

唾液皮质醇检测技术的研究进展与挑战

孙欣阳, 闻天戡, 朱安娜, 成逸然, 徐瑗聪*

北京工业大学化学与生命科学学院, 北京

收稿日期: 2025年11月29日; 录用日期: 2025年12月24日; 发布日期: 2025年12月31日

摘要

唾液皮质醇作为下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA轴)终端分泌的关键激素, 是评估机体应激状态与内分泌功能的重要生物标志物。近年来, 唾液皮质醇检测技术因其无创、便捷、能直接反映生物活性游离激素水平等优势, 逐渐成为临床与科研中评估HPA轴功能的“黄金标准”。本文系统综述了唾液皮质醇的生理基础、采集与预处理方法、检测技术的研究进展及其面临的挑战。在检测技术方面, 免疫学方法(如ELISA、LFIA、CLIA)和液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)已广泛应用于实践, 而微流控芯片、电化学生物传感器等新兴技术也展现出高灵敏度与即时检测潜力。然而, 唾液皮质醇检测仍受多种因素影响, 包括昼夜节律、年龄、性别、应激状态及外源性干扰等。未来研究需致力于提高检测技术的灵敏度与特异性, 推动便携式即时检测设备的发展, 并建立标准化的操作流程与临床参考范围, 以促进其在健康监测与疾病诊断中的广泛应用。

关键词

唾液皮质醇, 生物传感器, 即时检测, 标准化

Salivary Cortisol Detection Technology: Current Investigations and Challenges

Xinyang Sun, Tianjian Wen, Anna Zhu, Yiran Cheng, Yuancong Xu*

College of Chemistry and Life Science, Beijing University of Technology, Beijing

Received: November 29, 2025; accepted: December 24, 2025; published: December 31, 2025

Abstract

As a key end-product of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis, salivary cortisol serves as a crucial biomarker for assessing stress status and endocrine function. In recent years, salivary

*通讯作者。

文章引用: 孙欣阳, 闻天戡, 朱安娜, 成逸然, 徐瑗聪. 唾液皮质醇检测技术的研究进展与挑战[J]. 自然科学, 2026, 14(1): 32-46. DOI: 10.12677/ojns.2026.141004

cortisol detection technology has emerged as the “gold standard” for evaluating HPA axis function in clinical and research settings due to its non-invasive nature, convenience and ability to directly reflect free hormone levels. This article provides a systematic review of the physiological basis of salivary cortisol, its collection and pre-analytical processing methods, research and development in detection technologies, and the associated challenges. In terms of detection techniques, immunological methods such as ELISA, LFIA and CLIA, as well as liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), have been widely adopted in practice. Meanwhile, emerging technologies such as microfluidic chips and electrochemical biosensors demonstrate high sensitivity and potential for point-of-care testing. However, salivary cortisol measurement is still influenced by various factors, including circadian rhythms, age, gender, stress status and exogenous interferences. Future research should focus on enhancing the sensitivity and specificity of detection technologies, advancing the development of portable, point-of-care testing devices and establishing standardized operational procedures and clinical reference ranges to facilitate their widespread application in health monitoring and disease diagnosis.

Keywords

Salivary Cortisol, Biosensor, Point-of-Care Testing, Standardization

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

下丘脑 - 垂体 - 肾上腺轴(Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis, HPA 轴)是人体神经内分泌系统的核心,主导机体应对压力的应激反应。皮质醇(Cortisol)作为 HPA 轴终端分泌的关键糖皮质激素,其分泌遵循显著的昼夜节律,并受到多种因素的精密调控[1]。当人体受到社会心理性压力或生理性压力刺激时,皮质醇也会产生反应性变化。皮质醇也常作为 HPA 失调的生物标志物,提示可能存在睡眠不规律、过度疲劳和抑郁等状态,甚至也可以和心血管疾病相关死亡率及全因死亡率相联系[2]。因此,准确评估皮质醇水平对于揭示机体应激状态、诊断内分泌疾病及评估身心健康具有至关重要的意义,而唾液皮质醇(Salivary Cortisol)水平分析也成为评估 HPA 轴功能的首选方法和“黄金标准”[3]。

1.1. 唾液皮质醇的生理作用与临床意义

在血液循环中,大部分皮质醇与皮质醇结合球蛋白(Corticosteroid-Binding Globulin, CBG)结合,仅有少量以具有生物活性的游离形式存在。唾液腺腺泡细胞对血液中的游离皮质醇具有高渗透性,其通过被动扩散机制进入唾液。因此,唾液皮质醇浓度与血清中的游离皮质醇浓度高度相关,能够精准地反映靶组织实际可接触到的激素生物活性水平,这是其作为理想检测指标的核心生理学基础[4]。基于这一特性,唾液皮质醇检测在临床与科研中展现出广泛的应用价值。

首先,唾液皮质醇检测能应用于 HPA 轴功能评估与内分泌疾病诊断。唾液皮质醇检测是库欣综合征和艾迪生病等重要内分泌疾病的一线筛查工具。午夜唾液皮质醇测定因其高敏感性和特异性,且能便捷地在家庭环境中完成,被最新国际临床指南广泛推荐[5]。地塞米松抑制试验(DST)也可通过唾液采样来高效评估 HPA 轴的负反馈功能。其次,可进行应激反应的动态监测。唾液采样无痛、无创,允许在自然状态下进行高频率采样,如检测皮质醇觉醒反应(CAR),即醒后 30~60 分钟内皮质醇的飙升幅度[6]。CAR 是评估 HPA 轴基础活性的重要指标,其异常与慢性压力、抑郁、焦虑症等多种精神心理疾病密切相关。

通过采集急性应激任务前后的唾液样本,可以精确刻画个体的应激反应模式,为心理神经内分泌学研究提供了核心工具。唾液皮质醇也是长期健康风险的生物标志物。长期异常的皮质醇节律被认为是慢性应激的生物学后果,与免疫功能抑制、代谢综合征、心血管疾病风险及认知功能衰退存在明确关联[7]。通过监测唾液皮质醇的昼夜节律,可以评估个体的“全荷负担”(Allostatic Load),预测其长期健康风险。而对于特殊人群研究,唾液皮质醇检测拥有其独特的优越性。在儿科、老年病学及精神科患者等脆弱人群中,唾液采样的无创性使其具有无可比拟的伦理和方法学优势,能够获得更真实、自然状态下的生理数据,极大推动了这些领域的研究发展[8]。

1.2. 唾液检测相对于其他方式检测的优势

尽管血清、组织液、汗液和尿液等均为潜在的皮质醇检测基质,但唾液在综合性上展现出其独特的优越性。因其无创、可靠、能特异性地反映生物活性激素水平并适用于动态监测的独特优势,已成为研究 HPA 轴功能和评估应激状态的最有力工具。

1.2.1. 相较于血清、血浆检测

相对于血液采集,唾液采集具有无创性的优势,无需专业医护人员操作,避免了针刺带来的疼痛、感染风险和心理应激,特别适合居家、院外和频繁采样,极大提高了受试者的接受度和依从性[3]。其次,唾液检测能够直接反映游离皮质醇的浓度,而血清总皮质醇受 CBG 浓度变化,如妊娠、服用雌激素等影响很大,唾液检测避免了这一干扰,结果更为可靠[9]。并且唾液皮质醇采样设备简单,样本稳定性强,易于储存和运输,降低了整体检测的成本和复杂度。

1.2.2. 相较于组织液检测

组织液(Interstitial Fluid, ISF)已成为无创检测,如微针传感技术的研究热点。然而,其应用于皮质醇检测仍面临巨大挑战。首先,技术尚不成熟,针对皮质醇等高特异性分子的灵敏、稳定、可重复的连续监测技术仍在研发初期,远未达到临床普及阶段[10]。其次,组织液采集通常仍需微创手段,舒适度不如唾液采集。最后,其与血清游离皮质醇的相关性等基础研究尚不充分。因此,唾液检测在技术成熟度和可靠性上目前远超组织液检测。

1.2.3. 相较于汗液检测

汗液作为完全无创的基质,在可穿戴设备领域备受关注。但其用于皮质醇检测存在根本性缺陷。第一,分泌机制与相关性不明确。皮质醇如何从血液转运至汗液的过程复杂且不稳定,其与血液浓度的关系远不如唾液清晰,缺乏大规模临床验证[11]。第二,浓度极低且变异大。汗液中皮质醇浓度极低,受温度、湿度、运动影响巨大,采样体积和速率难以标准化,重复性和可靠性面临严峻考验[12]。

1.2.4. 相较于尿液检测

24 小时尿液收集测定游离皮质醇(UFC)是评估皮质醇总分泌量的方法。但同时其弊端也很突出。首先,收集过程繁琐。需要患者完整收集 24 小时内所有尿液,极易出现收集不全或错误,严重影响结果准确性[13]。其次,缺乏时间分辨率。UFC 提供的是一个时间积分后的总平均值,无法反映皮质醇的昼夜节律波动和瞬时的应激峰值,丢失了至关重要的动态信息。唾液检测则可轻松实现时间点特异性的精准测量。

2. 唾液皮质醇的采集与预处理

健康成年人通常每天分泌 500 ml 至 1500 ml 的浆液性和黏液性唾液,基础分泌流速约为 0.5 ml/min。由于分泌物同时来自大唾液腺和小唾液腺,全唾液是富含水分(约 99%)和内源性物质(如无机化合物、挥

发性、非蛋白和脂质有机化合物、蛋白质、多肽和激素)的口腔液体混合物[14]。

2.1. 唾液皮质醇的采集方法与注意事项

2.1.1. 唾液皮质醇收集前的准备

在收集唾液前,参与者往往被要求避免进食,饮水,吸烟,清洁牙齿等,但关于禁食时间、收集限制和其他参数的方案也因研究而有所不同。在检测唾液皮质醇的相关实验中,多数实验仅要求采集前 1~2 小时的行为。如 Tonge 等[15]要求参与者在采样前 60 分钟不要吃、喝、刷牙或使用牙线。Ueland [16]等要求参与者至少在收集唾液前 60 分钟不要刷牙进食。Şemsi [17]等要求参与者在测试前 60 分钟内不得吸烟、进食、饮用液体或刷牙。Fan 等[18]要求参与者至少在测试前两小时停止进食喝水。一些方法还包括更精细的步骤,如 Justino 等[19]要求参与者在唾液收集前至少两小时不进食,30 分钟不喝水,在唾液收集开始前五分钟用蒸馏水漱口。此外,丢弃收集前 2 分钟的唾液,以允许稳定的唾液流动。尽管禁食、禁饮的时间从 1 到 2 小时不等,但所有方法的目的都是避免食物残渣、饮料成分、血液污染或 pH 值改变对实验结果的影响。在研究设计中,选择何种要求取决于研究的精度要求,但关键是在整个研究过程中需保持方案的一致性,以确保样本间具有可比性。

2.1.2. 唾液类型与刺激方法

在采集唾液时,存在天然唾液和刺激唾液两种类型。天然唾液主要由舌下和颌下腺分泌,在没有任何外部刺激的情况下在休息时产生。它的流速为 0.3~0.7 ml/min。相比之下,刺激唾液是响应各种刺激而产生的,例如味觉或机械作用(如咀嚼),80%的刺激唾液是由腮腺分泌的。刺激唾液的流速范围为 1.5~2 ml/min [20]。一个关键问题是,刺激唾液的高流速是否会“稀释”皮质醇浓度,从而影响检测结果。多项实验发现,尽管未刺激唾液和刺激唾液在产生、成分和功能上存在明显差异,二者之间的唾液皮质醇水平并无显著差异。Al Habobe 等[21]对比未刺激唾液和咀嚼刺激唾液,检测两者的皮质醇浓度,发现二者无显著差异,说明皮质醇的浓度不受唾液分泌速率影响,在不同流速下保持稳定。Peres 等[22]使用 Lozenge Drools 和培根香气刺激受试者产生刺激唾液,结果发现,与基线日的样本相比,使用含片或培根香气后采集的唾液中皮质醇浓度无显著差异。根据以上实验,采用温和的刺激方法来提高唾液分泌速率、缩短采集时间、增加样本量是一种可靠有效的方法,尤其适用于唾液分泌量较少的个体。

2.1.3. 主要采集方法

如今存在多种方法无痛收集唾液,主要包括被动流涎法(Passive Drooling),唾液棉卷,直接吐取唾液。

(1) 被动流涎法 Passive Drool

被动流涎法被广泛认为是用于检测唾液皮质醇的金标准。参与者将自然汇集在口中的唾液通过短吸管或直接滴漏的方式收集到试管中。例如 Fan 等[18]要求参与者将唾液汇集 3 分钟,然后通过短吸管将被动流口水放入 2 mL 微量离心塑料管中。该方法主要优点是成本较低,可获得样本量大。然而该方法存在耗时较长,易产生泡沫,对于唾液分泌少的人群和婴幼儿不适用等缺点。

(2) 拭子 Swab

这种方法要求参与者将特制的棉卷放入口中咀嚼或含在舌下 1~2 分钟,待其充分吸收唾液后,将其放入专用套管中,通过离心将唾液分离出来。该方法主要优点是采样速度快,易于操作运输,但棉卷可能吸附分析物,影响回收率,且成本较高。Bellagambi 等[14]发现,因棉纤维吸附或引入干扰物质,使用棉签(如 Salivette®棉签)会导致皮质醇浓度降低 15%,而合成材料棉签(如 Salivette®合成签)则具有高回收率高(>95%),因此更适合皮质醇检测。此外, Tonge 等[15]研究发现在 6 岁以下儿童中,使用 SalivaBio 和 SaliPac 等专用采集装置耐受性良好,能在 4 分钟内收集到足量唾液用于类固醇类激素分析。

(3) 直接吐取唾液 Spitting

在这种方法下,参与者通过内置吸管直接将唾液吐入预装稳定剂的专用试管中。其最大优势在于样本的室温稳定性得到增强,并且简化运输和储存步骤。这种采样方法因其在测量唾液流速方面具有高可重复性和可靠性而受到普遍青睐。但成本相对最高,同时研究者必须确保管内的稳定剂不会对后续的免疫分析或其他检测方法产生干扰。

2.2. 样品保存和稳定性问题

唾液样本采集后,必须立即进行妥善的预处理和储存,以防止皮质醇降解或样本变质,这是确保数据质量的关键步骤。

2.2.1. 样品储存

部分研究选择在冷冻前对样本进行短期冷藏。例如,Justino 等[19]的研究中,样本在采集完成后立即储存在 4℃ 下直至当天采集全部结束。Fan 等[18]要求将采集完成的样本管立即放置到 4℃ 环境中,在此条件下保存不能超过一天。这种做法旨在采集过程中维持样本稳定性。

长期保存唾液样本的标准方法是冷冻,不同实验采用的冷冻温度有所不同。但主要集中在-20℃ 和-80℃ 两种温度。Marie-Pier Paré-Ruel 等[23]和 Puglisi 等[24]均选择将样本冷冻在-20℃,在此条件下皮质醇可稳定保存数月至一年。Justino 等[19]和 Fan 等[18]则采用了-80℃ 的超低温储存。-80℃ 通常被认为是更理想的长期储存选择,能最大程度地保证生物标志物长期稳定。

2.2.2. 处理

离心是唾液样本预处理的核心步骤,用于去除唾液中的粘蛋白、细胞碎片、细菌及其他不溶性杂质,获得澄清、均一的上清液用于后续分析。不同实验室的离心参数略有差异,但通常遵循一定的范围。

比如 Justino 等[19]将唾液在 1976 g 下 4℃ 离心 15 min,分析上清液。样品储存在-80℃ 下直至分析,分析时将储存的唾液自然解冻进行分析。Fan 等[18]的研究中,要求在唾液取出立即将试管保持在 4℃ (不超过 1 天),然后保持在-80℃ 直至分析。将唾液解冻并以 1500 g 离心 15 分钟。Marie-Pier Paré-Ruel 等[23]将样品在返回实验室后储存在-20℃ 的冰箱中保存。使用时将冷冻样品置于室温,以 15,000 × g (3000 rpm)离心 15 分钟。使用咀嚼口腔棉签(Salivette, Sarstedt, 德国)收集唾液时候,根据制造商的方案,在使用产品进行样本采集后,需立刻将唾液样本送至实验室进行离心分离和分析,应将嚼过的棉签放入唾液收集装置中并以 1,000 × g 离心 10 分钟。如不能实现,建议收集之后立即对唾液样本进行冷却(4~8℃)或冷冻。Puglisi 等(Puglisi 2019)将参与者咀嚼过的 Salivette 棉签放入唾液收集装置中,并以 3000 rpm 离心 15 分钟,取出棉签,再将样品冷冻在-20℃ 直至测定。Tonge 等[15]实验中,将咀嚼过的 Salivette 棉签放在输送管中以 1500 至 3000 g 在 4℃ 下离心 10 分钟。唾液被冷冻直到分析裂解。

3. 唾液皮质醇检测技术的研究进展

现已有多种方法应用于唾液皮质醇的检测,以下是对皮质醇检测的各种方法的综述,其中包含免疫学检测方法,液相色谱-串联质谱技术,以及各种新兴检测技术。

3.1. 免疫学检测方法

3.1.1. 放射免疫分析法

放射免疫分析法(Radioimmunoassay, RIA)是检测唾液皮质醇的早期传统技术,是一种基于放射性同位素标记抗原与未标记抗原竞争结合抗体的体外微量分析方法,通过测量抗原-抗体复合物的放射性强度,推算待测抗原浓度。放射性标记皮质醇(*Ag)与待测皮质醇(Ag)共同竞争有限的皮质醇抗体(Ab),形

成复合物*Ag-Ab 或 Ag-Ab。通过分离复合物(B)与游离组分(F),测定 B/F 或 B/T 值,建立标准曲线并定量未知样品。早在 1985 年,已有研究利用 ^{125}I 标记的皮质醇通过 RIA 法比较健康人与游泳运动员的唾液皮质醇在不同运动状态下的含量变化[25]。该方法需制备抗体、同位素标记物,并纯化抗原,操作较为复杂;同时存在放射性物质的安全隐患,危害人体健康。此方法正逐渐被其他方法如化学发光免疫法(CLIA)和酶联免疫吸附法(ELISA)替代。

3.1.2. 酶联免疫吸附法

酶联免疫吸附法(Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA)是一种基于抗原-抗体反应原理的检测技术。在该检测方法中,将抗原(或抗体)吸附在酶标板上,然后加入抗体(或抗原)和酶标二抗,最后通过底物显色反应确定唾液皮质醇的浓度[26](如图 1)。现已开发出多种抗体以实现皮质醇的免疫检测[27]。ELISA 具有较高的灵敏度和可靠性,且精准度较高,发展技术较为成熟,常用于为各种新兴方法提供对照指标。极大地改进了医学实验室的操作流程。已经研发出的 ELISA 试剂盒对皮质醇的检测限(LOD)已达 5 ng/ml ,线性范围为 $15.6\sim 1000\text{ ng/ml}$ [28]。然而,传统的 ELISA 检测需要历经数小时,耗时长,检测效率低,且需要专业实验操作,不便于生活中对唾液皮质醇水平的即时检测(Point-of-Care Testing, POCT)。

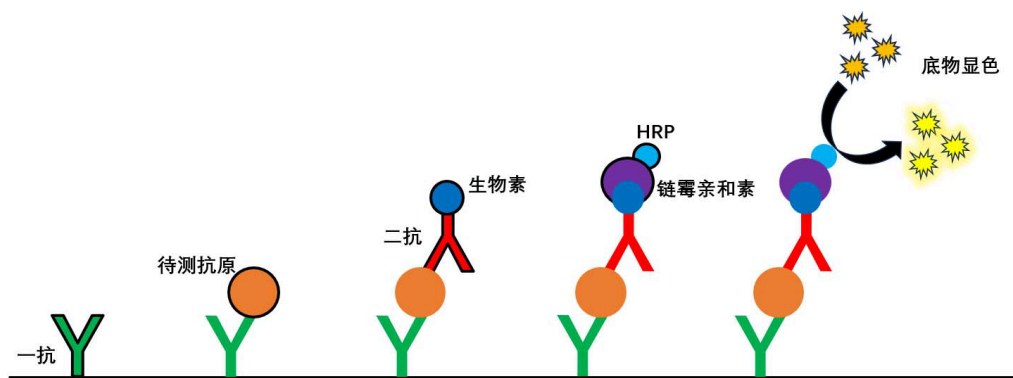


Figure 1. Schematic diagram of the principle of ELISA (Sandwich Method)

图 1. ELISA (夹心法)原理示意图

3.1.3. 侧流免疫层析技术

与 ELISA 相比,侧流层析技术(Lateral Flow Immunochromatography Assay, LFIA)以其快速、便携和低成本等优势成为研究热点。该技术通过在层析膜上实现抗原-抗体特异性结合,对唾液皮质醇进行即时检测,在样本收集后几分钟内即可获得结果。现已研发的唾液皮质醇侧流免疫层析试纸以竞争法为主:唾液中的皮质醇与检测线(T线)上预固定的皮质醇-BSA 偶联物竞争性结合金标抗体(胶体金标记的抗体),皮质醇浓度越高,T线显色越弱,反之则越强;质控线(C线)则捕获剩余金标抗体,验证检测有效性。银增强溶液可增强显色信号,以便于肉眼直观看显色结果。使用增强系统后,LOD 为 0.5 ng/mL ,检测灵敏度比不使用增强系统($\text{LOD} = 1.8\text{ ng/mL}$)高 3.6 倍,可实现在 $0.5\sim 150\text{ ng/mL}$ ($R^2 = 0.9984$)的范围内进行检测,在临床可接受范围内。通过图像处理程序分析结果的强度颜色,可实现半定量检测[29]。传统的侧流免疫层析需要使用肉眼观测,因此只能提供至多半定量的结果,并存在观测误差。基于智能手机拍照判读的侧流免疫层析快检技术已经研发,通过手机对在暗盒中显色的试纸进行拍摄,并结合机器视觉图像识别技术、可见光比色分析或荧光分析技术,可以实现对试纸条显色结果的快速定性、定量判定[30]。此外,有研究将双链 DNA 适配体(由两条单链 DNA1 和 DNA2 组成)通过 Au-S 键偶联到金纳米颗粒(AuNP)表面,用作 LFIA 检测设备中的传感器探针,DNA2 为皮质醇特异性适配体,DNA1 为 DNA2 的互补链。

唾液样品中的皮质醇可与 DNA2 特异性结合, 使其与 DNA1 解离, 游离的 DNA1-AuNP 复合物与 T 线上的 T DNA (与 DNA2 互补) 特异性结合, 使 T 线显色(如图 2)。唾液样品中皮质醇浓度增加会导致解离增加, 并导致 AuNP 偶联物在测试线上的结合增加, 可实现在 0.5~15 ng/mL 的范围内进行检测, LOD 为 0.37 ng/mL, 相较于竞争法检测的灵敏度更高。通过酶联免疫吸附试验(ELISA)检测结果证实了准确性[31]。

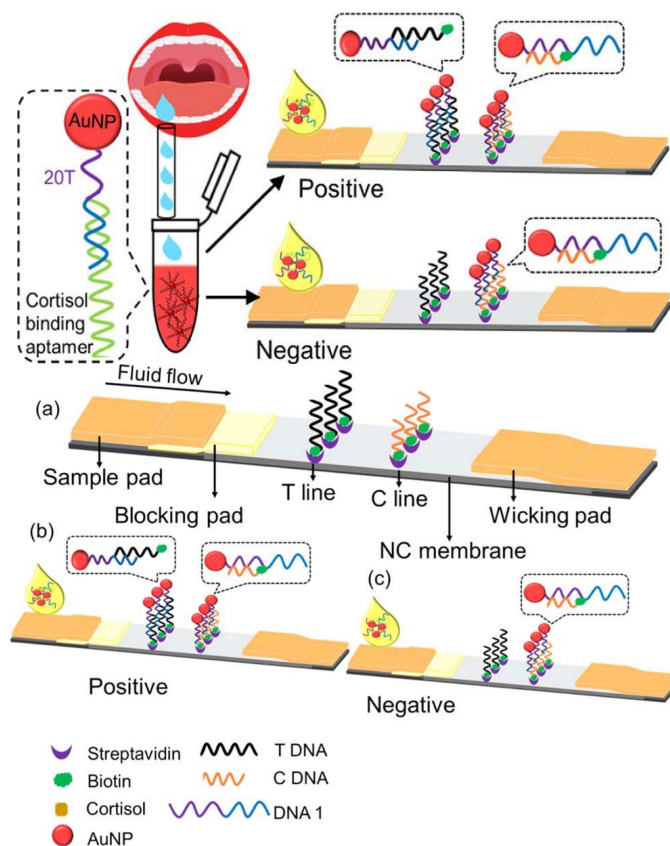


Figure 2. Design of aptamer-based lateral flow assay for cortisol detection in saliva [31]: (a) Configuration of the test strip; (b) Binding and colorimetric signal in the presence of cortisol (positive test); (c) Binding and colorimetric signal in the absence of cortisol (negative test)

图 2. 用于检测唾液中皮质醇的基于适配体的侧向流动测定的设计[31]: (a) 试纸条的配置; (b) 皮质醇存在下的结合和比色信号(阳性测试); (c) 在没有皮质醇的情况下的结合和比色信号(阴性测试)

3.1.4. 化学发光免疫法

化学发光免疫法(Chemiluminescence Immunoassay, CLIA)包含两部分——免疫反应系统和化学发光分析系统。化学发光与荧光类似, 都是物质在吸收外界能量后发生电子跃迁, 再次回到基态时发出光能, 区别在于前者吸收的是化学能, 发出的是可见光, 释放光子, 利用发光信号测量仪器测量光子产额, 而后者则吸收的是光能, 释放出的是荧光。化学发光的能量来源, 一般由快速的氧化还原反应提供, 因此常与电化学的方法相联系。免疫反应系统是将发光物质直接标记在抗原或抗体上, 产生光子的量与待测物质成正比。另一种方法是将辣根过氧化物酶(HRP)与抗体相连, 若存在相应抗原则会形成固相抗体-抗原-HRP 修饰抗体复合物, 此时再添加化学发光底物(如鲁米诺), 则出现化学发光现象。有研究利用电化学免疫分析法, 对斑马鱼和人工唾液中的皮质醇进行检测, 其 LOD 为 0.47 pg/ml, 线性浓度为 0~50 ng/ml ($R^2=0.9912$) [32]。此外, 还有一种基于化学发光法的新型便携式侧流层析检测平台已

被研发,用于定量检测人血清中的皮质醇。LFIA膜内的金纳米粒子探针与皮质醇特异性抗体和辣根过氧化物酶(HRP)相连,提高了皮质醇捕获效率和发光信号放大效果,为分析物提供了充足的结合位点。测定的皮质醇的LOD为0.342 $\mu\text{g/dL}$,线性范围为0.78~12.5 $\mu\text{g/dL}$ ($R^2=0.99$)。尽管光学仪器是分析物定量的常规方法,但其设备成本高昂,难以广泛应用[33]。

3.2. 液相色谱 - 串联质谱技术

液相色谱 - 串联质谱(Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, LC-MS/MS)是一种将液相色谱与串联质谱相结合的分析技术,兼具前者的高效分离能力及后者的高灵敏度和高特异性检测能力。其原理主要分为三个核心步骤:液相色谱分离、离子化以及串联质谱检测。LC-MS/MS可通过物质的极性、质荷比及其特征结构碎片的不同,将目标化合物与干扰成分相互分离,最终实现精准定量,是检测小分子激素的金标准,常被用于建立激素的参考方法[34]。因此,该技术的一大突出优势在于抗干扰能力强、特异性好。液相色谱法可使得皮质醇与可的松、6 β -羟基可的松、21-脱氧皮质醇、皮质酮等在免疫法中产生干扰的甾体激素获得色谱的基线分离,因此LC-MS/MS技术是目前抗干扰能力最强的检测方法[35]。其另一大优势在于敏感度高,这使得准确检测低浓度的唾液皮质醇成为现实。有研究表明,相较于免疫法,LC-MS/MS方法检测限更低,最低可达0.05 ng/mL,线性范围为50~2000 pg/mL,在低浓度样本检测时显著优于免疫法[36]。唾液较血清相比成分更简单,皮质醇从唾液中的提取相较于血清更方便,提取回收率可达60%以上,且无明显的基质效应[37]。

3.3. 表面等离子体共振技术

表面等离子体反应(SPR)起源于20世纪90年代,是一种无标记的检测方法,其应用SPR原理检测生物传感芯片上分子间相互作用(如抗原-抗体结合),广泛应用于各个领域。其原理如图3所示,最初,光束刺激金属膜表面,引起电子共振,形成表面等离子体激元,光与表面等离子体激元的相互作用导致反射光强度下降,形成暗带。当待测分子与金属-电介质界面处折射率的微小变化会引起表面等离子体激元有效指数的相应修改,因此折射率变化可以通过表面等离子体发射光谱的强度、角度或波长的变化来检测。用皮质醇类似物修饰的金属表面相互作用,通过SPR测量其与抗体的结合情况。虽然SPR设备目前并不适用于家庭检测或大规模筛查,但它在诊所和医院中已得到应用,助力在临床环境中快速检测皮质醇[38]。有研究发明了一种基于表面等离子体共振的免疫传感器,用于实时检测尿液和唾液样本中的皮质醇和可的松水平,对皮质醇和可的松表现出高特异性。该方法与液相色谱-串联质谱法获得的结果之间存在良好的相关性,LOD为4 $\mu\text{g/l}$,线性范围为9~132 $\mu\text{g/l}$ [39]。

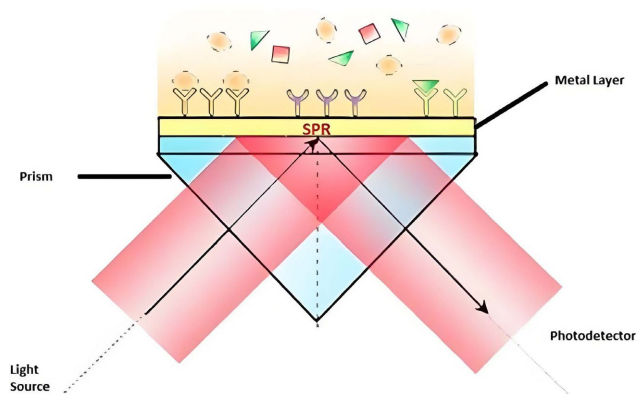


Figure 3. SPR principle schematic diagram [38]

图3. SPR 原理示意图[38]

3.4. 新兴检测技术

3.4.1. 微流控芯片技术

微流控技术通过微米级通道操控流体, 将样本处理、免疫反应和信号检测集成于芯片中。唾液皮质醇与标记物(如 HRP-皮质醇)竞争结合固相抗体, 通过光学/电化学信号定量检测, 其信号强弱与皮质醇浓度呈负相关。

有研究利用该技术研制出一种新型聚二甲基硅氧烷(PDMS)微流控免疫传感器, 该传感器集成了互补金属氧化物半导体(CMOS)光学检测系统, 实现唾液皮质醇的快速检测。将包被抗体(Ab)共价固定在处理过的 PDMS 表面上, 涂层 Ab 结合捕获 Ab, 使其具有正确的方向。添加 HRP 标记的皮质醇可以与样品中的皮质醇竞争, 以捕获抗体结合位点。通过 HRP 酶和四甲基联苯甲胺(TMB)底物反应, 测量与捕获抗体结合的 HRP 标记皮质醇。其线性范围为 0.01~20 ng/mL, LOD 为 18 pg/mL, 分析时长约为 35 分钟。对于需要在昼夜节律周期内连续监测唾液皮质醇水平的即时应用具有巨大潜力[40]。

另有研究提出了一种具有流体控制机制的皮质醇免疫传感器, 该机制具有垂直流和侧向流。该研究发现样品皮质醇与葡萄糖氧化酶(GOD)标记的皮质醇偶联物之间发生竞争反应, 产生的检测电流与样品溶液中皮质醇的浓度成反比。利用相对电流检测得到的校准曲线显示, 对于与天然唾液皮质醇浓度(0.1~10 ng/ml)相对应的一系列标准皮质醇溶液($R^2 = 0.98$), 测量可在 35 分钟内完成, 且该传感器可以重复使用[41]。皮质醇免疫传感器测量用于评估人唾液皮质醇水平, 与市售的 ELISA 方法密切相关。此方法的优势在于其样品消耗量小, 检测时间快, 灵敏度较高。

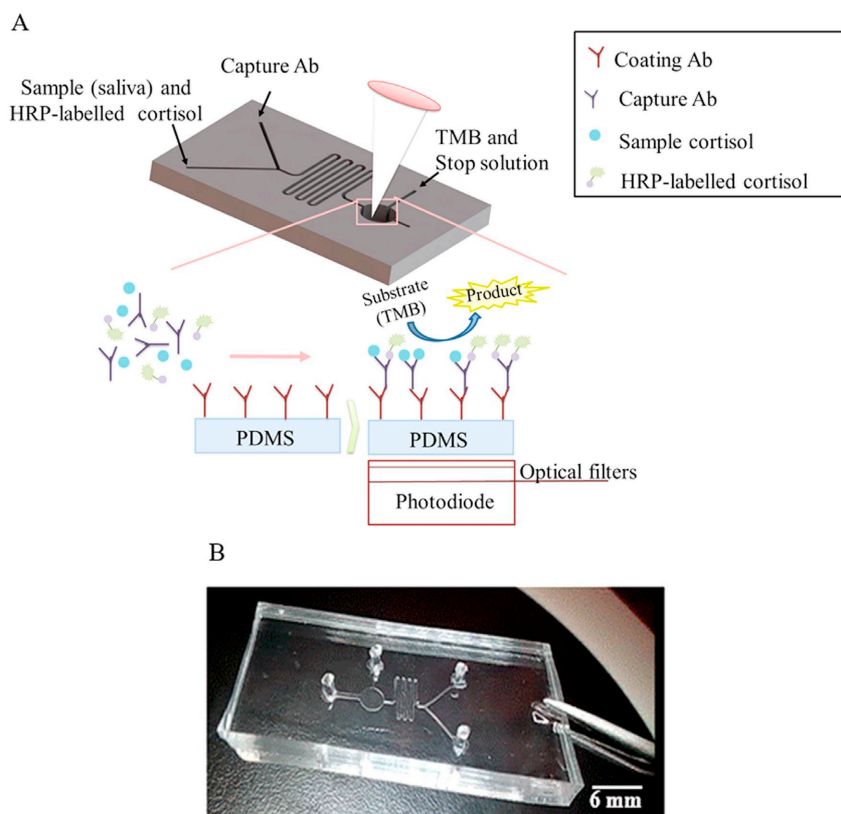


Figure 4. Salivary cortisol microfluidic immunosensor [40]: (A) Schematic diagram of the principle; (B) PDMS microfluidic device

图 4. 唾液皮质醇微流控免疫传感器[40]: (A) 原理示意图; (B) PDMS 微流控装置

3.4.2. 电化学生物传感器

电化学生物传感器是基于电化学及氧化还原反应的一种检测方法,当皮质醇与附着在电极表面的抗体结合时会产生电阻变化,从而引起电流变化,进而通过检测微弱电流变化实现对皮质醇含量的检测,并从中找到线性相关性。图5为一种皮质醇电化学传感器检测平台的制备过程及检测原理示意图[42]。有研究提出了一种用于检测唾液皮质醇的非侵入性电化学免疫传感器,将皮质醇抗体共价固定在射频溅射镍薄膜上,以标准皮质醇溶液作为校准电极,利用循环伏安法(CV)和差分脉冲伏安法(DPV)进行对样本中唾液皮质醇的检测,得到多条微小电流曲线,随样本中皮质醇浓度的增加,曲线峰值逐渐降低。其线性范围为1~10 $\mu\text{g/mL}$, LOD可低至0.32 pg/mL ,灵敏度高。利用不同干扰物质如抗坏血酸、乳酸、尿酸、葡萄糖等进行选择性测试,该检测方法表现出对皮质醇较高的特异性。它已被进一步评估以检测实际唾液样本中的皮质醇,有助于进一步研发成用于皮质醇测定的小型便携式无创传感设备[43]。

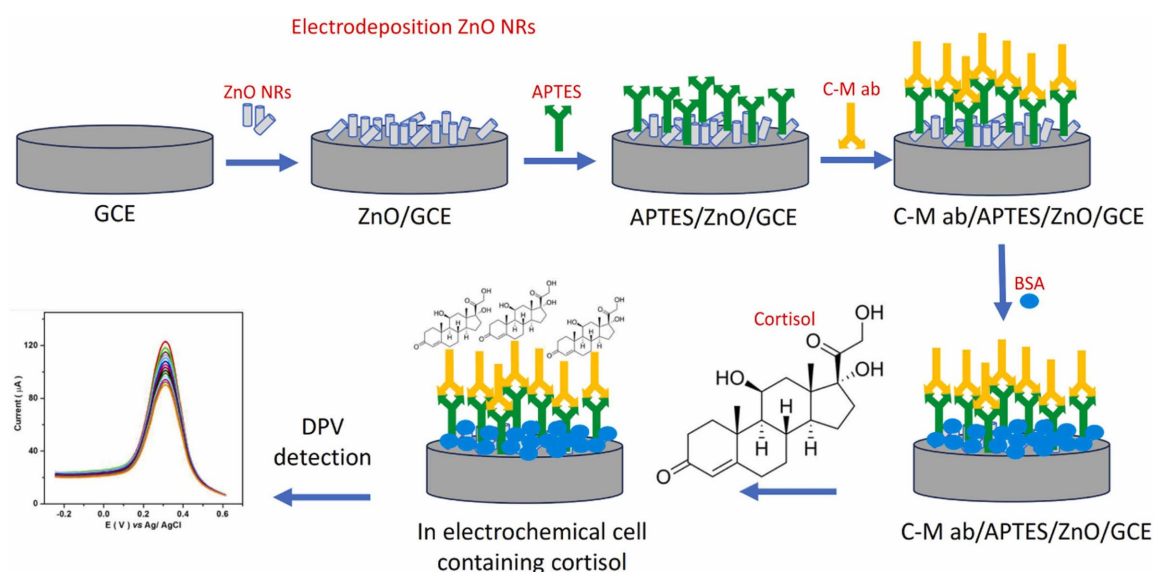


Figure 5. Schematic diagram of the preparation of ab/APTES/ZnO/GCE and electrochemical measurement of cortisol [42]

图5. C-M ab/APTES/ZnO/GCE 的制备过程示意图和皮质醇的电化学测量[42]

4. 挑战与展望

4.1. 检测技术的灵敏度与特异性提升

检测技术的灵敏度和特异性是衡量其性能的两个关键维度。高灵敏度确保了能够准确检出极低浓度的皮质醇,这对于捕捉生理周期中微量的浓度变化或诊断肾上腺功能减退至关重要。高特异性则保证了检测结果不受唾液中结构类似的其他类固醇(如可的松)的干扰,从而确保诊断的准确性。

4.1.1. 现有技术在低浓度检测时的局限性

然而,现有检测技术在对于唾液皮质醇的浓度检测中仍存在一定的局限性。酶联免疫吸附测定(ELISA)作为目前商业化试剂盒和常规实验室中最常用到的唾液皮质醇检测方法,其检测原理基于抗体-抗原的特异性结合,技术发展成熟、成本相对较低。但大多数商业 ELISA 试剂盒的检测限(Limit of Detection, LOD)通常在 ng/mL 或 nmol/L 级别[44] [45]。一些产品的 LOD 报告为 0.5 ng/mL [46]、0.36 ng/mL [47]或甚至更高,而这远高于某些病理状态下的皮质醇浓度,如评估地塞米松抑制试验后的皮质醇水平或诊断轻微的肾上腺功能不全。当唾液皮质醇浓度极低时,ELISA 方法的精密性会显著下降,结果的可靠性存

疑[48][49]。此外, ELISA 的特异性完全依赖于抗体的质量。由于皮质醇与其他内源性类固醇(如可的松、孕酮等)结构高度相似, 抗体可能发生交叉反应, 导致检测结果偏高, 影响诊断的准确性[50][51]。尽管高质量的试剂盒会报告交叉反应率, 但这依然是其固有的潜在问题。

与之相比的另一种检测技术——液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)技术能够有效分离结构相似的类固醇, 从根本上解决了交叉反应问题, 具有极高的特异性。同时, 其灵敏度也远超免疫分析方法。研究显示, 优化的 LC-MS/MS 方法可以实现极低的检测限。有研究报告其 LOD 可达 20 pmol/L (约 7.3 pg/mL) [52], 甚至有文献提出检出限为 0.002 ng/mL (即 2 pg/mL) [53]。这些性能完全满足了微量水平下皮质醇的精准检测需求。尽管性能优越, LC-MS/MS 的推广应用受到显著限制。因其设备成本高昂, 且需要专业技术人员操作, 再加之样本前处理过程复杂耗时, 这使其难以用于大规模筛查或即时检测(Point-of-Care Testing, POCT) [54]。

4.1.2. 提高灵敏度和特异性的技术研发方向

为了突破传统技术的局限, 近些年的研究焦点集中在开发基于新材料和新原理的生物传感器。这些研究从识别探针、信号转换和信号放大等多个层面进行了创新。

为克服传统免疫传感器所依赖的生物抗体生产成本高、稳定性差的问题, 研究员开发了人工合成的识别探针。核酸适配体(Aptamers)是通过体外筛选技术(SELEX)获得的短链单链 DNA 或 RNA 分子, 能以高亲和力和高特异性与目标分子结合[55]。与生物抗体相比, 适配体具有易于化学合成、自适应修饰、体积小、稳定性高, 缺乏免疫原性, 无细胞进化的优势[56]。近年来, 基于适配体的皮质醇生物传感器被大量报道, 一项基于适配体的双模式生物传感器, 其光电化学和电化学检测限分别达到了 0.8 pg/mL 和 0.4 pg/mL, 实现了 pg/mL 级别的检测[57]。

研究员利用纳米材料独特的尺寸效应、巨大的比表面积以及优异的光、电、催化性能, 将其运用于传感器信号放大领域。如金纳米粒子(AuNPs)、碳纳米管(CNTs)、石墨烯、量子点(QDs)等纳米材料被广泛用于修饰传感器电极表面[58][59], 可显著增加探针(抗体或适配体)的固定量, 并加速电子转移速率, 从而在电化学传感器中极大地增强电流信号。此外, 研究员还将纳米材料与识别探针结合, 构建出了基于表面等离子共振(SPR)、荧光、拉曼散射等原理的高效传感界面, 显著提升了检测灵敏度[60]。

4.2. 便携化与即时检测的可行性

皮质醇是肾上腺合成的一种类固醇激素, 是身体疾病相关的心理应激生物标志物。随着社会节奏加快, 对精神健康、职业倦怠、睡眠障碍和库欣综合征、抑郁症等内分泌疾病的即时、动态监测需求日益增长。为了及时诊断和预防, 开发非侵入性皮质醇检测变得越来越重要。唾液具有采集方便、无创伤等优点, 可由用户自行完成采集工作, 极大地提高了患者的依从性, 成为非侵入性检测的样本首选。传统实验室检测方法流程复杂、耗时长、依赖大型设备和专业人员, 无法满足频繁或连续监测的场景需求。因此, 开发便携、快速、用户友好的唾液皮质醇即时检测(POCT)设备, 成为了生物传感和医疗诊断领域的研究热点。

4.3. 标准化与临床应用推广

4.3.1. 检测方法标准化的必要性

标准化的缺失是限制唾液皮质醇检测技术广泛应用和数据模型建立与互认的障碍之一。缺乏统一的规范导致不同研究和临床实践得出的结果难以进行直接比较, 严重影响了可靠参考范围的建立和临床决策的准确性。一项 2019 年针对癌症幸存者研究的系统性综述明确指出, 由于唾液皮质醇采样和报告参数缺乏标准化, 极大地限制了研究结果的横向比较和整合分析。为了建立适用于不同人群的健康参考值和疾病诊断阈值, 必须在从样本采集到数据解读的每一个环节建立并遵循标准操作规程[61]。

为保证实验结果的准确性,首先在样本采集与处理环节就必须严格遵守规范流程。由于皮质醇的分泌具有显著的昼夜节律,不同的采样时间、采样频率所采集到的皮质醇水平都有所不同。此外,采样的设备方法和样本的储存处理方法也会对结果造成影响。因此在采样过程中,研究员应充分考虑其内在的可变性,在采样前对于受试者进行集体指导培训,统一购买并使用样本采集套件,对于唾液样本的处理(离心、冷冻和解冻过程)进行标准化规定和质量控制,以保证结果的一致性和可重复性。

标准化不仅限于技术操作,还应延伸到结果的报告与解读。系统性综述建议,研究报告中应明确说明所采用的日间皮质醇参数(如 CAR、日间斜率、曲线下面积 AUC),并详细报告参与者对采样方案的依从性,因为低依从性会严重影响数据质量[61]。

4.3.2. 临床应用的推广和前景

唾液皮质醇的即时检测在临床上具有广阔的应用前景。在内分泌疾病诊断,尤其是在筛查和诊断库欣综合征方面,夜间唾液皮质醇的检测显示出高敏感性和特异性,已逐渐成为临床一线检测指标;在精神与心理健康评估方面,该技术被用于研究抑郁症、焦虑症、创伤后应激障碍(PTSD)等多种精神疾病的病理生理机制,为评估患者的应激反应水平提供数据支撑。在职业评估方面,可用于监测高压职业人群(如军人、飞行员、消防员)的应激水平,预防职业倦怠;在运动科学中,评估运动员的训练负荷与恢复状态;在心理学研究中,客观量化个体在特定情境下的压力反应[62]。其他的关联研究还扩展至代谢综合征、睡眠质量、癌症幸存者健康状况等多个方面,显示出跨学科的广泛适用性和发展潜力。

5. 结论

随着检查技术的发展,唾液皮质醇无创、便捷、可反应生物活性游离激素等优点成为一套评估 HPA 功能和机体应对状态等效果的评价手段。免疫技术相关方法的 ELISA、LFIA、CLIA 已在临床与科研中使用;检出限和特异性均较强的 LC-MS/MS 方法被视为小分子激素检测方法中的金指标;微流控芯片技术、电化学生物传感器技术等新型则展现出了高集成度、快速响应和即时化的特性,推动技术研究向便携化、智能化方向转型。

尽管如此,唾液皮质醇测量还存在诸多挑战。目前的样本检测技术,在灵敏度、特异性和成本之间存在权衡:免疫法测定法会出现交叉反应问题,LC-MS/MS 检测试剂精确性好但需依赖仪器和专门的技术人员,新兴传感器方兴未艾具有极大的发展前途,但其稳定性、重现性与批量生产问题仍未得到解决。标准化的缺失是其另一个核心瓶颈,如采样操作流程、处理方法步骤、数据解读参数的差异导致不同研究之间不能直接进行相互比较,从而导致临床参考范围的建立与广泛应用受到阻碍。生理和环境因素例如昼夜节律因素、年龄、性别、应激刺激、药物影响等使得检测结果波动大,针对需要个体设计(如婴幼儿、孕妇、老年人)的节律特点和特殊个体的唾液皮质醇参考范围有待完善。

未来发展方向主要涉及三方面:技术水平层面应通过技术优化,开发高亲和识别探针(适配体)、辅以纳米材料增强信号放大,提高检测灵敏度和抗干扰的能力;设备研发层面要加快设备创新,推动微流控、柔性电子产品和智能化算法的应用,实现便携式的、连续动态监测式的 POCT 系统;标准化建设层面,需要从取样、储存到检测数据分析全方位规范化并以多中心、大人群样本的临床研究进行不同人群的参考区间的临床确证。跨学科协作以及临床转化将促进唾液皮质醇检测技术在慢性病管理、精神症状监控、职业医学等领域应用的快速落地,最终为监控个体水平健康、疾病提示提供可靠的技术保障。

基金项目

北京工业大学第二十六届“星火基金”重点项目:基于侧流层析试纸条的唾液皮质醇检测(XH-2025-09-04)。

参考文献

- [1] Russell, G. and Lightman, S. (2019) The Human Stress Response. *Nature Reviews Endocrinology*, **15**, 525-534. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0228-0>
- [2] Xue, T., Chiao, B., Xu, T., Li, H., Shi, K., Cheng, Y., *et al.* (2022) The Heart-Brain Axis: A Proteomics Study of Meditation on the Cardiovascular System of Tibetan Monks. *eBioMedicine*, **80**, Article ID: 104026. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.104026>
- [3] Dorn, L.D., Lucke, J.F., Loucks, T.L. and Berga, S.L. (2007) Salivary Cortisol Reflects Serum Cortisol: Analysis of Circadian Profiles. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine*, **44**, 281-284. <https://doi.org/10.1258/000456307780480954>
- [4] Perogamvros, I., Keevil, B.G., Ray, D.W. and Trainer, P.J. (2017) Salivary Cortisone Is a Potential Biomarker for Serum Free Cortisol in Dynamic Function Testing. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **102**, 2384-2392.
- [5] Nieman, L.K., Biller, B.M.K., Findling, J.W., Murad, M.H., Newell-Price, J., Savage, M.O., *et al.* (2015) Treatment of Cushing's Syndrome: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **100**, 2807-2831. <https://doi.org/10.1210/jc.2015-1818>
- [6] Stalder, T., Kirschbaum, C., Kudielka, B.M., Adam, E.K., Pruessner, J.C., Wüst, S., *et al.* (2016) Assessment of the Cortisol Awakening Response: Expert Consensus Guidelines. *Psychoneuroendocrinology*, **63**, 414-432. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2015.10.010>
- [7] Joseph, J.J. and Golden, S.H. (2016) Cortisol Dysregulation: The Bidirectional Link between Stress, Depression, and Type 2 Diabetes Mellitus. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1391**, 20-34. <https://doi.org/10.1111/nyas.13217>
- [8] Dooley, L.N., Kuhlman, K.R., Robles, T.F., Eisenberger, N.I., Craske, M.G. and Bower, J.E. (2018) The Role of Inflammation in Core and Peripheral Symptoms of Major Depressive Disorder: Protocol for a Pilot Clinical Trial. *BMJ Open*, **8**, e021216.
- [9] Ahn, R.S., Lee, Y.J., Choi, J.Y., *et al.* (2022) The Salient Issues of Salivary Cortisol Measurements: A Comprehensive Review. *Endocrinology and Metabolism (Seoul)*, **37**, 71-81.
- [10] Heikenfeld, J., Jajack, A., Rogers, J., Gutruf, P., Tian, L., Pan, T., *et al.* (2018) Wearable Sensors: Modalities, Challenges, and Prospects. *Lab on a Chip*, **18**, 217-248. <https://doi.org/10.1039/c7lc00914c>
- [11] Gao, W., Emaminejad, S., Nyein, H.Y.Y., Challa, S., Chen, K., Peck, A., *et al.* (2016) Fully Integrated Wearable Sensor Arrays for Multiplexed in Situ Perspiration Analysis. *Nature*, **529**, 509-514. <https://doi.org/10.1038/nature16521>
- [12] Bariya, M., Nyein, H.Y.Y. and Javey, A. (2018) Wearable Sweat Sensors. *Nature Electronics*, **1**, 160-171. <https://doi.org/10.1038/s41928-018-0043-y>
- [13] El-Farhan, N., Rees, D.A. and Evans, C. (2017) Measuring Cortisol in Serum, Urine and Saliva—Are Our Assays Good Enough? *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine*, **54**, 308-322. <https://doi.org/10.1177/0004563216687335>
- [14] Bellagambi, F.G., Lomonaco, T., Salvo, P., Vivaldi, F., Hangouët, M., Ghimentì, S., *et al.* (2020) Saliva Sampling: Methods and Devices. an Overview. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **124**, Article ID: 115781. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115781>
- [15] Tonge, J.J., Keevil, B.G., Craig, J.N., Whitaker, M.J., Ross, R.J. and Elder, C.J. (2022) Salivary Steroid Collection in Children under Conditions Replicating Home Sampling. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **107**, 3128-3136. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgac419>
- [16] Ueland, G.Å., Kellmann, R., Jørstad Davidsen, M., Viste, K., Husebye, E.S., Almås, B., *et al.* (2021) Bedtime Salivary Cortisol as a Screening Test for Cushing Syndrome in Children. *Journal of the Endocrine Society*, **5**, bvab033. <https://doi.org/10.1210/jendso/bvab033>
- [17] Şemsi, R., Kökbaş, U., Arslan, B., Ergünol, E., Kayrın, L. and Sepici Dinçel, A. (2021) The Saliva Cortisol and Amylase Levels Related with Stress Response Compared by Different Analytical Methods. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **194**, 1166-1177. <https://doi.org/10.1007/s12010-021-03676-9>
- [18] Fan, X., Peters, B.A., Min, D., Ahn, J. and Hayes, R.B. (2018) Comparison of the Oral Microbiome in Mouthwash and Whole Saliva Samples. *PLOS ONE*, **13**, e0194729. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194729>
- [19] Justino, A.B., Teixeira, R.R., Peixoto, L.G., Jaramillo, O.L.B. and Espindola, F.S. (2017) Effect of Saliva Collection Methods and Oral Hygiene on Salivary Biomarkers. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, **77**, 415-422. <https://doi.org/10.1080/00365513.2017.1334261>
- [20] Li, Y., Ou, Y., Fan, K. and Liu, G. (2024) Salivary Diagnostics: Opportunities and Challenges. *Theranostics*, **14**, 6969-6990. <https://doi.org/10.7150/thno.100600>
- [21] Al Habobe, H., Haverkort, E.B., Nazmi, K., Van Splunter, A.P., Pieters, R.H.H. and Bikker, F.J. (2024) The Impact of Saliva Collection Methods on Measured Salivary Biomarker Levels. *Clinica Chimica Acta*, **552**, Article ID: 117628. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2023.117628>

- [22] Peres, J.C., Rouquette, J.L., Miočević, O., Warner, M.C., Slowey, P.D. and Shirtcliff, E.A. (2015) New Techniques for Augmenting Saliva Collection: Bacon Rules and Lozenge Drools. *Clinical Therapeutics*, **37**, 515-522. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2015.02.015>
- [23] Paré-Ruel, M., Brendgen, M., Ouellet-Morin, I., Lupien, S., Vitaro, F., Dionne, G., *et al.* (2022) Unique and Interactive Associations of Proactive and Reactive Aggression with Cortisol Secretion. *Hormones and Behavior*, **137**, Article ID: 105100. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2021.105100>
- [24] Puglisi, S., Pizzuto, A., Laface, B., Panero, F., Aprà, F., Palmas, E., *et al.* (2019) Determination of Salivary Cortisol to Assess Time-Related Changes of the Adrenal Response to Stress in Critically Ill Patients. *European Journal of Internal Medicine*, **68**, 66-70. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2019.08.001>
- [25] 藤林他. 人唾液中皮质醇含量的简易测定法[J]. 日本卫生学杂志, 1988, 88(1): 402.
- [26] 魏东, 黄智, 刘丽丽. 浅析 ELISA 的基本原理与注意事项[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(6): 2357-2358.
- [27] Gupta, B.D., Pathak, A. and Shrivastav, A.M. (2022) Optical Biomedical Diagnostics Using Lab-on-Fiber Technology: A Review. *Photonics*, **9**, Article No. 86. <https://doi.org/10.3390/photonics9020086>
- [28] 上海苗彩生物科技有限公司. 人唾液皮质醇(SC)定量检测试剂盒(ELISA)说明书[EB/OL]. <https://elisa.oss-cn-shanghai.aliyuncs.com/%E4%BA%BAELISA/ZC-54504Human%20SC%20ELISA%20Kit.pdf?versionId=null>, 2014-11-25.
- [29] Apilux, A., Rengpipat, S., Suwanjang, W., *et al.* (2018) Development of Competitive Lateral Flow Immunoassay Coupled with Silver Enhancement for Simple and Sensitive Salivary Cortisol Detection. *EXCLI Journal*, **17**, 1198-1209.
- [30] 李辉, 盈盈, 曹振, 刘广洋, 王静. 基于智能手机拍照判读的侧流免疫层析快速检测技术研究进展[J]. 分析化学, 2022, 50(1): 9-25.
- [31] Dalirirad, S., Han, D. and Steckl, A.J. (2020) Aptamer-Based Lateral Flow Biosensor for Rapid Detection of Salivary Cortisol. *ACS Omega*, **5**, 32890-32898. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c03223>
- [32] Abdulsattar, J.O. and Greenway, G.M. (2019) A Sensitive Chemiluminescence Based Immunoassay for the Detection of Cortisol and Cortisone as Stress Biomarkers. *Journal of Analytical Science and Technology*, **10**, Article No. 34. <https://doi.org/10.1186/s40543-019-0196-y>
- [33] Balasamy, S., Atchudan, R., Arya, S., Gunasekaran, B.M., Nesakumar, N. and Sundramoorthy, A.K. (2024) Cortisol: Biosensing and Detection Strategies. *Clinica Chimica Acta*, **562**, Article ID: 119888. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2024.119888>
- [34] Zhang, T., Zhao, H., Li, M., Zeng, J., Wang, J., Long, Q., *et al.* (2020) Development and Validation of a Candidate Reference Method for Serum Cortisol by Isotope Dilution Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Combined with Dextran Sulfate-Mg²⁺ Precipitation. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **412**, 1325-1333. <https://doi.org/10.1007/s00216-019-02356-2>
- [35] Carrozza, C., Lapolla, R., Gervasoni, J., Rota, C.A., Locantore, P., Pontecorvi, A., *et al.* (2012) Assessment of Salivary Free Cortisol Levels by Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) in Patients Treated with Mitotane. *Hormones*, **11**, 344-349. <https://doi.org/10.14310/horm.2002.1363>
- [36] Kataoka, H., Matsuura, E. and Mitani, K. (2007) Determination of Cortisol in Human Saliva by Automated In-Tube Solid-Phase Microextraction Coupled with Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **44**, 160-165. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2007.01.023>
- [37] 陆优丽, 龚晓霖, 李水军. 液相色谱-串联质谱法检测唾液皮质醇和可的松进展及临床应用[J]. 临床检验杂志, 2020, 38(9): 688-691.
- [38] Vignesh, V., Castro-Dominguez, B., James, T.D., Gamble-Turner, J.M., Lightman, S. and Reis, N.M. (2024) Advancements in Cortisol Detection: From Conventional Methods to Next-Generation Technologies for Enhanced Hormone Monitoring. *ACS Sensors*, **9**, 1666-1681. <https://doi.org/10.1021/acssensors.3c01912>
- [39] Frasconi, M., Mazzarino, M., Botrè, F. and Mazzei, F. (2009) Surface Plasmon Resonance Immunosensor for Cortisol and Cortisone Determination. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **394**, 2151-2159. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-2914-6>
- [40] Pinto, V., Sousa, P., Catarino, S.O., Correia-Neves, M. and Minas, G. (2017) Microfluidic Immunosensor for Rapid and Highly-Sensitive Salivary Cortisol Quantification. *Biosensors and Bioelectronics*, **90**, 308-313. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.11.067>
- [41] Yamaguchi, M., Matsuda, Y., Sasaki, S., Sasaki, M., Kadoma, Y., Imai, Y., *et al.* (2013) Immunosensor with Fluid Control Mechanism for Salivary Cortisol Analysis. *Biosensors and Bioelectronics*, **41**, 186-191. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2012.08.016>
- [42] Zhang, M., Li, C. and Huang, C. (2024) A Facile Electrochemical Cortisol Sensing Based on Zinc Oxide Nanostructures for Monitoring Stress and Recovery in High-Performance Athletes. *Alexandria Engineering Journal*, **88**, 145-154. <https://doi.org/10.1016/j.aej.2023.12.068>

- [43] Dhull, N., Kaur, G., Gupta, V. and Tomar, M. (2019) Highly Sensitive and Non-Invasive Electrochemical Immunosensor for Salivary Cortisol Detection. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **293**, 281-288. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.05.020>
- [44] Stevens, R.C., Soelberg, S.D., Near, S. and Furlong, C.E. (2008) Detection of Cortisol in Saliva with a Flow-Filtered, Portable Surface Plasmon Resonance Biosensor System. *Analytical Chemistry*, **80**, 6747-6751. <https://doi.org/10.1021/ac800892h>
- [45] Ahmed, T., Powner, M.B., Qassem, M. and Kyriacou, P.A. (2024) Rapid Optical Determination of Salivary Cortisol Responses in Individuals Undergoing Physiological and Psychological Stress. *Scientific Reports*, **14**, Article No. 31578. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-69466-5>
- [46] Malon, R.S.P., Sadir, S., Balakrishnan, M. and Córcoles, E.P. (2014) Saliva-Based Biosensors: Noninvasive Monitoring Tool for Clinical Diagnostics. *BioMed Research International*, **2014**, Article ID: 962903. <https://doi.org/10.1155/2014/962903>
- [47] Løvås, K., Thorsen, T.E. and Husebye, E.S. (2006) Saliva Cortisol Measurement: Simple and Reliable Assessment of the Glucocorticoid Replacement Therapy in Addison's Disease. *Journal of Endocrinological Investigation*, **29**, 727-731. <https://doi.org/10.1007/bf03344183>
- [48] de Weerth, C., Graat, G., Buitelaar, J.K. and Thijssen, J.H.H. (2003) Measurement of Cortisol in Small Quantities of Saliva. *Clinical Chemistry*, **49**, 658-660. <https://doi.org/10.1373/49.4.658>
- [49] Raff, H., Raff, J.L. and Findling, J.W. (1998) Late-Night Salivary Cortisol as a Screening Test for Cushing's Syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **83**, 2681-2686. <https://doi.org/10.1210/jc.83.8.2681>
- [50] Laudenslager, M.L., Noonan, C., Jacobsen, C., Goldberg, J., Buchwald, D., Bremner, J.D., *et al.* (2009) Salivary Cortisol among American Indians with and without Posttraumatic Stress Disorder (PTSD): Gender and Alcohol Influences. *Brain, Behavior, and Immunity*, **23**, 658-662. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2008.12.007>
- [51] Smeets, M.M., Vandenbossche, P., Duijst, W.L., Mook, W.N.v. and Leers, M.P.G. (2021) Validation of a New Method for Saliva Cortisol Testing to Assess Stress in First Responders. *Emergency Medicine Journal*, **38**, 297-302. <https://doi.org/10.1136/emmermed-2019-209205>
- [52] Xing, K., Shan, S., Liu, D. and Lai, W. (2020) Recent Advances of Lateral Flow Immunoassay for Mycotoxins Detection. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **133**, Article ID: 116087. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.116087>
- [53] 刘晓东, 乔荷, 孟祥娟, 等. 唾液中皮质醇测定的液相色谱-质谱法[J/OL]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2019, 37(2): 143-146.
- [54] Jönsson, B.A.G., Malmberg, B., Amilon, Å., Helene Garde, A. and Ørbæk, P. (2003) Determination of Cortisol in Human Saliva Using Liquid Chromatography-Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography B*, **784**, 63-68. [https://doi.org/10.1016/s1570-0232\(02\)00753-5](https://doi.org/10.1016/s1570-0232(02)00753-5)
- [55] Rezapoor-Fashtali, Z., Ganjali, M.R. and Faridbod, F. (2022) A Novel Electrochemical Aptasensor Based on a New Platform of Samarium Molybdate Flower-Like Nanoparticles@poly(pyrrole) for Non-Invasive Determination of Saliva Cortisol. *Biosensors*, **12**, Article No. 720. <https://doi.org/10.3390/bios12090720>
- [56] Domsicova, M., Korcekova, J., Poturnayova, A. and Breier, A. (2024) New Insights into Aptamers: An Alternative to Antibodies in the Detection of Molecular Biomarkers. *International Journal of Molecular Sciences*, **25**, Article 6833. <https://doi.org/10.3390/ijms25136833>
- [57] Ran, J., Luo, D. and Liu, B. (2022) A Dual-Mode Biosensor for Salivary Cortisol with Antibody-Aptamer Sandwich Pattern and Enzyme Catalytic Amplification. *Journal of Solid State Electrochemistry*, **27**, 399-408. <https://doi.org/10.1007/s10008-022-05313-9>
- [58] Kusov, P.A., Kotelevtsev, Y.V. and Drachev, V.P. (2023) Cortisol Monitoring Devices toward Implementation for Clinically Relevant Biosensing *in Vivo*. *Molecules*, **28**, Article No. 2353. <https://doi.org/10.3390/molecules28052353>
- [59] Ronkainen, N. and Okon, S. (2014) Nanomaterial-Based Electrochemical Immunosensors for Clinically Significant Biomarkers. *Materials*, **7**, 4669-4709. <https://doi.org/10.3390/ma7064669>
- [60] Li, C., Hu, J., Hu, N., Zhao, J., Li, Q., Han, Y., *et al.* (2024) Aptamer-Aided Plasmonic Nano-Urchins for Reporter-Free Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Analysis of Cortisol. *Analytical Methods*, **16**, 3067-3073. <https://doi.org/10.1039/d4ay00401a>
- [61] Hulett, J.M., Fessele, K.L., Clayton, M.F. and Eaton, L.H. (2019) Rigor and Reproducibility: A Systematic Review of Salivary Cortisol Sampling and Reporting Parameters Used in Cancer Survivorship Research. *Biological Research for Nursing*, **21**, 318-334. <https://doi.org/10.1177/1099800419835321>
- [62] Tanaka, Y. and Naruishi, N. (2008) Development of an On-Site Measurement System for Salivary Stress-Related Substances Based on Microchip Capillary Electrophoresis Technology. *Yakugaku Zasshi*, **128**, 1595-1604. <https://doi.org/10.1248/yakushi.128.1595>