltilerde seyreltme yapılması gerekmesidir. Tayin sınırının üzerindeki değerlerde sapma olmaktadır. Çalışmamızın başka bir kısıtlayıcı faktörü ise geliştirilen yöntem prototip bir cihaz alt yapı çalışması niteliğindedir. Bu sebepten ölçüm sistemi elektrobiyokimya bilgisine gereksinim duymaktadır. İleri multi disiplinler çalışmaları yardımıyla son kullanıcıya yönelik olabilecektir.

Bu çalışmada hazırlanan ürik asit enzim elektrodunun avantajları göz önünde bulundurularak hastanelerde ve özel laboratuvarlarda serum, idrar, tükürük ve diğer biyolojik sıvılarda ürik asit tayini için rutin olarak tercih edilebileceği düşünülmektedir. 21. yüzyılın laboratuvar teknolojisi olan biyosensörler klasik yöntemlere kıyasla sahip oldukları avantajlar sebebiyle yoğun ilgi görmektedir^{23,24}. Çalışmamızda geliştirdiğimiz yöntem kullanılarak ileri çalışmalarla taşınabilir ve girişimsel olmayan bir ürik asit tayin cihazı üretilebilir.

Yazar Katkıları: Çalışma konsepti/Tasarımı: UK, ASD; Veri toplama: UK, RŞ, BA; Veri analizi ve yorumlama: UK, RŞ, BA; Yazı taslağı: UK, RŞ; İçerinin eleştirel incelenmesi: ASD, LK, EE; Son onay ve sorumluluk: UK, RŞ, BA, ASD, EE, LK; Teknik ve malzeme desteği: RŞ, BA, UK; Süpervizyon: LK, EE; Fon sağlama (mevcut ise): yok.

Etik Onay: Bu çalışma için Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar 12.11.2018 tarih ve 831 sayılı kararı ile etik onay alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Author Contributions: Concept/Design : UK, ASD; Data acquisition: UK, RŞ, BA; Data analysis and interpretation: UK, RŞ, BA; Drafting manuscript: UK, RŞ; Critical revision of manuscript: ASD, LK, EE; Final approval and accountability: UK, RŞ, BA, ASD, EE, LK; Technical or material support: RŞ, BA, UK; Supervision: LK, EE; Securing funding (if available): n/a.

Ethical Approval: For this study, ethics approval was obtained by the decision of Gazi University Clinical Research Ethics Committee on non-interventional clinical research dated 12.11.2018 and numbered 831.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Disclosure: Authors declared no financial support

KAYNAKLAR

- Pearson J. E, Gill A, Vadgama P. Analytical aspects of biosensors. *Ann Clin Biochem.* 2000;37:119-45.
- Yagiuda K, Hemmi A, Ito S. Development of a conductivitybased immunosensor for sensitive detection of methamphetamine (stimulant drug) in human urine. *Biosens Bioelectron.* 1996;11:703-7.
- Scheller F. W, Wollenberger U, Warsinke A, Lisdat F. Research and development in biosensors. *Curr Opin Biotechnol.* 2001;12:35-40.
- Jacobs C. B, Peairs M. J, Venton B. J. Review: Carbon nanotube based electrochemical sensors for biomolecules. *Anal Chim Acta.* 2010;662:105-27.
- Wang J, Nielsen P, Jiang M, Cai X, Fernandez JR, Grant D et al. Mismatch sensitive hybridization detection by PNA immobilized on QCM. *Anal Chem.* 1997;69:5200-2.
- Sharma S. K, Sehgal N, Kumar A. Biomolecules for development of biosensors and their applications. *Curr Appl Phys.* 2003;3:307-16.
- Diçkaya E. Enzim sensörleri. In *Biyosensörler, Biyokimya Yaz Okulu Kitabı (Ed. A Telefoncu):81-142.* İzmir, Ege Üniversitesi Basımevi, 1999.
- Jindal K, Tomar M, Gupta V. CuO thin film based uric acid biosensor with enhanced response characteristics. *Biosens Bioelectron.* 2012;38:11-8.
- Arora K, Sumana G, Saxena V, Gupta RK, Gupta S. K, Yakhmi JV et al. Improved performance of polyanilineuricase biosensor. *Anal Chim Acta.* 2007;594:17-23.
- Ertan F, Aksöz E. Aspergillus nigerden ürikaz enziminin üretilmesi ve aktiviteye etkili bazı faktörlerin belirlenmesi. *Turk J Biol.* 2000;24:11-23.
- Bhargava AK, Lal H, Pundir CS. Discrete analysis of serum uric acid with immobilized uricase and peroxidase. *J Biochem Biophys Methods.* 1999;39:125-36.
- Arya SK, Datta M, Malhotra BD. Recent advances in cholesterol biosensor. *Biosens Bioelectron.* 2008;28:1083-100.
- Moraes ML, Filho UPR, Oliveira ON, Ferreira M. Immobilization of uricase in layer-by-layer films used in amperometric biosensors for uric acid. *J Solid State Electrochem.* 2007;11:1489-95.
- Kan J, Pan X, Chen C. Polyaniline-uricase biosensor prepared with template process. *Biosens Bioelectron.* 2004;19:1635-40.
- Matos RC, Augelli AM, Lago CL, Angnes L. Flow injection analysis-amperometric determination of ascorbic and uric acids urine using arrays of gold microelectrodes modified by electrodeposition of palladium. *Anal Chim Acta.* 2000;404:151-7.
- Tilaki K. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis for medical diagnostic test evaluation. *Caspian J Intern Med.* 2013;4:627-35.
- Zhang F, Wrang X, Ai S, Sun Z, Wan Q, Zhu Z et al. Immobilization of uricase on ZnO nanorods for a reagentless uric acid biosensor. *Anal Chim Acta.* 2004;519:155-60.
- Jiang Y, Wang A, Kan J. Selective uricase biosensor based on polyaniline synthesized in ionic liquid. *Sens Actuators B Chem.* 2007;124:529-34.
- Castillo-Ortega MM, Rodriguez DE, Encinas JC, Plascencia M, Mendez-Velarde FA, Olayo R. Conductometric uric acid and urea biosensor prepared from electroconductive polyaniline-poly(n-butyl metacrylate) composites. *Sens Actuators B Chem.* 2002;85:19-25.
- Ndamanisha JC, Guo L. Electrochemical determination of uric acid at ordered mesoporous carbon functionalized with ferrocenecarboxylic acidmodified electrode. *Biosens Bioelectron.* 2008;23:1680-5.
- Kuwabata S, Nakaminami T, Ito S, Yoneyama H. Preparation and properties of amperometric uric acid sensors. *Sens Actuators B Chem.* 1998;52:72-7.
- Jayoung K. Wearable salivary uric acid mouthguard biosensor with integrated wireless electronics. *Biosens Bioelectron.* 2015;74:1061-8.

23. Kökbaşı U, Kayın L, Tuli A. Biyosensörler ve tıpta kullanım alanları. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi. 2013;22:499-513.
24. Luo YC, Do JS, Liu CC. An amperometric uric acid biosensor based on modified Ir-C electrode. Biosens Bioelectron. 2006;22:482-8.