

Dans les saucissons dits fermiers, la fermentation est totalement tributaire de la microflore indigène. La composition de cette microflore dépend de la contamination initiale des matières premières et des paramètres technologiques lors du procédé de fabrication. La microflore contaminant les matières premières peut coloniser les ateliers où elle constitue une flore résiduelle. Cet écosystème est complexe et variable d'un atelier à l'autre (Lebert et al., 2006). Actuellement, il y a un regain d'intérêt pour la préservation de la diversité de la flore naturellement présente dans les productions fermières. Il est donc essentiel pour maîtriser les qualités microbiologiques et sensorielles des produits fermiers d'avoir une bonne connaissance de cette flore naturelle.

Les bactéries lactiques les plus fréquemment identifiées dans les produits carnés appartiennent aux espèces : *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus curvatus* et *Lactobacillus plantarum* (Hugas et al., 1993 ; Aymerich et al., 2003). Parmi les staphylocoques, *Staphylococcus xylosum* est souvent l'espèce dominante dans les saucissons mais d'autres espèces sont aussi décrites (García-Varona et al., 2000 ; Aymerich et al., 2003). Parfois ce sont les espèces *Staphylococcus equorum* et *Staphylococcus succinus* qui dominent comme cela a été décrit pour un atelier fermier français (Corbière Morot-Bizot et al., 2006).

Pour développer un ferment, il faut considérer non seulement les propriétés technologiques de la souche bactérienne (croissance, acidification, activité inhibitrice,...) mais aussi prendre en compte les critères d'innocuité de la souche tels que la non production d'amines biogènes et la sensibilité aux antibiotiques. Pour développer une flore de barrière ayant la capacité à se maintenir dans un atelier, il faut considérer son aptitude à former des biofilms pour pouvoir coloniser l'environnement.

Dans le projet européen Tradisauage (<http://www.clermont.inra.fr/tradisauage>), l'objectif était d'identifier la flore bactérienne d'intérêt technologique dans le but de faire l'inventaire des flores présentes dans les ateliers et les saucissons fermiers, d'évaluer la diversité de ces flores et de développer des ferments ou éventuellement une flore de barrière spécifiques de ces ateliers.

Saucissons secs fermiers du Massif central

Identification et caractérisation de la flore d'intérêt technologique : bactéries lactiques et staphylocoques à coagulase négative

Les microflores d'intérêt technologique, bactéries lactiques et staphylocoques à coagulase négative, présentent une diversité tant au niveau des espèces qu'au niveau des souches dans les ateliers et les saucissons fermiers. Certaines souches ne présentant pas de résistance aux antibiotiques et ne produisant pas d'amines biogènes peuvent être de bonnes candidates pour le développement de ferments indigènes respectant la typicité des produits fermiers.

LEROY S.⁽¹⁾, LEBERT I.⁽¹⁾, CHACORNAC J.-P. ⁽¹⁾,
CHEVALLIER I.⁽²⁾, TALON R.⁽¹⁾

⁽¹⁾ INRA, Centre de Clermont-Ferrand Theix, Unité de Microbiologie, 63122 SAINT-GENÈS CHAMPANELLE, France

⁽²⁾ Enita de Clermont-Ferrand, UR Typicité des produits alimentaires, site de Marmilhat, 63 370 LEMPDES, France

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les bactéries d'intérêt technologique

Les bactéries lactiques (LAB) et les *Staphylococcus/Kocuria* ont été isolés lors de l'étude des écosystèmes microbiens dans neuf ateliers fermiers du Massif central (Lebert et al., 2006a). Ces bactéries d'intérêt technologique ont été identifiées au niveau de l'espèce pour deux ateliers en particulier: F02 et F08. Les échantillons prélevés sur la surface des équipements et de l'environnement (3 machines, tables, couteaux et mur des chambres froides) et au niveau des matières animales (boyau, mèche, produit fermenté, produit final) ont été isolés et dénombrés sur gélose mannitol sel pour les *Staphylococcus/Kocuria* et sur gélose MRS pour les LAB. Pour chaque point d'échantillonnage, 5 à 20 colonies ont été prélevées et identifiées.

Une collection de 328 isolats de *Staphylococcus/Kocuria* et une collection de 141 isolats de LAB ont été constituées.

Identification des bactéries lactiques

L'identification des micro-organismes par les procédures phénotypiques conventionnelles basées sur les tests morphologiques et biochimiques présente des limites en termes de reproductibilité et de précision et est très consommatrice en temps et en réactifs. Les méthodes moléculaires ont diminué remarquablement la durée des analyses; néanmoins elles restent très coûteuses. En se basant sur ce constat, nous avons utilisé une méthode d'identification des bactéries lactiques, rapide, précise et peu coûteuse, la spectroscopie de fluorescence. Elle a été développée par Leblanc & Dufour (2002) pour identifier des bactéries de différentes classes, genres et espèces provenant de collections de référence. Nous l'avons appliqué à l'identification des bactéries lactiques d'origine carnée.

Ainsi, l'ensemble des isolats lactiques provenant de ces ateliers fermiers a été identifié à la fois par des méthodes génotypique (Polymérase Chain Reaction ou PCR) et spectroscopique.

Identification par approche génotypique

Des PCR ont été réalisées pour distinguer les genres et espèces bactériennes selon la méthode développée par Ammor et al. (2005).

Identification par approche spectroscopique de fluorescence

Vingt souches de références appartenant aux genres *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Weissella*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus* et *Vagococcus* et issues de collections internationales ont servi pour calibrer la méthode (Ammor et al., 2004). Les isolats de la flore lactique provenant des deux ateliers sélectionnés (F02-F08) ont servi pour valider la méthode.

Les bactéries lactiques ont été cultivées à 30 °C sur milieu APT et analysées en phase exponentielle de croissance. La culture a été centrifugée et le culot a été lavé 2 fois avec une solution physiologique. Après la dernière centrifugation, le culot est repris dans de l'eau physiologique de manière à obtenir une densité optique de 0,005 à 620 nm et l'échantillon est ensuite placé dans une cuve en quartz.

Les spectres de fluorescence ont été obtenus en utilisant un spectrofluorimètre FluoroMax-2 (Spex-Jobin Yvon, NJ, USA). Le principe consiste à exciter des sondes fluorescentes naturellement présentes dans les cellules bactériennes (tryptophane, acides aminés aromatiques (AAA), acides nucléiques (AN)...). Un modèle de prédiction a été développé en se basant sur les 20 espèces lactiques de référence. Dans un premier temps, trois types de sondes ont été retenus pour l'analyse: Tryptophane (Excitation: 270; Émission: 280-480), acides aminés aromatiques (Ex: 250; Em: 280-480) et NADH (Ex: 316; Em: 380-550) (Ammor et al., 2004). Puis, dans un second temps, seule la sonde des acides aminés aromatiques a été retenue pour l'analyse et les spectres ont été enregistrés entre 280-480 nm pour les souches de référence et les isolats des ateliers fermiers. Les données acquises ont été traitées par des méthodes statistiques comme l'analyse factorielle discriminante (AFD).

Identification des *Staphylococcus/Kocuria*

La distinction entre *Staphylococcus* et *Kocuria* a été réalisée à partir de deux tests: la sensibilité au composé O/129 et la résistance au furane pour les souches appartenant au genre *Kocuria* (Bouvet, 1982). Puis les souches de *Kocuria* ont été identifiées par une PCR spécifique de l'espèce *Kocuria varians* (Aymerich et al., 2003).

L'identification des *Staphylococcus* par les méthodes phénotypiques ne permet pas d'identifier de façon fiable les différentes espèces. Aussi nous avons développé deux outils basés sur la biologie moléculaire. Les isolats de la collection ont été analysés par:

- la PCR Multiplex qui permet d'identifier le genre *Staphylococcus* et quatre espèces: *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus aureus* (Corbière Morot-Bizot et al., 2004).
- la puce "Staph. Array" qui est basée sur le développement de sondes oligonucléotidiques à partir du gène codant l'enzyme superoxyde dismutase, et qui permet de différencier les 36 espèces de *Staphylococcus* (Giammarino et al., 2005).

Caractérisation des souches d'intérêt technologique

Cette étude a été réalisée sur la collection de souches technologiques de l'atelier F08. Les propriétés suivantes ont été analysées.

Activité antibactérienne en milieu de laboratoire

L'activité antibactérienne de 139 souches du genre *Staphylococcus* et de deux *Lactobacillus* a été testée sur des bactéries d'altération (*Escherichia coli*, *Pseudomonas fragi*) et des bactéries pathogènes (*S. aureus*, *Listeria monocytogenes*). Chaque isolat était cultivé en présence de la bactérie test dans un gel d'agar. Une absence de croissance des bactéries d'altération ou pathogène indiquait une activité antibactérienne de l'isolat.

Diversité des profils PFGE (Electrophorèse en champs pulsé)

La diversité des souches pour une espèce donnée peut être étudiée par la méthode PFGE qui donne un profil moléculaire caractéristique de chaque souche. Les profils PFGE ont été établis après digestion de l'ADN chromosomal par l'endonucléase SmaI pour *Staphylococcus* et NotI pour *Lactobacillus* et selon le protocole décrit par Morot-Bizot et al. (2003).

Capacité à produire des biofilms

La capacité à faire des biofilms reflète leur capacité à coloniser un environnement. Cette capacité est différente selon les souches mais également dépend du support sur lequel l'adhésion a lieu. Dix-neuf souches ont été testées sur deux supports: tube de verre (support à caractéristique de surface hydrophile) et tube de polypropylène (support à caractéristique de surface hydrophobe). Les 19 souches ont été choisies à l'issue des analyses des profils PFGE et comprenaient: 4 *S. succinus*, 13 *S. equorum* et 2 *L. sakei*. Chaque tube a été rempli avec 2 mL de suspension bactérienne. Après 24h d'incubation et élimination de la suspension bactérienne, les bactéries ayant adhéré et poussé sur la surface des tubes, ont été colorées à la safranine. Une intensité colorée forte indiquait une forte capacité à faire des biofilms sur les supports testés.

Sensibilité des souches aux antibiotiques

Elle a été étudiée par le test de diffusion sur le milieu gélosé Muller Hinton pour les *Staphylococcus* et sur le milieu MRS pour les lactobacilles. Les antibiotiques suivants ont été étudiés: pénicilline, tétracycline, érythromycine, kanamycine, chloramphénicol, ciprofloxacine et vancomycine.

Activité amino-décarboxylase

Les activités amino-décarboxylases des bactéries ont été déterminées selon le protocole de Bover-Cid et Holzapfel (1999). Les cultures pures des bactéries ont été réalisées dans un bouillon contenant des acides aminés. Les amines biogènes formées après incubation ont été dosées par HPLC.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Identification des bactéries lactiques par les méthodes moléculaire et spectroscopique

Les deux ateliers (F02 et F08) ont été sélectionnés comme représentatifs de niveaux d'hygiène différents. Les LAB ont été isolées des saucissons à différents stades de fabrication et de l'environnement des deux ateliers. Les identifications des 141 souches ont été réalisées à la fois par des techniques de biologie moléculaire et de spectroscopie.

Dans un premier temps, nous avons validé la méthode spectroscopique. La comparaison des résultats obtenus par PCR sur souches de références (jeu de calibration) et ceux des analyses factorielles discriminantes (AFD) réalisées sur les collections spectrales indiquaient des pourcentages de bonne classification à l'échelle du genre de respectivement 98,3 %, 97,8 % et 95,6 % pour les sondes AAA + AN, NADH et FAD. À l'échelle de l'espèce, nous avons obtenu des pourcentages de bonne classification de respectivement 100 %, 88,9 % et 88,9 % pour les spectres AAA + AN, NADH et FAD. Enfin, à l'échelle du genre-espèce, les analyses ont donné des pourcentages de bonne classification de respectivement 100 %, 88,9 % et 97,8 % à partir des spectres AAA + AN, NADH et FAD. À l'issue de ces résultats, nous avons adopté la sonde AAA + AN pour tenter d'identifier les espèces isolées au niveau des ateliers fermiers.

Les spectres des 141 isolats des deux ateliers identifiés par approche géno-

typique ont été enregistrés et les résultats des analyses statistiques ont montré une bonne corrélation avec les identifications PCR espèces spécifiques. Un total de 92 % des souches isolées des ateliers a été correctement identifié au niveau de l'espèce.

Ainsi, l'ensemble des résultats d'identification par spectroscopie de fluorescence indique que la fluorescence intrinsèque d'une bactérie constitue une empreinte digitale puisque le traitement statistique des données spectrales nous a permis d'identifier correctement la totalité des bactéries lactiques de références de notre modèle au niveau du genre, de l'espèce et même de la sous-espèce.

Cette méthode pourra être améliorée notamment par l'enrichissement de la banque de données afin de pouvoir faire face à la diversité microbienne présente dans les ateliers.

A l'issue de ces identifications, il est apparu une répartition des flores lactiques différentes entre l'environnement et le produit fini. En effet, la flore majoritaire du saucisson fabriquée dans l'atelier F08 est dominée par des *Enterococcus* alors que ceux fabriqués dans l'atelier F02 sont dominés par *Lactobacillus sakei* (tableau 1).

Cependant, différentes études (Hugas et al., 1993) ont décrit *L. sakei* comme espèce majoritaire dans les produits carnés fermentés. Or, dans le cas de l'étude Tradisauage, les résultats ont montré que si 42,9 % des ateliers analysés en Catalogne étaient dominés par *L. sakei* (Aymerich et al., 2003), et ce n'est que de façon atypique que *L. brevis*, *L. plantarum* et *enterococcus* ont été trouvés prédominants dans les saucissons de cer-

tains ateliers étudiés, comme en Grèce et au Portugal. La France entrerait alors dans cette tendance, puisque seulement sept isolats ont pu être identifiés comme *L. sakei*. Par ailleurs, *enterococcus*, *Carnobacterium* et *Leuconostoc* étaient présents majoritairement dans l'environnement. Cette différence de composition de la flore dans ces deux ateliers pourrait être attribuée à des pratiques d'hygiène et de fabrication différentes (Chevallier, 2006).

Or, dans une précédente étude dans un atelier fermier français (Ammor et al., 2005) nous avons montré également qu'*Enterococcus faecium* (25 %) et *Vagococcus carniphilus* (12,5 %) étaient les espèces dominantes au niveau des surfaces et des équipements de l'atelier, alors que *Lactococcus garvieae* (18,2 %) et *Lactobacillus sakei* (40,9 %) étaient, respectivement, les espèces dominantes au niveau de la mêlée et du saucisson.

Deux outils moléculaires efficaces et fiables pour identifier les espèces de *Staphylococcus*

Trois cent vingt-huit *Staphylococcus/Kocuria* ont été isolés des saucissons à différents stades de fabrication et de l'environnement de fabrication des deux ateliers F02 et F08. La PCR multiplex a montré que sur ces 328 isolats, 305 appartenaient au genre *Staphylococcus* et 23 n'appartenaient pas ce genre et correspondaient à des *Kocuria* d'après leurs caractéristiques biochimiques et pour la majorité étaient identifiés à *K. varians*. Parmi les 305 souches de *Staphylococcus*, 1 était identifiée à l'espèce *S. epidermidis*, 32 à *S. saprophyticus* et 31 à

Tableau 1
ESPÈCES LACTIQUES DOMINANTES
DANS LES DEUX ATELIERS FERMISERS F02 ET F08

	F02					F08				
	Total	Matériel	Mêlée	Saucisson	Boyau	Total	Matériel	Mêlée	Saucisson	Boyau
<i>Lb. sakei</i>	17			17		7			7	
<i>Lb. spp</i>	10			10		15	1		14	
<i>Carnobacterium</i>	0					11	4		7	
<i>Leuconostoc</i>	0					5	1		2	2
<i>Enterococcus spp</i>	0					33			33	
<i>Vagococcus carniphilus</i>	0					7	2	1	2	2
<i>Weisseilla</i>	0					7	1	1	5	
Inconnues	9	4	1	4		20	5	1	9	5
Total : souches	36	4	1	31	0	105	9	2	70	4

Tableau 2
S. EQUORUM, UNE ESPÈCE DOMINANTE DANS LES DEUX ATELIERS FERMISERS

Staphylococcus/Kocuria	Atelier F02					Atelier F08				
	Total	Matériel	Mêlée	Saucisson	Boyau	Total	Matériel	Mêlée	Saucisson	Boyau
<i>S. carnosus</i>	2				2	0				
<i>S. epidermidis</i>	0					1		1		
<i>S. equorum</i>	91	34	14	42	1	117	43	14	51	9
<i>S. fleurettii</i>	0					1	1			
<i>S. pasteurii</i>	5		1		4	1		1		
<i>S. saprophyticus</i>	31	10	5	16		1			1	
<i>S. succinus</i>	0					20	3	1	15	1
<i>S. vitulinus</i>	3		1	1	1	1			1	
<i>S. xylosus</i>	31	7	14	10		0				
<i>Kocuria varians</i>	0					18	16	2		
<i>Kocuria spp</i>	0					5	3	1	1	
Total : nombre de souches	163	51	35	69	8	165	66	20	69	10

S. xylosus. La puce Staph array a permis d'identifier les 241 souches de *Staphylococcus* non identifiées par la PCR multiplex révélant la présence de neuf espèces. L'espèce *S. equorum* est l'espèce dominante dans les deux ateliers, à la fois dans l'environnement et dans les produits (tableau 2). Dans l'atelier F02, deux autres espèces sont également importantes *S. saprophyticus* et *S. xylosus*. Dans l'atelier F08, *S. succinus* est la deuxième espèce importante après *S. equorum*.

En France, *S. equorum* est l'espèce dominante des saucissons fermiers et de leur environnement de fabrication. Des bactéries appartenant au genre *Kocuria* ont été identifiées dans l'environnement et les boyaux. Selon diverses études de produits carnés fermentés traditionnels italiens et espagnols, *S. xylosus* est l'espèce dominante dans 42,8 % des ateliers analysés (García-Varona et al., 2000; Aymerich et al., 2003).

Sélection des souches d'intérêt technologique (bactéries lactiques et *Staphylococcus*)

La caractérisation des souches d'intérêt technologique a été réalisée uniquement sur la collection de souches de l'atelier F08. Dans cet atelier, les deux espèces dominantes du genre *Staphylococcus* ont été étudiées avec 117 souches de *S. equorum* et 20 souches de *S. succinus* et 2 souches de *L. sakei* ont également été sélectionnées pour la suite de l'étude.

Diverses propriétés technologiques ou liées à la sécurité des souches ont été étudiées pour la sélection de ferment ou de la flore de barrière: la diversité génétique, la capacité inhi-

Tableau 3
LA CAPACITÉ À FAIRE DES BIOFILMS EST DÉPENDANTE DE LA SOUCHE ÉTUDIÉE

Support	Tube de verre Hydrophile	Tube de polypropylène Hydrophobe
<i>L. sakei</i> F08F202	-	-
<i>L. sakei</i> F08F268	-	-
<i>S. succinus</i> F08bF19	+	-
<i>S. equorum</i> F08bF15	-	-
<i>S. equorum</i> F08bF07	++	++

-, pas de biofilm; +, biofilm moyen; ++, biofilm important

bitrice, la capacité à former des biofilms, la sensibilité aux antibiotiques et l'activité amino-décarboxylase.

Les souches isolées n'ont pas d'activité antibactérienne

Aucune des 139 souches sélectionnées n'avait d'activité antibactérienne contre la flore d'altération (*E. coli*, *P. fragi*) ni contre la flore pathogène (*S. aureus*, *L. monocytogenes*).

Une grande diversité moléculaire chez *S. equorum*

Sur 117 souches de *S. equorum*, 64 profils PFGE différents ont été obtenus révélant une grande diversité au sein de cette espèce. Toutefois, deux profils principaux ont été observés l'un regroupant 24 souches et l'autre 12 souches. Les souches de l'espèce *S. succinus* constituaient un groupe plus homogène, puisqu'un seul profil dominant a été observé pour les 20 souches. Les deux *L. sakei* avaient des profils différents mais proches. La biodiversité des souches de staphylocoques a déjà été rapportée pour des souches de staphylocoques

isolées de saucissons espagnols (Martín et al., 2006).

À partir de ces résultats, les 2 souches de *L. sakei*, 3 *S. succinus* et 14 *S. equorum* ont été sélectionnées pour étudier leur capacité à faire des biofilms.

Une capacité variable à faire des biofilms

Les deux souches de *L. sakei* n'ont formé aucun biofilm sur aucun des supports. Une seule souche de *S. succinus* a été capable de faire un biofilm et seulement en tube de verre (tableau 3).

Les profils PFGE ont montré deux groupes dominants de *S. equorum*. Le premier groupe était composé de souches isolées de produits (produits fermentés et produits finaux), ces souches n'ont pas produit de biofilm sur aucun des supports testés. Le second groupe était composé de souches principalement isolées de l'environnement, ces souches ont montré une forte capacité à faire des biofilms à la fois sur le verre et sur le polypropylène.

La diversité au sein des espèces et des

souches de staphylocoques à former ou non des biofilms est bien connu (Planchon et al., 2006, 2007). Sur la base de ces résultats, les 5 souches suivantes : *L. sakei* F08F202 et F08F268, *S. succinus* F08bF19, *S. equorum* F08bF15 et F08bF07 dont les caractéristiques sont données dans le tableau 3 ont été sélectionnées et étudiées pour leur sensibilité aux antibiotiques et leur activité amino-décarboxylase.

Sensibilité aux antibiotiques

De plus en plus de souches possèdent des résistances aux antibiotiques. Cette résistance aux antibiotiques présente chez une souche peut être transférée à une autre souche. Ceci présente un risque de dissémination du facteur de risque de résistance aux antibiotiques. Les cinq souches étudiées ne présentent pas de résistances aux sept antibiotiques étudiés (cf. Matériels et Méthodes).

Activité amino-décarboxylase

Cette activité amino-décarboxylase est recherchée chez les souches car elle conduit à la synthèse d'amines

biogènes. Ces amines en excès peuvent entraîner des troubles de santé (migraines, allergies...). Il est donc souhaitable de sélectionner des souches qui n'aient pas d'activité amino-décarboxylase. Les cinq souches étudiées ne présentent pas cette activité.

A l'issue de ces résultats, les trois souches, *L. sakei* F08F202, *S. succinus* F08bF19 et *S. equorum* F08bF15, ont été sélectionnées pour développer un ferment (Lebert et al., 2006b).

CONCLUSION

Différentes techniques moléculaires et de spectroscopie de fluorescence ont été développées permettant d'identifier de façon fiable les staphylocoques et les bactéries lactiques respectivement. Les bactéries lactiques des deux ateliers étudiés étaient différentes, l'un était dominé par des entérocoques et l'autre par des lactobacilles. Parmi les neuf espèces de staphylocoques identifiées, *S. equorum* est l'espèce dominante dans les deux ateliers. Les espèces sous domi-

nantes sont différentes dans les deux ateliers. L'étude des propriétés des souches dominantes a révélé qu'elles étaient diverses sur le plan génétique et qu'elles ne possédaient pas de facteurs de risques tels qu'une résistance aux antibiotiques et une production d'amines biogènes.

Remerciements

Ce travail a bénéficié d'un financement dans le cadre d'un programme européen Tradisausage QLK1-CT2002-02240. (<http://www.clermont.inra.fr/tradisausage/>).

B I B L I O G R A P H I E

- AMMOR S., YAAKOUBI K., CHEVALLIER I., DUFOUR E., 2004.** Identification by fluorescence spectroscopy of lactic acid bacteria isolated from small-scale facility producing dry sausages. *J. Microbiol. Meth.*, 59, 271-281.
- AMMOR S., RACHMAN C., CHAILLOU S., PRÉVOST H., DOUSSET X., ZAGOREC M., DUFOUR E., CHEVALLIER I., 2005.** Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from a small-scale facility producing traditional dry sausages. *Food Microbiology*, 22, 373-382.
- AYMERICH M.T., MARTÍN B., GARRIGA M., HUGAS M., 2003.** Microbial Quality and Direct PCR Identification of Lactic Acid Bacteria and Nonpathogenic Staphylococci from Artisanal Low-Acid Sausages. *Appl Environ Microbiol.*, 69, 4583-4594.
- BOUVET P., 1982.** Value of the vibriostatic compound O/129 for the differentiation of the genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*. *Ann. Microbiol. Paris* 133 (3), 449-453.
- BOVER-CID S., HOLZAPFEL W.H., 1999.** Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 53, 33-41
- CORBIÈRE MOROT-BIZOT S., TALON R., LEROY S., 2004.** Development of a multiplex PCR for the identification of *Staphylococcus* genus and staphylococcal species isolated from food. *J. Appl. Microbiol.*, 2004: 97: 1087-1094.
- CORBIÈRE MOROT-BIZOT S., LEROY S., TALON R., 2006.** Monitoring of staphylococcal starters in two French processing plants manufacturing fermented sausages. *J. Appl. Microbiol.* In Press.
- CHEVALLIER I., 2006.** Saucissons secs fermiers du Massif central. Analyse des points critiques des ateliers fermiers de fabrication de saucissons secs. *Viandes et Produits Carnés*, Vol. 25, Article 3, ce numéro.
- GARCÍA-VARONA M., SANTOS E. M., JAIME I., ROVIRA J., 2000.** Characterisation of Micrococcaceae isolated from different varieties of chorizo. *Int. J. Food Microbiol.* 54, 189-195.
- GIAMMARINARO P., LEROY S., CHACORNAC J.P., DELMAS J., TALON R., 2005.** Development of "Staph Array" a new oligonucleotide array to identify staphylococcal strains at species level. *J. Clin. Microbiol.* 43 (8): 3673-3680.
- HUGAS M., GARRIGA M., AYMERICH T., MONFORT J.M. (1993)** Biochemical characterization of lactobacilli from dry fermented sausages. *Int J Food Microbiol* 18, 107-113.
- LEBERT I., LEROY S., GIAMMARINARO P., CHACORNAC J.P., R. TALON R. (2006a).** Saucissons secs fermiers du Massif central. Ecosystèmes microbiens des saucissons et de l'environnement. *Viandes et Produits Carnés*, Vol. 25(5), 165-170.
- LEBERT I., LEROY S., LEBECQUE A., CHACORNAC J.P., TALON R., 2006b.** Saucissons secs fermiers du Massif central. Développement d'un ferment indigène pour améliorer la sécurité et maintenir la typicité des saucissons, *Viandes et Produits Carnés*, Vol. 25(5), 177-180.
- LEBLANC L., DUFOUR E., 2002.** Monitoring the identity of bacteria using their intrinsic fluorescence. *FEMS Microbiological Letter*, 211, 147-53.
- MARTÍN B., GARRIGA M., HUGAS M., BOVER-CID S., VECIANA-NOGUES M.T., AYMERICH T., 2006.** Molecular, Technological and safety characterization of Gram-positive, catalase-positive cocci from slightly fermented sausages. *Int. J. Food Microbiol.* 107: 147-158.
- MOROT-BIZOT S., TALON R., LEROY-SETRIN S., 2003.** Development of specific PCR primers for a rapid and accurate identification of *Staphylococcus xylosum*, a species used in food fermentation. *J. Microbiol. Methods* 55, 279-286.
- PLANCHON S., GAILLARD-MARTINIE B., DORDET-FRISONI E., BELLON-FONTAINE M.N., LEROY S., LABADIE J., HÉBRAUD M., TALON R., 2006.** Formation of biofilm by *Staphylococcus xylosum*. *Int. J. Food Microbiol.* 109, 88-96.
- PLANCHON S., GAILLARD-MARTINIE B., LEROY S., BELLON-FONTAINE M.N., FADDA S., TALON R. 2007.** Surface properties and behaviour on abiotic surfaces of *Staphylococcus carnosus*, a genetically homogeneous species. *Food Microbiology*, 24, 44-51.
- SANTOS E.M., GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ C., JAIME I., ROVIRA, J., 1998.** Comparative study of lactic acid bacteria house flora isolated in different varieties of "chorizo". *Int J. Food Microbiol* 39, 123-128.