



La fermentation et le séchage sont des procédés reconnus pour réduire les flores pathogènes et d'altération apportées initialement par la matière première. Ces effets barrières sont attribués au pH, à la faible activité de l'eau (aW), à la présence de sels (nitrites, nitrates), d'épices et à la compétition microbienne. En France, cet effet inhibiteur a été largement étudié et démontré pour des produits fermentés séchés comme le saucisson sec (1), mais, très peu étudié pour le chorizo. Cependant, les études bibliographiques émanant des pays producteurs et consommateurs (Espagne, Mexique, Amérique du sud) mettent en évidence des prévalences en bactéries pathogènes relativement élevées et soulignent l'implication du chorizo dans des toxi-infections alimentaires (2, 3, 4, 5, 6, 7). Dans ce contexte, l'objectif de cette étude était de décrire l'écologie microbienne du chorizo fabriqué par les industriels français qui diffère du produit ibérique en particulier au niveau de la formulation.

Écologie microbienne du chorizo français

Incidence des paramètres technologiques sur la sécurité et la salubrité des produits

Dans le cadre de ce programme de recherche financé par France AgriMer (anciennement Office de l'élevage) et par cinq entreprises partenaires, l'écologie microbienne du chorizo fabriqué par les industriels français a été étudiée. Il s'est avéré que les matières premières sont contaminées par la flore d'altération et par des bactéries pathogènes. Le procédé de fabrication a un effet assainissant vis-à-vis de la flore pathogène, et plus ou moins important selon les salaisons vis-à-vis de la flore d'altération citée.

CHRISTIEANS S. ⁽¹⁾,
DORCHIES G., CHACORNAC J.-P., LÉROY S., TALON R. ⁽²⁾

⁽¹⁾ Adiv, Pôle Hygiène & Sécurité des Aliments
10, rue Jacqueline Auriol, ZAC Parc Industriel des Gravanches
63039 CLERMONT-FERRAND Cedex 2

⁽²⁾ Inra, UR 454 Microbiologie, Centre Clermont-Ferrand – Theix,
63 122 SAINT-GENÈS CHAMPANELLE

Science et technique

RÉSULTATS/DISCUSSION

Dénombrement des flores technologiques et d'altération au cours des procédés

Les germes d'intérêt technologique (LAB, CGC +) ensemencés ont évolué de façon classique et identique à celle observée dans le saucisson sec. En effet, pour les cinq salaisons, on note une flore technologique comparable, liée à l'utilisation d'un ferment aux mêmes concentrations. Les ferments sont en effet composés d'un mélange de bactéries lactiques et de staphylocoques et sont souvent ensemencés à raison de 6 log/g de produit. À J0, la flore lactique présente une concentration initiale moyenne de 6 log/g qui croît rapidement pendant l'étuvage (environ 8 log/g) et se stabilise ou croît légèrement en fin de séchage. Les staphylocoques présentent également une concentration initiale moyenne de 6 log/g et cette concentration reste constante jusqu'à la fin du séchage ou diminue légèrement.

Les flores d'altération en concentrations initiales élevées (notamment : *Pseudomonas*, *Brochothrix*, levures et moisissures) tendent à diminuer au cours du procédé, mais ne disparaissent pas totalement en fin de séchage. Par exemple, dans certaines salaisons, la concentration en *Pseudomonas* ou *Brochothrix* en fin de séchage est autour de 3 log ufc/g. Pour les entérobactéries, la contamination initiale était variable selon les ateliers (de 1 à 4 log/g), mais tendait à disparaître en fin de séchage tout comme une majorité de la flore indicatrice d'hygiène. Le traitement statistique (test ANOVA) de l'ensemble des données issues des cinq campagnes et des cinq salaisons n'a pas mis en évidence un effet campagne de prélèvement. Ce résultat peut s'expliquer par le délai court entre les cinq campagnes (15 jours en moyenne), ou par l'approvisionnement auprès des mêmes fournisseurs durant cette période. Par contre, un effet salaison et stade du procédé ont été mis en évidence. L'effet salaison est noté pour l'ensemble des germes à l'exception des *Pseudomonas* dont les taux sont identiques dans les cinq salaisons et de la flore lactique apportée par les ferments. Les figures 1 et 2 illustrent respectivement l'exemple de *Brochothrix* et d'*E. coli*. L'effet procédé est lié aux étapes d'étuvage et de séchage qui ont permis une

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Échantillonnage

Pour évaluer l'écologie microbienne du chorizo de procédés français, des campagnes de prélèvement ont été effectuées chez cinq entreprises partenaires aux trois stades clés de la fabrication : à J0 (le jour de la fabrication) pour évaluer et recenser la contamination initiale, à J6 (fin d'étuvage) pour suivre l'évolution de la flore après la phase d'acidification et à J21 (fin de séchage) pour déterminer la flore finale des produits. Pour chaque entreprise, cinq campagnes de prélèvement (cinq répétitions) ont été réalisées soit un total de 75 produits (25 par stade).

Suivis microbiologiques

Pour chaque produit, les recherches et les dénombrements des germes suivants ont été effectués : la flore technologique (flore lactique, coques Gram positifs catalase positifs : CGC +), la flore d'altération (*Pseudomonas*, entérobactéries, *Brochothrix*, levures et moisissures), la flore indicatrice d'hygiène (*Echerichia coli*, *Enterococcus*, coliformes thermotolérants) et la flore pathogène (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* et *Clostridium*). La recherche et/ou le dénombrement des différentes flores ont été réalisés selon les méthodes NF ou ISO en vigueur.

Caractérisation des bactéries pathogènes isolées : identification, diversité et sérotypage

Pour chaque échantillon ayant donné un résultat positif en bactéries pathogènes, trois à cinq colonies caractéristiques ont été isolées afin :

- de les identifier par des PCR (Polymerase Chain Reaction) spécifiques d'espèces pour *L. monocytogenes* (8) et *S. aureus* (9) ;
- d'évaluer leur diversité par la méthode d'électrophorèse en champ pulsé (ECP). Cette technique est basée sur l'électrophorèse de fragments d'ADN générés après l'action d'une enzyme de restriction à faible fréquence de coupure. Le pulsotypage permet ainsi de créer des signatures spécifiques de souches bactériennes (pulsotypes), assimilables à des codes-barres. L'évaluation de la similitude entre plusieurs profils ECP est réalisée par construction de dendrogrammes UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averaging) avec le logiciel GelCompar. Cette technique a été utilisée pour la caractérisation génétique d'isolats de *S. aureus* (Salaisons n° 2 et 4), de *L. monocytogenes* (Salaisons n° 1 et 2) et de *Salmonella* (Salaisons n° 2 et 4). Les enzymes de restriction utilisées ont été SmaI et ApaI pour *S. aureus*, ApaI pour *L. monocytogenes* et XbaI pour *Salmonella* ;
- de déterminer le sérotype des isolats de *L. monocytogenes* et de *Salmonella*. Le sérotypage des isolats de *L. monocytogenes* a été réalisé à l'aide du KIT Biomérieux dont le principe est basé sur la technique d'agglutination sur lame pour la présence de l'antigène O et d'agglutination en tube pour la détermination de l'antigène H. Pour les isolats de *Salmonella*, le sérotypage a été effectué à l'aide d'une méthode sérologique par l'Afssa.
- de mettre en évidence la production potentielle d'entérotoxines pour les isolats de *S. aureus* (profils dominants par PFGE) par méthode immunologique à l'aide du kit commercial TRANSIA (Transia-Diffchamb). Le principe de ce kit est basé sur la technique ELISA sandwich qui emploie un mélange d'anticorps mono- et polyclonaux pour la détection de cinq entérotoxines (SEA à SEE), mais elle n'identifie pas les entérotoxines individuellement. Ce kit a été validé par l'Afnor pour la détection d'entérotoxines staphylococciques dans des échantillons d'aliments et des milieux de culture.

réduction significative de germes pathogènes (*Cl. perfringens*, *Listeria* et *S. aureus*), d'altération (*Pseudomonas*, *Brochothrix*) ou indicateurs d'hygiène (*E. coli*, entérobactéries, coliformes). La figure 3 montre un exemple d'interaction procédé/salaison pour le germe *Pseudomonas*.

Dénombrement des bactéries pathogènes au cours des procédés

Des dénombrements ont été effectués pour les germes pathogènes (à l'exception des salmonelles). Pour *L. monocytogenes* aucun échantillon n'a présenté de dénombrement supérieur au seuil de détection (10 germes/g de produit). Les produits sont conformes

vis-à-vis du règlement CE 2073/2005. Pour *Cl. perfringens* (germe non réglementaire), trois salaisons sur cinq ont donné des résultats négatifs pour cette bactérie, alors que les deux autres présentaient à J0 des taux moyens de 2,8 log/g pour la salaison 1 et de 3,5 log/g pour la salaison 4. Pour ces deux ateliers, les étapes d'étuvage et de séchage ont permis une disparition totale de ce germe. Dans le cas de *S. aureus*, deux salaisons sur cinq ont donné des dénombrements positifs, mais à des taux variables. En effet, la salaison 2 présentait à J0 des valeurs moyennes de 0,5 log/g qui ont diminué au fur et à mesure des étapes pour disparaître en fin de séchage, alors que la salaison 4 avait des taux moyens de 2,5 log/g avec une réduction moyenne

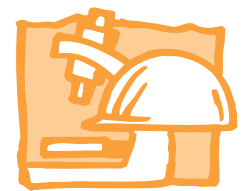


Figure 1
CONCENTRATION MOYENNE DES *BROCHOTHRIX*
(MOYENNE DES 5 PRÉLÈVEMENTS)
EN FONCTION DE LA SALAISON

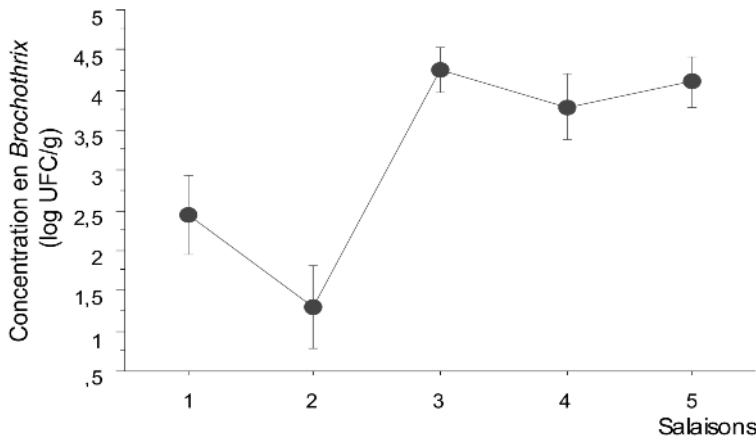


Figure 2
CONCENTRATION MOYENNE D' *E. COLI*
(MOYENNE DES 5 PRÉLÈVEMENTS)
EN FONCTION DE LA SALAISON

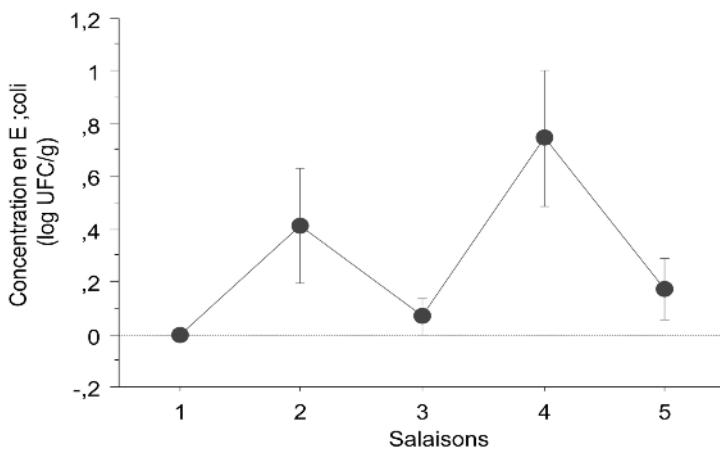
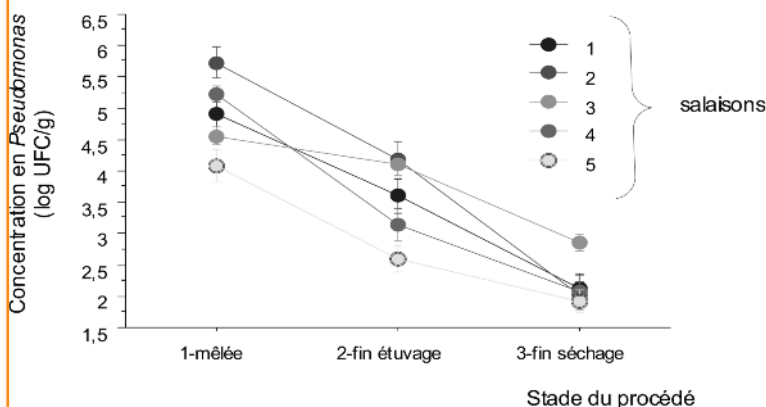


Figure 3
ÉVOLUTION DES *PSEUDOMONAS*
SELON LA SALAISON (1 À 5)
ET LE STADE DU PROCÉDÉ



d'environ 1 log en fin de séchage. Les concentrations finales varient de 1,2 à 2 log/g, ces valeurs sont considérées conformes sur la base de l'ancienne réglementation (arrêté de décembre 1979).

Prévalence des bactéries pathogènes au cours des procédés

La prévalence a été déterminée aux 3 stades clés retenus dans cette étude : après embossage (équivalent matière première) et après les phases d'étuvage et de séchage et sur l'ensemble des résultats issus des 5 salaisons (25 échantillons par stade). Comme le montre le tableau 1, les échantillons analysés à J0 témoignent de prévalences relativement élevées pour les 4 bactéries pathogènes recherchées. Pour *L. monocytogenes* et *Salmonella*, les prévalences obtenues sur les matières premières (respectivement 36% et 20%) vont dans le même sens que les résultats décrits dans la littérature. En effet, plusieurs publications montrent que 30 à 35% des viandes de porc sont contaminées en *L. monocytogenes* (10, 11) et en moyenne, 20 à 24% des viandes de porc sont contaminées en *Salmonella* (12, 13). Pour ce dernier germe, l'étude de la prévalence menée par l'EFSA (Autorité européenne de sécurité des aliments) au niveau de l'Europe et publiée en juillet 2008 (www.efsa.europa.eu) a montré que globalement, 10% des carcasses de porc sont contaminées (moyenne européenne) et qu'en France 18% des échantillons étaient contaminés en *Salmonella*. Les autres germes, *Cl. perfringens* et *S. aureus*, considérés comme des germes à risque intermédiaire dans la viande de porc car classés en 3^e position dans les toxi-infections alimentaires (14), montrent également des prévalences relativement élevées. Pour *S. aureus*, la prévalence obtenue dans cette étude (32%) est supérieure à celle obtenue par une équipe italienne (15). Pour *Cl. perfringens*, la seule étude conséquente sur la prévalence de ce germe dans les produits de salaison a été conduite en 2002 par une équipe argentine (16) qui citait une prévalence moyenne de 24,4%, proche de la prévalence obtenue dans cette étude (28%).

Pour les échantillons analysés en fin d'étuvage, les prévalences ont été nettement réduites à 8% pour *L. monocytogenes*, *Salmonella* et *Cl. perfrin-*

gens et plus faiblement à 24% pour *S. aureus*. La réduction significative obtenue pour les trois premiers germes est certainement liée à leur sensibilité aux pH acides. A l'inverse, la réduction moins importante des *S. aureus* peut être expliquée par la résistance de ce groupe bactérien à l'acidité.

En fin de séchage (stade crucial, correspondant au début de la commercialisation des produits), on note une absence de *Cl. perfringens* et de *L. monocytogenes*, une très faible contamination résiduelle en *Salmonella* (1,3%), liée à une seule présence en fin de séchage. Pour le germe *S. aureus*, 20% des échantillons sont encore positifs à ce stade, mais avec des valeurs considérées conformes sur la base de l'ancienne réglementation (arrêté de décembre 1979).

À noter que pour le germe *E. coli O157 : H7*, la recherche n'a été effectuée qu'en fin de séchage (par sondage) et qu'aucun échantillon ne s'est révélé positif pour cette bactérie pathogène.

Ces résultats de prévalence montrent l'importance des étapes d'étuvage et de séchage car, malgré des prévalences initiales élevées, le procédé de fabrication chez les cinq industriels partenaires de cette étude a permis un assainissement des produits, excepté pour *S. aureus* dont la prévalence est restée relativement élevée (20%), mais à des seuils classant les produits dans la catégorie « conformes ».

Identification des bactéries pathogènes

Pour chaque échantillon contaminé en *L. monocytogenes* et *Salmonella* (les 2 germes pathogènes réglementaires), 3 à 5 colonies caractéristiques ont été isolées et conservées en cryobilles à -20°C. Cette étape d'isolement a également concerné l'espèce *S. aureus* du fait de sa forte prévalence et de sa présence en fin de séchage. Le tableau 2 résume le nombre d'isolats recueillis pour chaque espèce bactérienne et dans chaque atelier de fabrication.

Les 33 isolats de *L. monocytogenes* issus des salaisons 1 et 2 isolés sur milieu ALOA (Agar Listeria selon Ottaviani et Agosti) ont bien été confirmés par PCR comme appartenant à l'espèce à *L. monocytogenes* (la figure 4 illustre un exemple). Sur les 69 isolats de *Staphylococcus*

Tableau 1
PRÉVALENCE DES BACTÉRIES PATHOGÈNES DANS LES 5 SALAISONS PARTENAIRES
(25 échantillons par stade d'analyse)

Flore pathogène	J0 (matière première)	Fin étuvage	Fin de séchage
<i>L. monocytogenes</i>	36%	8%	0%
<i>Salmonella</i>	20%	8%	1,30%
<i>S. aureus</i> *	32%	24%	20%
<i>Cl. Perfringens</i>	28%	8%	0%
<i>E. Coli O157 : H7</i>	ND	ND	0%

Tableau 2
NOMBRE D'ISOLATS RECUEILLIS POUR CHAQUE ESPÈCE BACTÉRIENNE ET POUR CHAQUE ATELIER DE FABRICATION

	<i>L. monocytogenes</i>	Salmonelles	<i>S. aureus</i>
Salaison 1	22	0	0
Salaison 2	11	5	10
Salaison 3	0	0	0
Salaison 4	0	25	56
Salaison 5	0	0	0
Total	33	30	66

Figure 4
EXEMPLE DE RÉSULTATS PCR POUR L'IDENTIFICATION DES ISOLATS DE *L. MONOCYTOGENE* (SALAISONS 1 ET 2)

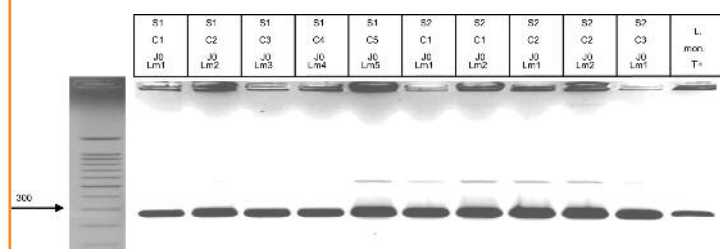
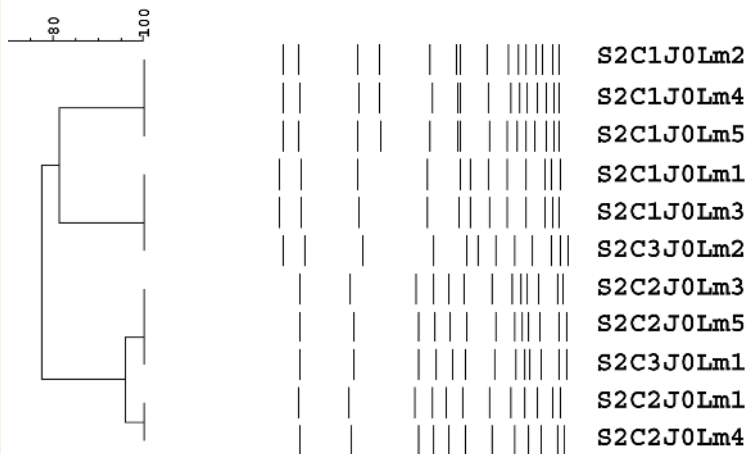


Tableau 3
RÉSULTATS DU SÉROTYPAGE ET DU PULSOTYPAGE DES ISOLATS DE SALMONELLA ISSUS DE LA 1^{RE} CAMPAGNE DE PRÉLÈVEMENT DE LA SALAISON 4

	Isolat	Résultat sérotypage	Profil PFGE
Salaison 4 : isolats recueillis à J0 après embossage	1 isolat	Derby	Sm2
	3 isolats	<i>Typhimurium</i>	Sm3
	1 isolat	<i>Typhimurium</i>	Sm4
Salaison 4 : isolats recueillis en fin d'étuvage	1 isolat	<i>Typhimurium</i>	Sm4
	1 isolat	<i>Typhimurium</i>	Sm5
Salaison 4 : isolats recueillis en fin de séchage	4 isolats	<i>Typhimurium</i>	Sm9
	1 isolat	<i>Typhimurium</i>	Sm10



Figure 5
CLASSEMENT DES PULSOTYPES APA I
DES SOUCHES DE *L. MONOCYTOGENES* – SALAISON 2



L'indice de similarité, déterminé par le coefficient de Dice est exprimé en %

aureus isolées des salaisons 2 et 4 sur milieu Baird Parker supplémenté avec RPF (rifampicine), 66 isolats ont été identifiés à l'espèce.

Évaluation de la diversité des isolats des bactéries pathogènes par PFGE

Pour les isolats de *L. monocytogenes*, le pulsotypage avec ApaI a montré que dans la salaison 1, les 22 isolats ont le même pulsotype nommé « L1 ». Une souche dominante contamine la matière première de cette salaison et ceci aux cours des cinq campagnes de prélèvements. Cet apport continu de *L. monocytogenes* est très certainement réalisé par la matière première (viande crue) s'il s'agit d'un même fournisseur. Il est peut-être également dû à la persistance de cette souche sur les surfaces et plans de travail de la matière première (biofilm). Dans le cas de la salaison n° 2, le pulsotypage sur les 11 isolats a permis d'identifier trois pulsotypes (figure 5) dont un est identique à L1 de la salaison 1. Ces trois souches contaminent la matière première et ont été détectées lors de trois campagnes.

Les 10 isolats de *S. aureus* de la salaison 2 se répartissent dans trois pulsotypes, SA (quatre isolats), SB (quatre isolats) et SC (deux isolats). Ces trois souches (ou pulsotype) ont été isolées de la matière première lors de trois campagnes de prélèvements. Pour la salaison 4, 40 isolats ont été typés avec l'enzyme de restriction SmaI et

16 isolats avec ApaI (ADN de ces isolats non digéré par SmaI). Les 40 isolats se répartissent en quatre pulsotypes (SA, SB, SC, SD) dont le pulsotype SC est majoritaire (34 isolats). Les trois premiers pulsotypes sont communs aux deux salaisons. Pour les 16 autres isolats, six profils différents sont retrouvés avec un profil majoritaire SE (10 isolats). Au total 10 souches sont présentes dans la salaison 4 révélant une diversité importante. Cependant, la souche dominante SC et la souche sous dominante SE sont détectées lors des cinq campagnes de prélèvements et des trois étapes des fabrications : matière première, étuvage et stade final. Ces deux souches sont très bien adaptées au procédé de fabrication d'un chorizo et leur persistance dans l'environnement devrait être vérifiée (biofilm).

Les cinq isolats de *Salmonella* issus d'une seule campagne de prélèvement de la salaison 2 sont identiques (Sm1). La souche détectée en début de fabrication (J0) a disparu dès la phase d'étuvage. Dans le cas de la salaison 4, des *Salmonella* ont été détectés lors de 4 campagnes de prélèvements et aux différents stades de fabrication. Sur les 25 isolats, 9 pulsotypes (Sm2-Sm10) ont été trouvés, révélant une grande diversité des souches isolées. Dans la première campagne de prélèvement, les échantillons étaient positifs à tous les stades de fabrication (J0, J3 et J21). À J0, trois pulsotypes sont trouvés dans la matière première (Sm2, Sm3, Sm4) dont un était encore présent au stade étuvage (Sm4) avec

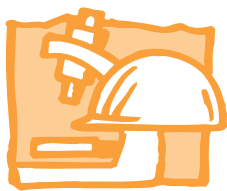
un nouveau (Sm5). Au stade final, ce sont des pulsotypes différents de ceux présents au départ et après étuvage (Sm9 et Sm10), avec une dominance du profil Sm9 (quatre isolats sur 5). Ce résultat suggère que la matière première est contaminée par l'ensemble des pulsotypes avec une dominance pour certains. Puis, au cours du procédé, les pulsotypes minoritaires au départ deviennent majoritaires en fin de séchage. Cette pression de sélection des souches de *Salmonella* au cours du procédé a été également notée dans la deuxième campagne de prélèvement où *Salmonella* était présente à J0 et en fin d'étuvage. Dans les deux autres campagnes de prélèvements, des souches étaient présentes uniquement à J0.

Sérotypage des isolats de *L. monocytogenes* et *Salmonella*

Les résultats du sérotypage des isolats de *L. monocytogenes* ont montré que le sérotype 1/2a est majoritaire dans les deux salaisons (50% et 58%, respectivement pour les salaisons 1 et 2). Ce sérotype est suivi par le sérotype 1/2b (environ 26% pour les deux salaisons), alors que le sérotype 1/2c est minoritaire. Ces résultats sont conformes à ceux décrits dans la littérature et montrent la dominance du sérotype 1/2a dans les viandes de porc, des produits fermentés comme le saucisson sec et sur les surfaces des ateliers (17, 18). Il n'y pas de corrélation entre le sérotype et le pulsotype.

Les cinq isolats de *Salmonella* de la salaison 2 appartiennent au même sérotype *Salmonella* Derby et au même pulsotype Sm1 confirmant que l'on a une seule souche qui contamine la matière première.

Dans le cas de la salaison 4 où *Salmonella* a été isolée dans quatre campagnes de prélèvements sur cinq, le sérotype *Typhimurium* est dominant et représente 20 isolats sur 25. D'après les travaux publiés (19, 20) et la récente étude conduite par l'EFSA au niveau de l'Europe, ce sérotype est en effet trouvé majoritaire dans les viandes de porc. Dans le cas de la salaison 4, dans la première campagne où *Salmonella* a été détectée à J0, en fin d'étuvage et en fin de séchage (pour un même lot), les résultats du sérotypage et le pulsotype correspondant sont résumés dans le tableau 3. On constate que différentes souches de *Salmonella Typhimurium* se succèdent au cours du procédé.



Dosage des entérotoxines des isolats de *S. aureus*

Les résultats du dosage *in vitro* des entérotoxines ont montré qu'aucun isolat (66 isolats) ne produit les entérotoxines ciblées par le kit. La production d'entérotoxines dépend des conditions de cultures et il faut noter que les conditions de culture *in vitro* ne reflètent pas les conditions d'expression *in situ* dans les aliments (température, pH, acides organiques...). Les conditions d'expression des entérotoxines dans les produits carnés ne sont pas encore connues.

CONCLUSION

L'écologie microbienne du chorizo de procédé français est très proche de celle du saucisson sec méditerranéen et des chorizos de différents pays pour les flores technologiques en raison de leur ensemencement. Pour la flore d'altération, cette étude a mis en évidence des contaminations importantes dans les matières premières et cette flore peut résister aux procédés d'étuvage et de séchage (21, 22, 23). Pour les bactéries pathogènes, malgré des prévalences élevées sur les matières premières de départ, le procédé technologique appliqué par les industriels en France permet un effet assainissant. Cette prévalence en bactéries pathogènes en fin de séchage est plus faible sur les chorizos étudiés que celle publiée sur les chorizos de différents pays producteurs et consommateurs (2, 3, 7).

Malgré l'effet assainissant du procédé, cette étude a souligné l'importance de la qualité microbiologique des matières premières qui rentrent dans la fabrication du chorizo. Cette qualité représente un point critique car, pour la flore pathogène, en cas de non-maîtrise du procédé ou accident technologique, les produits pourraient être non conformes. De la même façon, il est important pour les industriels de maîtriser la flore d'altération qui peut être à l'origine de défauts organoleptiques ou d'accidents technologiques (poissage, mauvaise liaison, odeurs anormales...).

BIBLIOGRAPHIE

- 1- THEVENOT, D., DELIGNETTE-MULLER ML., CHRISTIEANS S., VERNZOY-ROZAND C. 2005. Fate of *Listeria monocytogenes* in experimentally contaminated French sausages. *Int. J. Food Microbiol.* 101 (2), 189-200.
- 2- BELLO-PEREZ LA. 1993. Serotypes of *Salmonella* identified in chorizos for sale in Acapulco, Guerrero, Mexico. *Rev Latinoam Microbiol.* 35, 377-381.
- 3- BELLO-PEREZ LA AND ABARCA MATEOS C. 1991. The incidence of *Salmonella* in the chorizos that are retailed in Acapulco, Guerrero. *Salud Publica Mex.* 33, 178-83.
- 4- HEW, C.M., HAJMEER, M.N., FARVER, T.B., GLOVER J.M., CLIVER D.O. 2005. Survival of *Listeria monocytogenes* in experimental chorizos. *J. Food Prot.* 68, 324-330.
- 5- LETERTRE C, PERELLE S, DILASSER F AND FACH P. 2003a. Identification of a new putative enterotoxin SEU encoded by the *egc* cluster of *Staphylococcus aureus*. *J. Appl. Microbiol.* 95, 38-43.
- 6- MARTIN B, GARRIGA M, HUGAS M AND AYMERICH T. 2005. Genetic diversity and safety aspects of enterococci from slightly fermented sausages. *J. Appl. Microbiol.* 98, 1177-90.
- 7- MORERA J, RODRIGUEZ E AND GAMBOA MM. 1999. Determination of *Clostridium perfringens* in pork sausages from Metropolitan area of Costa Rica. *Ach Latinoam Nutr.* 49, 279-82.
- 8- SIMON, C. M. , GRAY, D. I. AND COOK, N. 1996. DNA extraction and PCR methods for the detection of *Listeria monocytogenes* in cold-smoked Salmon. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 822-824.
- 9- MARTINEAU F., PICARD F., ROY P., OUELLETTE M. AND BERGERON M. 1998. Species-specific and ubiquitous-DNA based assays for rapid identification of *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* 36, 618-623.
- 10- DE CESARE A., MIONI R AND MANFREDA G. 2007. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in fresh and fermented Italian sausages and ribotyping of contaminating strains. *Internation Journal of Food Microbiol.* 120, 124-130.
- 11- THEVENOT D., DELIGNETTE-MULLER ML., CHRISTIEANS S., VERNZOY-ROZAND C. 2005. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in 13 dry sausage processing and their products. *Int. J. Food Microbiol.* 102 (1), 85-94.
- 12- MURMANN L, DOS SANTOS M.C AND CARDOSO M. 2008. Prevalence, genetic characterization and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from fresh pork sausages in Porto Alegre, Brazil. *Food Control.* 20, 191-195.
- 13- MREMA N, MPUCHANE S AND GASHE B. 2006. Prevalence of *Salmonella* in raw minced meat, raw fresh sausages and raw burger patties from retail outlets in Gaborone Botswana. *Food Control.* 17, 207-212.
- 14- MATARAGAS M, SKANDAMIS PN AND DROSINOS EH. 2008. Risk profiles of pork and poultry meat and risk ratings of various pathogen/product combinations. *Int. J. Food Microbiol.* 126, 1-12.
- 15- BENITO MJ, SERRADILLA MJ, MARTÍN A, ARANDA E, HERNÁNDEZ A AND. CORDOBA MG. 2008. Differentiation of *Staphylococci* from Iberian dry fermented sausages by protein fingerprinting. *Food Microbiol.* 25, 676-682.
- 16- STAGNITTA PV, MICALIZZI B AND STEFANINI DE GUZMAN AM. 2002. Prevalence of Enterotoxigenic *Clostridium* in meats in San Luis, Argentina. *Anaerobe.* 8 (5), 253-258.
- 17- MELONI D, GALLUZO P, MUREDDU A, PIRAS F, GRIFFITHS M AND MAZZETTE R. 2009. *Listeria monocytogenes* in RTE foods marketed in Italy : prevalence and automated EcoRI ribotyping of the isolates. *Int. J. Food Microbiol.* 129, 166-173.
- 18- THEVENOT D., DELIGNETTE-MULLER ML., CHRISTIEANS S., LEROY-SETRIN S., VERNZOY-ROZAND C. 2006. Serological and molecular ecology of *Listeria monocytogenes* isolates collected from 13 French pork meat salting-curing plants and their products. *Int. J. Food Microbiol.* 112 (2), 153-161.
- 19- ANONYMOUS, 2007b. Principes de travail pour l'analyse des risques en matière de sécurité sanitaire des aliments destinés à être appliqués par les gouvernements. *Codex Alimentarius.* P5.
- 20- DELHALLE L, SAEGERMAN C, FARNIR F, NORSAK N, MAES D, MESSENS W, DE SADELEER L, DE ZUTTER L AND DAUBE G. 2009. *Salmonella* surveillance and control at post-harvest in the Belgian pork meat chain. *Food Microbiol.* Article in press.
- 21- GOUNADAKI AS., SKANDAMIS PN., DROSINOS EH. AND NYCHAS JE. 2008. Microbial ecology of food contact surfaces and products of small-scale facilities producing traditional sausages. *Food Microbiol.* 25, 313-323.
- 22- GARCÍA-FONTÁN MC., LORENZO JM., MARTÍNEZ S., FRANCO I. AND CARBALLO J. 2007. Microbiological characteristics of Botillo, a Spanish traditional pork sausage. *Food Sci. Technol.* 40, 1610-1622.
- 23- CASTAÑO A., GARCÍA FONTÁN MC., FRESNO JM., TORNADIJO ME. AND J. CARBALLO. 2002. Survival of Enterobacteriaceae during processing of Chorizo de cebolla, a Spanish fermented sausage. *Food Control.* 13, 107-115.