DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260228001
引用格式: 刘子琰, 安针针, 刘旸, 等. 食品中克罗诺杆菌的检测方法研究进展与展望[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(12): 1–10.
LIU ZY, AN ZZ, LIU Y, *et al*. Research progress on detection methods for *Cronobacter* in foods [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(12): 1–10. (in Chinese with English abstract).

食品中克罗诺杆菌的检测方法研究进展

刘子琰[1], 安针针[1], 刘　旸[2], 王　飞[2], 凌　莉[3], 季　超[1], 赵良娟[1*], 郑文杰[1*]

(1. 天津师范大学动植物抗性重点实验室, 天津　300387; 2. 天津海关动植物与食品检测中心, 天津　300461; 3. 广州海关技术中心, 广州　510423)

摘　要: 克罗诺杆菌是一种常见的致病菌, 可引起新生儿和婴儿脑膜炎、败血症和坏死性小肠结肠炎, 严重者可引起神经系统后遗症, 严重威胁婴幼儿食品安全与公众健康, 因此建立高效、准确的检测方法具有重要意义。本文系统综述了食品中克罗诺杆菌检测技术的研究进展, 并按照“培养确证-快速筛查-活菌定量-现场检测-智能解析”的层级逻辑进行归纳。传统培养法仍是获得活菌分离株、结果确证及后续溯源分析的基础; 免疫富集、实时荧光定量聚合酶链式反应/数字聚合酶链式反应及等温扩增技术提高了低丰度样品的筛查效率和定量能力; 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法、代谢组学、表面增强拉曼光谱和流式细胞术拓展了快速鉴定、表型解析和细胞状态评价的应用边界; 纳米材料、微流控芯片、生物传感器及便携式平台进一步促进了检测方法的集成化、现场化和高灵敏化。此外, 人工智能在基因组溯源、传感信号解析、图像识别及多源数据融合中的应用, 为检测结果的智能判读提供了新思路。本文重点分析各类方法的互补关系、适用场景及转化瓶颈, 为食品安全监管提供更强有力的技术支撑。

关键词: 克罗诺杆菌; 生化检测; 酶联免疫吸附测定法; 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法; 纳米传感器; 人工智能

Research progress on detection methods for *Cronobacter* in foods

LIU Zi-Yan[1], AN Zhen-Zhen[1], LIU Yang[2], WANG Fei[2], LING Li[3], JI Chao[1], ZHAO Liang-Juan[1*], ZHENG Wen-Jie[1*]

(1. *Key Laboratory of Animal and Plant Resistance*, *Tianjin Normal University*, *Tianjin* 300387, *China*; 2. *Animal and Plant and Foodstuff Inspection Center*, *Tianjin Customs*, *Tianjin* 300461, *China*; 3. *Technical Center of Guangzhou Customs*, *Guangzhou* 510423, *China*)

ABSTRACT: *Cronobacter* are common pathogenic bacteria that can cause meningitis, septicemia and necrotizing enterocolitis in neonates and infants. Severe infections may lead to neurological sequelae, posing a serious threat to infant food safety and public health. Therefore, the establishment of efficient and accurate detection methods is great

收稿日期: 2026-02-28
基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFF110805); 海关总署科技计划项目(2024HK105)
第一作者: 刘子琰(2004—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: leftssay020408@gmail.com
***通信作者:** 赵良娟(1979—), 女, 硕士, 研究员, 主要研究方向为食品安全与分子生物学。E-mail: zhao9899@sina.com
郑文杰(1969—), 女, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: skyzwj@tjnu.edu.cn

significance. This review systematically summarized recent advances in the detection technologies for *Cronobacter* in foods and organized them according to a hierarchical framework of “culture-based confirmation-rapid screening-viable-cell quantification-on-site detection-intelligent interpretation”. Conventional culture-based methods remain fundamental for obtaining viable isolates, confirming results and supporting subsequent source-tracing analysis. Immunoenrichment, real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction/digital polymerase chain reaction and isothermal amplification technologies had improved the screening efficiency and quantitative capability for low-abundance samples. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, metabolomics, surface-enhanced Raman spectroscopy and flow cytometry had expanded the application boundaries of rapid identification, phenotypic characterization and cellular state evaluation. Nanomaterials, microfluidic chips, biosensors and portable platforms had further promoted the integration, field applicability and high sensitivity of detection methods. In addition, the application of artificial intelligence in genomic source tracing, sensor signal analysis, image recognition and multi-source data fusion provides new perspectives for the intelligent interpretation of detection results. This review focused on the complementary relationships, applicable scenarios and translational bottlenecks of different detection methods, thereby providing stronger technical support for food safety supervision.

KEY WORDS: *Cronobacter*; biochemical detection; enzyme-linked immunosorbent assay; matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry; nanosensor; artificial intelligence

0 引 言

克罗诺杆菌, 是一种革兰氏阴性致病菌, 曾用名阪崎肠杆菌, 属于肠杆菌科[1], 菌落呈现圆形、微凸、光滑湿润、黄色、边缘整齐的特征, 直径约 2~3 mm[2]。克罗诺杆菌具备极强的环境适应能力, 生存范围广泛, 可定植于土壤、水体、空气尘埃及食品加工等各类环境中[3]。在婴儿配方奶粉(powdered infant formula, PIF)、普通奶制品、熟肉制品、海产品、蛋类、果蔬、坚果、面粉等各类零售食品, 以及饮用水、食品加工原料和生产环境中均可被检出, 污染覆盖食品生产全链条场景。致病菌引起的食源性疾病是全球重要的公共卫生安全问题, 克罗诺杆菌引起的污染风险更是备受国际关注[4]。2002 年, 国际食品微生物规范委员会将克罗诺杆菌定义为“对有限种群具有严重风险, 具有死亡威胁或长期慢性后遗症”[5]。不同人群感染克罗诺后的症状差异显著, 其中新生儿由于免疫系统发育不完善, 感染后极易引发如坏死性小肠结肠炎、菌血症和脑膜炎等严重疾病, 病死率高达 40%~80%; 成人感染后多导致轻度胃肠道症状、腹泻和尿路感染, 而老年人和免疫功能低下的成年人最易感染克罗诺杆菌。

食品生产链涵盖了原料采购、加工、包装、储存和运输等多个环节, 任一环节的管控疏漏均可能引发克罗诺杆菌污染, 进而造成食品安全隐患。因此, 开展食品中克罗诺杆菌的精准检测具有重要意义, 不仅能够精准筛查食品尤其是婴幼儿高危食品中的致病菌污染源, 从源头阻断感染传播路径、降低人群患病风险, 还可实现食品生产全流程的安全监控, 及时排查污染隐患、落实整改管控措施[6]。

现阶段, 食品基质成分复杂且克罗诺杆菌污染浓度普遍较低, 给常规检测工作带来极大挑战。为突破传统检测技术局限, 各类新型检测方法持续迭代发展, 且呈现出多技术交叉融合的发展趋势。基于此, 本文系统梳理食品中克罗诺杆菌各类检测技术的最新研究进展, 重点分析不同方法的技术特点、互补关系、适用场景及实际应用瓶颈, 为检测方法优化和标准化评价提供参考。

1 传统检测方法

1.1 生理生化检测法

生理生化检测法是依据克罗诺杆菌独特的生理特性和生化反应特征来实现检测的, 该方法为后续检测技术的发展提供了重要的理论与实践支撑。

1.1.1 常规培养鉴定法

常规培养鉴定法是目前公认的检测克罗诺杆菌的金标准, GB 4789.40—2024《食品安全国家标准 食品微生物学检验 克罗诺杆菌检验》规定了鉴定流程, 利用克罗诺杆菌在显色培养基上的特征性反应进行初步筛选, 并结合后续鉴定实现确证[1]。检测结果具有较高的可信度和权威性, 但整个检测过程耗时较长, 至少需要 5 d 时间; 此外步骤烦琐, 增加了实验过程中污染的风险, 且对操作人员无菌操作和菌落形态判读的经验要求较高。适用于食品中克罗诺杆菌的法定确证与计数, 在监管抽检、司法鉴定及出口贸易检测中, 培养法阳性结果是判定产品不合格的唯一法定证据。因此, 培养法更适合作为检测体系中的“终点确证方法”, 而非大批量样品或现场样品的唯一筛查手段。

1.1.2　生化鉴定试剂盒法

生化鉴定试剂盒法是常规培养法的标准化延伸与微型化改良。其原理基于克罗诺杆菌属内各菌种间生化代谢谱的差异, 该方法显著提升了操作的标准化程度与重复性。近年来, 该类方法更多与其他分子或质谱技术共同用于分离株复核, 以提高近缘菌区分能力。BHARTI 等[7]对选定的分离株进行革兰氏染色和氧化酶检测, 革兰氏阴性和氧化酶阴性分离株进一步使用 Hi25TM 肠杆菌科鉴定试剂盒(HiMedia)进行一系列生化检测, 该方法采用了 25 项生化试验, 对具有克罗诺杆菌生化反应特征的分离株进行了进一步的分子表征。

生化鉴定试剂盒法可在 1~2 d 内完成疑似菌落确证, 操作较为标准化, 但成本较高, 且对生化特性不典型菌株的鉴定准确性有限。传统检测方法以活菌确证为优势, 但周期较长, 主要适用于法定判定与实验室确证, 见表 1。

1.2　免疫学检测技术

免疫学检测技术基于抗原与抗体之间的特异性识别, 常用于克罗诺杆菌的快速筛查和富集分离。研究重点已由单一抗原识别逐步转向“靶向富集—基质净化—信号放大”的模块化应用。

1.2.1　酶联免疫吸附测定法

酶联免疫吸附测定法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)是一种极为常用的免疫学检测技术, 可通过酶标信号放大实现克罗诺杆菌抗原或菌体成分的检测[8]。WU 等[9]开发了一种基于 DNA 引导金纳米颗粒生长的等离子体 ELISA, 用于检测婴儿配方粉中的克罗诺杆菌。该方法利用 DNA 调控金纳米颗粒的生长过程, 使其形态及溶液颜色随目标信号变化而改变, 从而实现克罗诺杆菌的可视化检测。该策略为快速可视化筛查提供了新思路, 但需注意样本预处理以降低基质干扰, 并通过优化抗体或引入多重检测技术拓展应用场景。

ELISA 兼具免疫反应的特异性与酶催化的高灵敏度, 可检测低至纳克级的目标分子, 适用于痕量物质分析, 特异性强、操作简便并且成本较低, 且借助酶标仪可实现高通量检测。其主要局限性在于检测结果反映的是靶标抗原含量而非活菌状态, 死菌碎片同样会引发阳性信号; 该方法依赖抗体质量且检测范围有限, 复杂样本中的杂质可能导致假阳性或假阴性结果, 属于半定量方法, 定量精度不足[10]。因此, 该方法更适用于婴幼儿配方乳粉加工环境和生产过程中的快速预警及初步筛查。

1.2.2　电化学免疫传感器

电化学免疫传感器通过抗原-抗体特异性识别, 将克罗诺杆菌捕获过程转化为可测量的电化学信号, 具有响应快、灵敏度高和便于便携化检测等特点[11]。SHUKLA 等[12]利用氧化石墨烯/金复合材料, 建立了克罗诺杆菌检测的灵敏电化学免疫传感平台, 将阪崎克罗诺杆菌抗体共价固定在氧化石墨烯/Au 复合涂层玻璃碳电极表面的 Au 纳米颗粒上, 利用循环伏安法和差分脉冲伏安法对免疫功能化玻璃碳电极的电化学传感性能进行了表征, 无需任何富集或预富集步骤, 克罗诺杆菌电化学免疫感应检测的回收率均在 82.58%以上。

电化学免疫传感器相较于传统 ELISA 具有检测速度快、仪器小型化潜力高、不受样品颜色和浊度影响等优势。核心挑战在于婴幼儿配方粉基质中高浓度乳蛋白与脂肪在电极表面的非特异性吸附, 需依赖免疫磁珠预富集或超滤前处理来降低基质干扰。适用于液体样品体系中克罗诺杆菌的在线或便携监测。随着微流控芯片与智能手机电化学读卡器的集成, 其在现场执法与工厂自检场景中的应用潜力逐步显现, 有望成为传统 ELISA 的免标记、快速替代方案。

1.2.3　免疫磁珠分离技术

免疫磁珠分离技术(immunomagnetic separation, IMS)是一种克罗诺杆菌快速检测中常用的富集与净化手段, 其核心作用在于利用抗体修饰磁珠特异性捕获目标菌, 并借助磁场实现目标菌与食品基质及非目标微生物的快速分离, 从而提高后续检测的灵敏度和准确性[13]。姚骅珊等[14]采用链霉亲和素-生物素系统构建了克罗诺杆菌免疫磁珠, 在纯培养体系中捕获率超过 80.5%; 在模拟实际污染的奶粉、米粉等复杂食物样品中, 捕获效率仍能达到 61.1%以上, 且非特异性吸附率始终低于 5.0%。该方法操作简便、捕获效率高、特异性强, 为食品中克罗诺杆菌的快速、灵敏检测提供了有效的富集手段。

IMS 是婴幼儿配方粉中低污染水平克罗诺杆菌检测的关键增效模块。其常与实时荧光聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)联用组成 IMS-PCR 快速检测体系, 或与显色培养基联用以提升低菌量样品的目标菌分离成功率。该方法在应对奶粉中克罗诺杆菌痕量污染调查及监管抽检复验中具有重要应用价值。

表 1　传统检测方法对比

Table 1　Comparison of traditional detection methods

技术名称	检测对象	是否需增菌	能否区分活/死菌	检测时间/d	检出限	成本	适用场景
常规培养鉴定法	活菌	是	是	5~7	1 CFU/100 g	中等	法定确证、监管抽检、司法鉴定
生化鉴定试剂盒法	纯化菌落	否	否	1~2	需纯菌落	中等偏高	实验室分离菌落快速确证

1.2.4 侧流免疫层析技术

侧流免疫层析法(lateral flow immunochromatography assay, LFIA)是一类适用于现场快速筛查的免疫检测技术, 具有操作简便、无需复杂仪器、结果可视化等特点。针对克罗诺杆菌的LFIA多以特异性抗体和胶体金等纳米标记物为核心, 通过检测线显色实现结果判读, 适用于婴幼儿配方乳粉生产环境、原料验收及设备清洗效果等场景的快速评估。PAN等[15]提出一种浓缩金纳米颗粒增强型LFIA策略, 通过提高检测区抗体局部浓度并增强金纳米颗粒信号聚集效应, 实现了信号放大, 该试纸条检出限达 10^3 CFU/mL, 灵敏度较传统方法提高 100 倍, 检测时间缩短 3 h, 且具有高度特异性, 适用于快速可视化即时检测。

总体来看, LFIA 的优势在于检测速度快、便携性强、结果判读直观, 适合基层监管、工厂自检及生产现场的初步筛查。与 ELISA 等实验室方法相比, 其更强调“即时检测”和“快速预警”功能; 检测结果不能区分死活菌, 且高浓度靶标可能导致“钩状效应”假阴性。

免疫学检测技术基于抗原-抗体特异性识别, 检测速度快、操作简便, 适合现场筛查与大批量样品预警, 见表 2。

表 2 免疫学检测技术对比

Table 2 Comparison of immunological detection techniques

技术名称	检测对象	是否需增菌	能否区分活/死菌	检测时间	检出限	成本	适用场景
ELISA	抗原	无需增菌	否	2~4 h	较高(ng 级)	低	大批量样品快速预警筛查
电化学免疫传感器	活菌/死菌	无需增菌	否	15~30 min	高	中等	液体样品在线/便携监测
IMS	活菌	否	否	<1 h(富集)	无	中等	痕量目标菌富集与样品纯化
LFIA	抗原	无需增菌	否	15~30 min	低(10^3 CFU/mL)	极低	基层监管、工厂自检及生产现场的初步筛查

2 分子生物学检测方法

2.1 聚合酶链式反应技术

2.1.1 普通聚合酶链式反应技术

普通 PCR 是克罗诺杆菌分子鉴定中应用较早且较成熟的技术, 常以 *16S rRNA*、*ompA*、*gyrB* 及 *ITS* 等基因为靶标, 通过特异性引物扩增实现菌株鉴定[16]。DAS 等[17]利用 ITS 特异性 PCR 对印度孟买零售海鲜样品中的克罗诺杆菌分离株进行鉴定, 并结合序列分析进一步区分菌种, 在 2 株克罗诺杆菌分离株中检测到毒力基因 *ompA*。BERTHOLD-PLUTA 等[18]采用限制性片段长度多态性聚合酶链式反应法(polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)和随机扩增多态性 DNA 聚合酶链式反应法(random amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction, RAPD-PCR)对坚果、干果、种子及其混合物中的克罗诺杆菌进行鉴别, 分离出 3 种克罗诺杆菌, 该研究结果为植物源产品中克罗诺杆菌的存在和种类鉴定提供了依据。

PCR 技术操作相对简便, 对实验设备的要求不高, 一般在数小时内即可完成扩增反应, 相较于传统培养方法, 效率有了显著提升[19]。但作为基础分子检测方法, 其局限也较为明确: 检测容易受引物特异性、扩增污染等因素的影响, 灵敏度受制于增菌效率与奶粉基质中残留抑制物的影响, 且无法区分死活菌。近年来, 普通 PCR 不再是快速检测技术创新的核心, 更多用于分离株分子辅助鉴定、靶基因验证及流行病学研究中的前置扩增, 可配合国标培养法对可疑菌落进行种属确认, 并为全基因组测序等溯源分析提供基础支撑。

2.1.2 实时荧光定量聚合酶链式反应技术

实时荧光定量聚合酶链式反应法(real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction, qPCR)是在普通 PCR 基础上发展起来的核酸定量检测技术, 可通过实时监测荧光信号实现克罗诺杆菌靶基因的快速检测与半定量分析[20]。与普通 PCR 相比, qPCR 具有灵敏度高、扩增后无需开盖检测、污染风险低和适合高通量筛查等优势。ZHANG 等[21]采用了一种将噬菌体扩增检测法(phage amplification assay, PAA)与 qPCR 相结合的新方法, 通过扩增阪崎克罗诺杆菌噬菌体 EspYZU12 并结合噬菌体特异性定量聚合酶链反应来检测牛奶样本中的活菌, 该策略在一定程度上弥补了传统 qPCR 无法区分活菌与死菌的不足, 体现了 qPCR 与生物富集或活菌指示体系联用的发展趋势。

qPCR 具有灵敏度高、定量能力好、大幅降低气溶胶污染风险的优势, 且可通过标记不同荧光基团实现多重检测以区分克罗诺杆菌属内不同种。其主要不足在于仪器成本较高, 定量依赖标准曲线校准; PIF 中脂质、多糖及蛋白残留对 Taq 酶活性具有潜在抑制作用, 可能造成假阴性结果。适用于大型乳品企业、第三方检测机构及监管实验室中克罗诺杆菌的快速筛查和半定量监控, 也可作为培养法确证的平行补充手段。

2.1.3　数字聚合酶链式反应技术

数字聚合酶链式反应法(digital polymerase chain reaction, dPCR)是在 qPCR 基础上进一步发展的绝对定量技术[22–23], 将含有克罗诺杆菌靶基因的 PCR 反应体系随机分割至数万个微液滴中, 使靶核酸呈泊松分布, 经扩增后通过计数阳性单元数实现对目标核酸的绝对计数。吕新瑞[24]将 IMS、改进的叠氮溴化丙啶(propidium monoazide, PMA)以及微滴 dPCR 相结合, 构建了针对 PIF 中痕量残留克罗诺杆菌的富集、染色和定量检测体系, 并用于分析抗生素作用下活的非可培养状态菌的动态变化, 为 PIF 中克罗诺杆菌的快速精准定量检测提供了一种有力的工具。

dPCR 代表了克罗诺杆菌核酸检测由“快速筛查”向“活菌精准定量”发展的方向, 其优势在于不需要标准校准曲线以及扩增效率和 PCR 抑制剂对结果的影响较小[25]。然而, 该类方法仍受设备和耗材成本、通量、自动化水平和样品前处理标准化制约, 更适合高风险样品复核、工艺杀菌效果评价和实验室方法验证等场景。

2.2　等温扩增技术

2.2.1　环介导等温扩增技术

环介导等温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)是 CHEN 等[25]开发的一种新型恒温核酸扩增技术。以克罗诺杆菌靶基因保守区域为扩增对象, 通过多条特异性引物和链置换 DNA 聚合酶, 在 60~65 ℃恒温条件下完成核酸扩增。张懿翔等[26]将 LAMP 结合基因编辑技术, 通过基因组比较寻找克罗诺杆菌菌株基因内部的候选保守序列, 针对克罗诺杆菌特异性关键基因序列设计 LAMP 引物和向导 RNA 靶向序列, 并用人工污染的加标样品验证该方法的可行性, 结果表明该方法可用于乳粉中克罗诺杆菌属的快速检测。

LAMP 适合需要快速得出定性结果的场景(如食品出厂检验、疫情应急响应)。其核心优势在于操作简便、低成本、高速度、结果可视化。但需注意引物优化和污染控制, 扩增产物为长链 DNA, 易通过气溶胶传播, 需严格分区操作[27–28]。

2.2.2　重组酶聚合酶等温扩增技术

重组酶聚合酶等温扩增技术(recombinase polymerase amplification, RPA)是一种新型的等温核酸扩增技术, 通过重组酶介导引物与靶 DNA 结合, 并在单链结合蛋白和 DNA 聚合酶协同作用下, 于等温条件下快速完成核酸扩增[29]。扩增结果可结合 LFIA 试纸条、电化学试验、化学发光试验和基于硅微谐振器的光子试验以及实时监测来检测扩增产物[30]。郝娟等[31]使用 RPA 方法对 560 个婴幼儿食品样本进行了克罗诺杆菌检测, 辅以传统培养法和实时荧光 PCR 法加以验证检测结果。研究表明, 3 种方法的定性检测结果一致, RPA 检测效率较为优越, 适用于样品的初筛和现场快速检测, 有利于及时应对食品突发事件。

RPA 以其超快速、等温、便携的特性, 成为微生物检测和分子诊断领域的重要补充技术, 尤其在即时检测和应急响应中具有不可替代的优势[32]。但商业化试剂盒成本较高, 易受复杂基质影响, 且多为定性或半定量检测, 难以区分死活菌。与免疫磁珠富集或侧向流试纸条联用后, 有望实现婴幼儿配方粉生产环境与原料验收环节的“即时分子诊断”, 适合基层抽检。

分子生物学检测方法已形成较清晰的层级分工: 普通 PCR 适用于分离株确证和靶标验证, qPCR 适用于高通量快速筛查, dPCR 适用于绝对定量和痕量复核, LAMP/RPA 适用于现场检测, 见表 3。

3　质谱方法

质谱方法在克罗诺杆菌检测中的优势是对分离菌株进行快速、高通量鉴定, 并为分型溯源、代谢表型解析和风险机制研究提供补充信息。近年相关研究主要集中在前处理简化、谱库完善、近缘种区分和多组学数据整合等方面。

3.1　基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱技术

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法(matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)是目前微生物快速鉴定中较为成熟的质谱技术, 其原理是将克罗诺杆菌单菌落

表 3　分子生物学检测技术对比

Table 3　Comparison of molecular biology detection techniques

技术名称	检测对象	是否需增菌	能否区分活/死菌	检测时间	检出限	成本	适用场景
普通 PCR	DNA	需要短时增菌	否	3~4 h	中等	低	实验室分离菌株分子辅助鉴定
qPCR	DNA	需要短时增菌	否	2~3 h	高	中等	高通量快速筛查与半定量监控
dPCR	DNA	无需增菌	否	2~3 h	极高(绝对定量)	高	痕量污染精准定量、标准物质定值
LAMP	DNA	需要短时增菌	否	<1 h	高	低	现场快速定性检测、应急响应
RPA	DNA	需要短时增菌	否	15~30 min	高	中等	样品初筛、即时检测

与基质共结晶后经激光电离，获得质荷比指纹图谱，并与数据库比对实现属或种水平鉴定[33]。SONG 等[34]开发并优化了一种直接鉴定液体培养基中克罗诺杆菌的 MALDI-TOF MS 预处理方法，并通过响应面法优化关键参数，提高了菌株鉴定分数和结果稳定性。该研究为 PIF 生产环境和 PIF 样品中克罗诺杆菌的检测提供了方法参考。

MALDI-TOF MS 具有快速、准确、通量高的优势，但罕见种可能存在盲区，且需要专业的设备和操作人员，检测成本较高，在基层检测机构应用受限，更适合大型检测机构对培养阳性菌落进行快速复核和高通量鉴定，而不宜脱离增菌与分离步骤直接作为低菌量 PIF 样品的终点检测。

3.2 代谢组学质谱技术

代谢组学质谱主要用于解析克罗诺杆菌在干燥、热处理和消毒剂胁迫下的代谢适应机制[35]。与 MALDI-TOF MS 主要用于菌株快速鉴定不同，代谢组学质谱更强调从代谢表型层面揭示克罗诺杆菌的生理变化和环境适应特征。LIN 等[36]采用超高效液相色谱-质谱技术(ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry, UPLC-MS)与核磁共振技术(nuclear magnetic resonance, NMR)双平台代谢组学，系统分析了氯、季铵盐、60 °C 加热及苹果酸处理对浮游态、风干态及风干-清洗态阪崎克罗诺杆菌的代谢影响。结果表明，不同消毒策略的抑菌效果与细菌生理状态密切相关，相关处理可引起氨基酸代谢、膜完整性、渗透保护及抗氧化通路等变化，为 PIF 加工环境中消毒工艺优化提供了代谢层面的依据。

代谢组学质谱的独特优势在于可从代谢表型层面区分近缘种、鉴定死活菌代谢差异，并有望绕过纯培养步骤直接分析食品基质顶空气体。但该技术目前仍以科研探索为主，设备昂贵、数据处理复杂、标准化代谢数据库尚未建立，限制了其在常规检测中的普及。

4 物理检测方法

4.1 拉曼光谱

表面增强拉曼散射技术(surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS)可通过检测克罗诺杆菌细胞中核酸、蛋白质、脂质等分子的拉曼指纹信号，并结合化学计量学或机器学习模型，实现细菌的快速、无标记鉴别[37]，作为超灵敏分析工具广泛应用于疾病诊断、生物标志物检测、细胞成像和治疗监测等领域。与传统检测方法不同，SERS 更强调对细胞整体生化组成的快速表征，具有检测速度快、样品消耗少和单细胞分析潜力等特点。NICIŃSKI 等[38]通过 SERS 结合主成分分析、基因测序和介电泳等技术，对来自食品和临床样本的 52 株肠杆菌科细菌进行了分析。结果表明，SERS 能够在 45 s 内实现对细菌的高通量、无标记检测，准确率高达 98%。其光谱特征能够有效区分克罗诺杆菌与大肠杆菌、沙门氏菌、阴沟肠杆菌等不同属细菌，但在克罗诺杆菌属内不同种的精细区分方面仍存在一定局限。该研究为 SERS 在食品安全快速检测领域的标准化和实际应用提供了重要数据支撑。

SERS 的核心吸引力在于单细胞水平分析能力、无需标记或试剂、检测速度快，且可在水环境中直接测量，尤其适合活体分析。主要不足在于拉曼散射信号微弱易受荧光背景干扰；图谱解析依赖复杂算法，标准化程度不足。拉曼光谱适用于单细胞水平快速鉴别、生物被膜组成原位分析及胁迫损伤状态的免标记评估，是未来非破坏性快速鉴定与单细胞分选联用潜力的代表性技术。

4.2 流式细胞术

流式细胞术是一种能够在单细胞水平进行快速、多参数分析的物理检测技术，通过采集细胞散射光和荧光染色信号，对克罗诺杆菌的细胞数量、膜完整性及生理状态进行快速评估[39]。该技术还可进一步反映受损细胞和可存活但不可培养(viable but non-culturable, VBNC)状态细胞的存在，因此在食品加工过程杀菌效果评价中具有重要意义。CAL-SABATER 等[40]研究应用 SYTO9 和碘化丙啶双染色结合流式细胞术，系统分析了不同热处理条件下阪崎肠杆菌的膜完整性变化，60 ℃和 65 ℃的温和热处理虽能显著降低活菌平板计数，但产生了大量膜受损或 VBNC 状态细胞；而 100 ℃处理则能完全灭活细菌。该结果证实，PIF 冲调过程中若使用低于 70 ℃的热水，无法彻底杀灭克罗诺杆菌，构成食品安全隐患。

流式细胞术具有快速、高通量和单细胞分析优势，可用于区分克罗诺杆菌活菌、死菌及受损细胞状态，弥补传统平板计数法对受损细胞检出不足的问题。由于其对样品纯度和菌体浓度要求较高，实际应用中常需结合短时预增菌或免疫磁珠富集等前处理，更适用于大量样品快速初筛及杀菌工艺效果评价[41]。

质谱及物理检测方法可弥补传统培养法和分子生物学方法在高通量鉴定、无标记分析及细胞状态评价方面的不足，但设备成本较高，适用于实验室确证与生理状态评估，见表 4。

5 新型检测技术与方法

5.1 纳米技术在检测中的应用

纳米材料由于其独特的物理化学性质，如高比表面积、量子尺寸效应、表面等离子体共振等，在克罗诺杆菌检测中展现出了卓越的性能。姜毓君等[42]开发了一种基于磁捕获的纳米金比色法快速检测阪崎克罗诺杆菌的方法。该方法通过氨基磁珠孵育捕获目标 DNA 并进行 PCR 扩增，扩增产物与 DNA 探针修饰的胶体金进行杂交，最终通过肉眼即可判断检测结果，无需复杂的仪器设备，操作简便快捷。

表 4　质谱及物理检测技术对比
Table 4　Comparison of mass spectrometry and physical detection techniques

技术名称	检测对象	是否需增菌	能否区分活/死菌	检测时间	检出限	成本	适用场景
MALDI-TOF MS	菌体蛋白	是(需纯菌落)	否	分钟级(对纯菌落)	需纯菌落	高	实验室高通量菌落快速确证
代谢组学质谱	代谢产物	可无需增菌	潜在可能	小时级	高	极高	代谢机制研究、种内异质性分析
SERS	细胞生化成分	可无需增菌	潜在可能	分钟级(秒级)	高	高	单细胞水平无标记快速鉴别
流式细胞术	单个细胞	需要富集	是	分钟级	中等(需富集)	高	大批量样本初筛、细菌生理状态评估

纳米检测方法的突出优势在于灵敏度高、响应速度快、样品用量少。但其仍存在纳米探针批次稳定性不足、规模化制备困难以及复杂食品基质干扰等问题。未来突破方向在于发展抗基质干扰的纳米界面修饰策略, 建立行业公认的方法学评估标准, 并推动便携式检测平台的实际应用。

5.2　微流控芯片技术

微流控芯片技术是一种基于微机电系统(micro-electro-mechanical systems, MEMS)技术发展起来的前沿技术, 它通过在微小的芯片上构建微通道、微阀门、微泵等微流控元件, 实现对微升、纳升甚至皮升量级流体的精确操控和分析[43]。CHEN 等[44]制备了聚二甲基硅氧烷(polydimethylsiloxane, PDMS)微流控芯片, 并基于克罗诺杆菌的 *16S rRNA* 和 *ITS* 基因, 在微流控芯片上建立了一种多重竞争性退火介导等温扩增法(multiplex competitive annealing mediated isothermal amplification, mCAMP), 用于 PIF 样品中克罗诺杆菌的可视化检测。该方法结果可肉眼判读, 适用于资源有限条件下的快速筛查。

该技术试剂消耗少、反应速度快, 且封闭式设计能有效防污染, 便携性突出; 但芯片加工精度要求高, 奶粉中脂肪与蛋白易堵塞通道或干扰反应, 难以区分死活菌。主要用于乳品企业现场自检和基层监管快速初筛, 常与 LAMP 等等温扩增技术联用。对于 PIF 等高风险基质, 芯片检测更适合作为前端筛查模块, 阳性结果仍需培养法复核。

5.3　生物传感器

生物传感器是一种将生物识别信号转换为可量化电学或光学信号的分析装置, 在致病菌快速检测领域展现出巨大潜力。通常以抗体或核酸适配体作为识别元件, 固定于换能器表面, 当靶菌与其特异性结合后, 可产生可量化信号, 实现快速检测[45]。该领域的研究前沿集中于信号放大策略的创新, 例如结合滚环扩增(rolling circle amplification, RCA)或规律成簇间隔短回文重复序列及其相关蛋白技术来提升灵敏度[46]; 开发新型纳米材料以增强信号响应; 以及推动设备的微型化与集成化, 构建便携式乃至可穿戴的传感平台。LI 等[47]构建了一种基于功能性核酸的超灵敏、可视化的生物传感器, 用于检测 PIF 中的克罗诺杆菌。该方法利用适配体修饰磁珠捕获靶菌, 并结合脱氧核酶识别、滚环扩增和 G-四链体/氯化血红素显色体系实现多级信号放大, 最终通过肉眼观察颜色变化判读结果, 为食品中病原菌的快速、高灵敏检测提供了一种新型、可靠的解决方案。

生物传感器响应迅速、灵敏度高且设备小型化, 适配体传感器热稳定性好, 但奶粉中乳蛋白与脂肪在传感器界面的非特异性吸附严重干扰信号稳定性, 重现性受限, 传感器芯片多为一次性使用, 且无法区分死活菌。该技术适用于乳品企业工艺用水、设备清洗液的在线监测及原料验收初筛, 常与磁珠富集前处理联用以降低基质干扰。以上新型检测技术融合纳米材料与微流控等前沿手段, 正逐步向集成化、微型化与智能化方向发展。

纳米材料提供富集与信号放大, 微流控实现反应封闭和流程集成, 生物传感器承担信号转换和现场读数。其共同瓶颈在于标准化不足、试剂或芯片批间稳定性有限以及真实食品基质验证仍不充分, 见表 5。

表 5　新型检测技术对比
Table 5　Comparison of novel detection techniques

技术名称	检测对象	是否需增菌	能否区分活/死菌	检测时间/h	检出限	成本	适用场景
纳米技术(比色法)	DNA/菌体	需要	否	1~2	高	中等	快速可视化检测(科研/原型阶段)
微流控芯片技术	DNA	可无需增菌	否	1~2	高	中等	现场自检、快速初筛
生物传感器	菌体	可无需增菌	否	<1	极高	中等	在线监测、原料验收初筛

6 人工智能赋能的检测方法

人工智能(artificial intelligence, AI)在克罗诺杆菌检测体系中的作用是“数据解析与决策辅助”，而非独立的检测方法。从技术路径看，现代 AI 的发展主要驱动力源于以深度学习为代表的机器学习技术，通过构建深层神经网络，利用海量数据进行训练，从而实现对数据中复杂模式的高层次抽象与识别。该领域已衍生出包括自然语言处理、计算机视觉、语音识别和机器人学等多个关键分支，并广泛应用于科学研究、医疗诊断、工业制造及日常生活等诸多方面[48]。AI 与微生物检测的结合标志着该领域向智能化、快速化和精准化的范式转变[49]，其与微生物学的交叉融合，为实时病原诊断、耐药性监测及新病原发现提供了新工具，引领食品安全监测迈向智能化、精准化的新纪元[50]。

6.1 已用于克罗诺杆菌检测的 AI 应用

6.1.1 AI 赋能基因组溯源

GAO 等[51]对全球 748 株克罗诺杆菌进行了首次大规模泛基因组荟萃分析。该研究的核心创新在于双重 AI 策略的协同应用，首先构建了经微调的生成式预训练 Transformer 模型，将美国国家生物技术信息中心数据库中非标准化的分离源描述符自动归类为临床、环境、食品三大主类别及各细化亚类，分类准确率达 99.47%；随后利用随机森林机器学习算法，预测菌株的分离来源与地理起源。结果显示，奶粉源菌株基因组显著大于其他食品源菌株，且富集了 DNA 复制、重组与修复相关功能基因及铜、银等重金属抗性基因。模型还能以高准确率区分不同来源的菌株，其中欧洲分离株预测性能最优。该研究展示了 AI 处理非标准化病原体基因组元数据、识别高风险克隆群的潜力，为克罗诺杆菌的分子监测与溯源提供了可推广的自动化分析框架。

6.1.2 AI 耦合传感器检测

在直接面向样品检测的层面，AI 与传感平台的结合已开始产出针对克罗诺杆菌的实证数据。LI 等[52]构建了基于聚集诱导发光纳米硅的传感器阵列，通过偶联人工神经网络等机器学习算法，成功实现了包括克罗诺杆菌在内的 8 种食源性病原菌的高精度区分，该平台可在 1 h 内从牛奶基质中识别目标菌，对克罗诺杆菌的定量检出限达到 10^3 CFU/mL 水平。这一工作将 AI 的信号解码能力与纳米传感的灵敏度优势有机结合，展示了机器学习处理多维传感数据、克服复杂基质干扰的独特价值。

6.2 对克罗诺杆菌检测具有借鉴意义的通用 AI 工具

6.2.1 AI 驱动的显微图像活菌智能分类

基于深度卷积神经网络对白光显微图像中的细菌微菌落进行特征提取与空间定位，通过将食品基质碎片纳入负样本训练集，消除背景干扰，实现活菌的自动化高精度判别。BANICOD 等[53]系统梳理了机器学习与深度学习辅助生物传感器检测食源性病原菌的进展，指出 AI 可有效提升 SERS、荧光、比色及电化学传感平台在复杂食品基质中的抗干扰能力与判读精度。PARK 等[54]本研究构建了一种基于深度学习的显微图像分析策略，通过微菌落白光图像实现复杂食品中活菌的快速检测与分类。该方法的关键突破在于将食品基质碎片纳入训练数据集，使模型在鸡肉、菠菜、奶酪等真实样品中将碎片误判为细菌的假阳性率降至 0%，精确度达 100%，召回率达 94.4%，为食品致病菌污染提供了一种低成本、自动化的新方案。

6.2.2 AI 驱动的纳米酶传感信号智能解析

智能传感信号解码与多靶标解析引入机器学习与深度学习算法，对纳米酶传感器阵列及高光谱成像等高维信号进行特征自动提取，突破多靶标交叉干扰下的信号解析瓶颈，实现多种病原菌及活/死状态的同步精准区分，显著提升多重检测的灵敏度与准确性。CUI 等[55]提出了“协调智能”概念，系统阐述了纳米酶传感从识别机制到机器学习解码的完整技术链条。并强调，传统数据分析方法难以处理纳米酶传感器阵列在面对多靶标共存时产生的高维数据，而机器学习算法可自动提取特征模式，显著提升多重检测的准确性与灵敏度。

7 结束语

本文系统地阐述了多种克罗诺杆菌检测方法，克罗诺杆菌检测技术正由单一方法转向分层互补和组合应用。培养法提供法定确证和活菌分离基础；免疫富集和分子检测承担快速筛查与活菌定量；MALDI-TOF MS、SERS 和流式细胞术补充高通量鉴定及细胞状态评估；纳米材料、微流控和生物传感器推动现场检测；AI 则提升复杂数据解析、风险溯源和结果判读能力。

未来，该领域的发展应着力于以下方向：强化前处理技术的靶向富集与抗干扰能力，建立适配不同风险等级样品的分级处理流程；推动多模态技术的有机融合，如将免疫磁珠富集与等温扩增、电化学传感联用，构建“富集-检测-判读”一体化平台；构建适用于基层监管的快速筛查与实验室确证相衔接的技术体系，在保持方法稳健性的前提下，引入 AI 辅助信号解析与数据挖掘，以提升复杂谱图的识别效率，但需警惕算法黑箱对结果可解释性的削弱，确保检测结论的溯源性与法定效力。不同应用场景下克罗诺杆菌检测的推荐技术组合存在显著差异，应根据检测目的、时效要求和设备条件进行针对性选择。

检测克罗诺杆菌对于保障食品安全，尤其是婴幼儿食品安全意义重大。未来研究应从单一方法转向真实基质适配和方法学标准化，重点解决低丰度靶菌高效富集、活菌/死菌区分、抗基质干扰、现场检测结果可追溯以及多中心验证不足等问题。多学科交叉融合，形成“快速筛查-实

验室确证-数据溯源”的闭环体系，从而为婴幼儿食品安全构筑更为坚实的技术屏障。

参考文献

[1] LING N, JIANG X, FORSYTHE S, *et al*. Food safety risks and contributing factors of *Cronobacter* spp. [J]. Engineering, 2022(12): 128–138.

[2] SHANG Y, YE Q, WU Q, *et al*. PCR and multiplex PCR assays for the detection of *Cronobacter* species using specific targets obtained by a bioinformatics approach [J]. Food Control, 2021, 125: 107896.

[3] EKUNDAYO TC, IJABADENIYI OA. Global and regional prevalence of *Cronobacter sakazakii* in powdered milk and flour [J]. Scientific Reports, 2024, 14(1): 6865.

[4] 凌春榕, 秦剑冉, 牟康义, 等. 食源性致病菌快速检测方法的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(16): 100–112.
LING CR, QIN JR, MOU KY, *et al*. Research progress on rapid detection methods for foodborne pathogens [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(16): 100–112.

[5] MOUSAVI ZE, HUNT K, KOOLMAN L, *et al*. *Cronobacter* species in the built food production environment: A review on persistence, pathogenicity, regulation and detection methods [J]. Microorganisms, 2023, 11(6): 1379.

[6] WANG L, FORSYTHE SJ, YANG X, *et al*. Invited review: Stress resistance of *Cronobacter* spp. affecting control of its growth during food production [J]. Journal of Dairy Science, 2021, 104(11): 11348–11367.

[7] BHARTI D, LEKSHMI M, KUMAR SH, *et al*. Prevalence of *Cronobacter* spp. in tropical seafood from Mumbai, India: Comparative study of isolation media and PCR detection [J]. Journal of AOAC International, 2025, 108(2): 173–179.

[8] OH JE, IWASAKI A. Enzyme-linked immunosorbent assay [J]. Bio-101, 2022(Preprint): 1523.

[9] WU YQ, XIONG Y, CHEN XL, *et al*. Plasmonic ELISA based on DNA-directed gold nanoparticle growth for *Cronobacter* detection in powdered infant formula samples [J]. Journal of Dairy Science, 2019, 102(12): 10877–10886.

[10] KISELEVA E, MIKHAILOPULO K, SVIRIDOV O. Detection of *Salmonella* by competitive ELISA of lipopolysaccharide secreted into the culture medium [J]. Analytical Biochemistry, 2025, 697: 115695.

[11] KIM HR, JOE C, HWANG ET, *et al*. Group selective aptamers: Broad-spectrum recognition of target groups in *Cronobacter* species and implementation of electrochemical biosensors as receptors [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2024, 246: 115843.

[12] SHUKLA S, YUVARAJ H, BAJPAI VK, *et al*. Electrochemical coupled immunosensing platform based on graphene oxide/gold nanocomposite for sensitive detection of *Cronobacter sakazakii* in powdered infant formula [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2018, 109: 139–149.

[13] KHOSRAVI M, GHARIBI D. Synthesis and evaluation of the immunomagnetic beads for separation of the *Salmonella typhimurium* from milk [J]. Archives of Razi Institute, 2022, 77(5): 1601–1609.

[14] 姚骅珊, 朱志强. 高效捕获阪崎肠杆菌免疫磁珠的制备研究[J]. 安徽化工, 2019, 45(1): 55–59.
YAO HS, ZHU ZQ. Preparation of immunomagnetic beads for efficient capture of *Cronobacter sakazakii* [J]. Anhui Chemical Industry, 2019, 45(1): 55–59.

[15] PAN R, JIANG Y, SUN L, *et al*. Gold nanoparticle-based enhanced lateral flow immunoassay for detection of *Cronobacter sakazakii* in powdered infant formula [J]. Journal of Dairy Science, 2018, 101(5): 3835–3843.

[16] KIM SS. Application of comparative genomics for the development of PCR Primers for the detection of harmful or beneficial microorganisms in food: Mini-review [J]. Foods, 2025, 14(6): 1060.

[17] DAS SK, KUMAR SH, NAYAK BB, *et al*. Isolation and identification of *Cronobacter* spp. from fish and shellfish sold in retail markets [J]. Current Microbiology, 2021, 78: 1973–1980.

[18] BERTHOLD-PLUTA A, GARBOWSKA M, STEFAŃSKA I, *et al*. Microbiological quality of nuts, dried and candied fruits, including the prevalence of *Cronobacter* spp. [J]. Pathogens, 2021, 10(7): 900.

[19] ZHANG Y, WEI Z, ZHANG J, *et al*. Application of PCR and PCR-derived technologies for the detection of pathogens infecting crops [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2025, 136: 102589.

[20] WANG G, NIE X, YANG L, *et al*. A comparative analysis of quantitative detection methods for viable food-borne pathogens using RT-qPCR and PMA-qPCR [J]. Letters in Applied Microbiology, 2023, 76(10): ovad120.

[21] ZHANG YS, YUAN L, CHEN CW, *et al*. Specific detection of viable *Cronobacter sakazakii* in powdered infant formula by phage amplification combined with qPCR (PAA-qPCR) assay [J]. International Journal of Dairy Technology, 2022, 75(4): 809–819.

[22] DIERICK E, CALLENS C, DE-SPIEGELAERE W, *et al*. Digital PCR: A tool in clostridial mutant selection and detection [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2023, 107(22): 6973–6983.

[23] SHAHRAJABIAN MH, SUN W. The significance and importance of dPCR, qPCR, and SYBR Green PCR Kit in the detection of numerous diseases [J]. Current Pharmaceutical Design, 2024, 30(3): 169–179.

[24] 吕新瑞. 快速定量检测痕量 VBNC 状态阪崎克罗诺杆菌的技术研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2021.
LV XR. Technique for rapid quantitative detection of trace VBNC *Cronobacter sakazakii* [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2021.

[25] CHEN Q, YU Y, CHEN X, *et al*. Development of a PMA-LAMP visual detection assay for viable *Cronobacter sakazakii* [J]. International Journal of Dairy Technology, 2024, 77(2). DOI: 10.1111/1471-0307.13073

[26] 张懿翔, 张清平, 刘洋. 结合 CRISPR/Cas12b 与 LAMP 技术的乳粉中克罗诺杆菌属的检测[J]. 中国乳品工业, 2023, 51(12): 54–58.
ZHANG YX, ZHANG QP, LIU Y. Detection of *Cronobacter* in milk powder by combining CRISPR/Cas12b and LAMP [J]. China Dairy Industry, 2023, 51(12): 54–58.

[27] 王彦人, 焦敬波, 张钧森, 等. LAMP 在阪崎克罗诺杆菌检测中的研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2022, 41(2): 1–7.
WANG YR, JIAO JB, ZHANG JS, *et al*. Research progress of LAMP in detection of *Cronobacter sakazakii* [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2022, 41(2): 1–7.

[28] 王亮, 张懿翔, 刘洋. 等温扩增技术在克罗诺杆菌属快速检测中的研究进展[J]. 中国乳品工业, 2021, 49(6): 33–36.
WANG L, ZHANG YX, LIU Y. Research progress of isothermal amplification technology in rapid detection of *Cronobacter* [J]. China Dairy Industry, 2021, 49(6): 33–36.

[29] 黄福斌, 舒而怡, 范宏亮. 新型等温扩增技术在水源性致病菌检测中

的应用研究进展[J]. 环境与职业医学, 2025, 42(4): 503–511.
HUANG FB, SHU EY, FAN HL. Research progress on application of novel isothermal amplification techniques in detection of waterborne pathogens [J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2025, 42(4): 503–511.

[30] BARANWAL VK. Recombinase polymerase amplification assay: A simplified and rapid approach for detection of fastidious plant pathogens [J]. Phytopathogenic Mollicutes, 2025, 15(1). DOI: 10.5958/2249-4677.2025.00018.0

[31] 郝娟, 吴婕, 佘之蕴, 等. 重组酶聚合酶扩增法在婴幼儿食品克罗诺杆菌检测中的应用[J]. 中国乳品工业, 2020, 48(9): 51–53.
HAO J, WU J, SHE ZY, *et al*. Application of recombinase polymerase amplification in detection of *Cronobacter* in infant food [J]. China Dairy Industry, 2020, 48(9): 51–53.

[32] FENG M, MA J, ZHANG Y, *et al*. Rapid detection assays for *Bacillus anthracis*, *Yersinia pestis*, and *Brucella* spp. via triplex-recombinase polymerase amplification [J]. Molecular Biology Reports, 2025, 52(1). https://doi.org/10.1007/s11033-025-10265-0

[33] SULAIMAN IM, MIRANDA N, HOOK W, *et al*. A single-laboratory performance evaluation of MALDI-TOF MS in rapid identification of *Staphylococcus aureus*, *Cronobacter sakazakii*, *Vibrio parahaemolyticus*, and some closely related bacterial species of public health importance [J]. Journal of AOAC International, 2023, 106(6): 1574–1588.

[34] SONG D, SU Q, JIA A, *et al*. A method to directly identify *Cronobacter sakazakii* in liquid medium by MALDI-TOF MS [J]. Foods, 2023, 12(10): 1981.

[35] ZHU XP, NIU B, YANG JL. The progresses of multi-omics technologies in the study of antibiotic resistance in *Cronobacter* [J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2025, 41(11): 1590–1599.

[36] LIN Z, WANG G, ZHANG K, *et al*. Metabolomics investigation of global responses of *Cronobacter sakazakii* against common sanitizing in infant formula processing environments [J]. Food Research International, 2023, 172: 113162.

[37] GAO S, WU J, WANG H, *et al*. Highly sensitive detection of *Cronobacter sakazakii* based on immunochromatography coupled with surface-enhanced Raman scattering [J]. Journal of Dairy Science, 2021, 104(3): 2748–2757.

[38] NICIŃSKI K, WITKOWSKA E, KORSAK D, *et al*. The applicability of the SERS technique in food contamination testing-the detailed spectroscopic, chemometric, genetic, and comparative analysis of food-borne *Cronobacter* spp. strains [J]. International Journal of Food Microbiology, 2025, 426: 110930.

[39] 庞慧敏, 刘思渊, 蔡小雨, 等. 基于流式细胞术的鸡肉中单增李斯特氏菌活菌检测[J]. 中国食品学报, 2025, 25(10): 276–285.
PANG HM, LIU SY, CAI XY, *et al*. Detection of viable *Listeria monocytogenes* in chicken by flow cytometry [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2025, 25(10): 276–285.

[40] CAL-SABATER P, CARO I, CASTRO MJ, *et al*. Flow cytometry to assess the counts and physiological state of *Cronobacter sakazakii* cells after heat exposure [J]. Foods, 2019, 8(12): 688.

[41] YUE A, BRINKMAN RR, NASH V, *et al*. AI in flow cytometry: Current applications and future directions [J]. Cytometry, Part B, 2025, 108(5). DOI: 10.1002/cyto.b.22255

[42] 姜毓君, 满朝新, 王蕊, 等. 一种基于磁捕获的纳米金比色法快速检测阪崎克罗诺杆菌的方法: 中国, CN109593837A[P]. 2019-04-09.
JIANG YJ, MAN CX, WANG R, *et al*. A method for rapid detection of *Cronobacter sakazakii* based on magnetic capture and gold nanoparticle colorimetry: China, CN109593837A [P]. 2019-04-09.

[43] WANG Z, ZHANG Y, LI Z, *et al*. Microfluidic brain-on-a-chip: From key technology to system integration and application [J]. Small, 2023, 19(52): 2304427.

[44] CHEN X, MA Y, MIAO S, *et al*. Visual detection of *Cronobacter sakazakii* on a microfluidic chip fabricated by a 3D molding method [J]. Analyst, 2023, 148(4): 832–838.

[45] MUHSIN SA, AL-AMIDIE M, SHEN Z, *et al*. A microfluidic biosensor for rapid simultaneous detection of waterborne pathogens [J]. Biosensors & Bioelectronics, 2022, 203: 113993.

[46] 刘巨. 基于滚环扩增的荧光及比色传感器在克罗诺杆菌检测中应用的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2021.
LIU J. Application of fluorescence and colorimetric sensors based on rolling circle amplification in detection of *Cronobacter* [D]. Nanchang: Nanchang University, 2021.

[47] LI J, LIU Z, YANG Q, *et al*. Precision screening of DNAzymes and aptamers, and an ultrasensitive isothermal integrated biosensor for *Cronobacter sakazakii* detection [J]. Journal of Hazardous Materials, 2025, 499: 140038.

[48] XU J, AKHTAR M, MENG W, *et al*. Advances in pathogen detection: from traditional methods to nanotechnology, biosensing and ai integration [J]. Wiley Interdisciplinary Reviews-nanomedicine and Nanobiotechnology, 2025, 17(4): e70022.

[49] DENG Z, YUN YH, DUAN N, *et al*. Artificial intelligence algorithms-assisted biosensors in the detection of foodborne pathogenic bacteria: Recent advances and future trends [J]. Trends in Food Science & Technology, 2025, 161. DOI: 10.1016/j.tifs.2025.105072

[50] 刘英. AI 在食品微生物检测中的应用[J]. 食品安全导刊, 2025(11): 128–130.
LIU Y. Application of artificial intelligence in food microbiological detection [J]. Journal of Food Safety Guide, 2025(11): 128–130.

[51] GAO M, PRADHAN AK, BLAUSTEIN RA. Genomic diversity of *Cronobacter sakazakii* across the food system to consumers at the global scale [J]. International Journal of Food Microbiology, 2025, 441: 111335.

[52] LI Y, CUI Z, WANG Z, *et al*. Machine-learning-assisted aggregation-induced emissive nanosilicon-based sensor array for point-of-care identification of multiple foodborne pathogens [J]. Analytical Chemistry, 2024, 96(17): 6588–6598.

[53] BANICOD RJS, TABASSUM N, JO DM, *et al*. Integration of artificial intelligence in biosensors for enhanced detection of foodborne pathogens [J]. Biosensors (Basel), 2025, 15(10): 690.

[54] PARK HW, LI Z, MA L, *et al*. Deep learning enabled rapid detection of live bacteria in the presence of food debris [J]. NPJ Science of Food, 2025, 9(1): 274.

[55] CUI Z, NIE C, LI Y, *et al*. “Coordinating intelligence”: From nanozyme sensing mechanisms to intelligent decoding for foodborne pathogens detection [J]. Coordination Chemistry Reviews, 2026, 549: 217259.

(责任编辑: 蔡世佳 韩晓红)