

COMPTE RENDU D'ESSAI – ACTION 1.2

Quelles sont les spécificités des microbiotes en surface des zones de couchage des vaches laitières selon le type de logement en place et la litière utilisée ?

Date : 18/12/2024

Rédaction : Cresciense Lecaude (contact : cresciense.lecaude@ceraq.fr)

Relecture : COPIL / Léa Carlesso (Ceraq)

Contexte

Les laits crus présentent une diversité et une richesse microbienne importante, influencée par le microbiote des trayons des animaux (Yan *et al*, 2022). Ce dernier est en interaction étroite avec le microbiote de l'environnement, (air, litière, bouse), et peut présenter certaines similitudes avec ces différents réservoirs (Marchandise, 2019). La sécurité sanitaire des laits crus est en enjeu majeur, avec le besoin de conserver une flore suffisamment abondante et riche pour maintenir une compétition suffisante envers les flores indésirables et pathogènes. De plus, certaines espèces du lait cru, même minoritaires dans les fromages, ont été associées à des qualités organoleptiques des fromages intéressantes ainsi qu'à des effets bénéfiques sur pour la santé humaine (Bettera *et al*, 2023; Montel *et al*, 2014), d'autres ont même des effets anti *Listeria* et *Salmonella* in vitro (Chanos & Williams 2011; Aljasir & D'amico, 2023). Le lien indirect entre les laits crus et les litières est donc important, au regard du transfert probable de certaines bactéries indésirables ou pathogènes dans les laits.

Les filières fromagères des Savoie se sont donc investies dans l'étude des microbiotes des litières de différents systèmes (un système correspondant à un type de logement pour vaches laitières avec une nature de litière donnée), afin de comprendre leur composition bactérienne, leur structuration et leur dynamique temporelle. Le but de cette étude est avant tout d'apprécier davantage l'intérêt sanitaire et qualitatif des différents systèmes investigués, et de comprendre comment leurs particularités influencent certaines espèces et de quelle manière elles le font.

Pour répondre à ces questions, l'action 1 du projet LITIÈRES a pour objectif de caractériser les écosystèmes microbiens des litières de différents systèmes (logements + nature de la litière) par des analyses métagénomique et métagénomique.

Matériel et méthodes

1. Plan d'expérience

Modalités, répétitions, réplicats, choix des fermes

Dans cette étude, 25 fermes ont été suivies, avec 5 fermes par système :

- logettes paillées
- logettes sciure
- logette avec tapis
- aires paillées
- entraves paillées

Les exploitations laitières ont été choisies selon plusieurs critères :

- l'exploitation laitière est située en Savoie ou Haute-Savoie
- le lait est destiné à la fabrication de fromage au lait cru (IGP Savoie, AOP, fermier)
- l'ensilage n'est pas utilisé dans la ration des vaches

- Logette sciure
- Logette tapis
- Logette paille
- Entrave paille
- Aire paillée

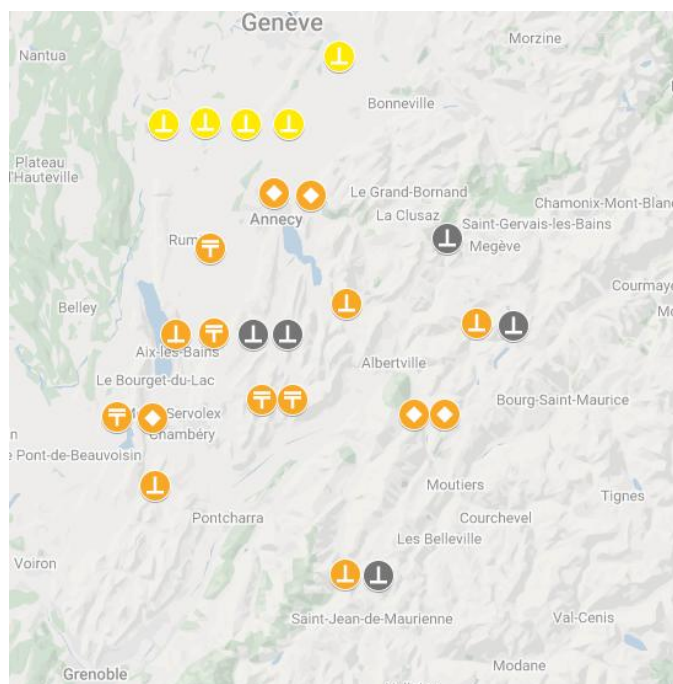


Figure 1 : Localisation des différentes fermes investiguées durant l'essai.

Dans chaque ferme, 3 répétitions dans le temps furent réalisées à plus ou moins un mois d'intervalle. Les échantillons relatifs au metabarcoding furent réalisés comme suit : l'opérateur plaçait une pédichiffonnette sur une botte lestée et réalisait 40 pas le long d'un transect au sein de l'exploitation. Cette opération était réalisée 3 fois pour l'obtention des 3 réplicats biologiques au sein de chaque répétition. Les transects étaient définis de manière à ne pas échantillonner les zones bousées, ni les couloirs de stabulation.

Les échantillons relatifs aux analyses pasteurienues étaient réalisés de la même façon avec un seul transect pour les analyses suivantes : Flore mésophile aérobie revivifiable (FMAR), flore lactique mésophile, flore d'affinage, batteries à gram négatif (G-), levures, moisissures, coliformes fécaux et bactéries butyriques. Un autre transect était réalisé dans le but de rechercher et dénombrer les *Listeria spp*, *Listeria monocytogenes* et *Salmonella*. 500 g de litière étaient récupérés au niveau des transects pour mesurer in fine le pourcentage de matière sèche et le pH de la litière. Ce dernier échantillon était réalisé en prélevant 10 poignées espacées régulièrement à la surface des litières.

20 poignées réparties entre la surface et la profondeur du stock furent prélevées et mises en sac, puis à partir de cet échantillon composite 50 g étaient dédiés aux analyses pasteurienues citées ci-dessus (1 échantillon), 2* 50 g à la recherche de pathogènes (2 échantillons) et 500 g dédiés aux mesures de pourcentage de matière sèche et de pH (1 échantillon).

Les échantillons de litière n'ont pas été réalisés concernant le système logette avec tapis, pour lequel seuls les échantillons pour métabarcoding, pasteurienne et détection de pathogènes ont pu être envoyés à partir des pédichiffonnettes.

Un questionnaire sur les différentes pratiques des agriculteurs fut également réalisé afin de recueillir les pratiques de gestion des litières, l'état subjectif du troupeau, les cas sanitaires. (Annexe1)

Des mesures environnementales furent également réalisées. Une sonde thermo-hygromètre (PCE-HT 72) fut utilisée pour obtenir 3 mesures de température et d'humidité relative de l'air à l'intérieur du bâtiment comme à l'extérieur.

La température du stock fut relevée en 6 point du stock à 25 cm de profondeur avec une sonde à fourrage (HFM II Foin et Paille)

2. Analyses

a. Metabarcoding 16S région V3-V4

La préparation des culots cellulaire fut réalisée par ACTALIA avec un protocole fourni par le l'unité mixte de recherche sur le fromage (UMRF). L'ADN des suspensions obtenues fut ensuite extrait par l'UMRF (FastDNA Spin Kit for Soil, MP Biomedicals—Illkirch—France). Les amplifications par amplification en chaîne par polymérase (PCR) ont été réalisées suivant le protocole présenté dans Verdier-Metz *et al* (2023). Les amplicons ont été séquencés au GenoToul avec la technologie Miseq Illumina, pour une obtention de 250 pb (région V3-V4).

b. Analyses pasteurienues

Les dénombrements des différents groupes microbiens ont été réalisés par ACTALIA suivant les méthodes indiquées ci-dessous (Tableau 1)

Tableau 1 : Milieux de cultures et références utilisés par ACTALIA pour les dénombrements microbiens.

Micro-organismes visés	Milieu de culture
FMAR	NF en ISO 4833
Bactéries lactiques mésophiles	MRS + acide alidixique + natamycine
Bactéries d'affinages	CRBM (Denis <i>et al</i> , 2001)
Les levures	OGA
Les moisissures	OGA
Bactéries à Gram négative	PCA lait + cristal violet + vancomycine
Coliformes fécaux	Choisis par ACTALIA
Bactéries butyriques	NF V 08-060

c. Analyses physicochimiques : matière sèche et pH

Ces mesures ont été réalisées au VIDAL. Le pourcentage de matière sèche fut obtenu après passage à l'étude à 80°C pendant 48 h. Le pH fut mesuré à partir du jus de l'échantillon composite de litière.

3. Bioinformatique et biostatistiques

a. Bioinformatique :

Les qualités des séquences ont été vérifiées pour tous les échantillons avec fastp (Chen *et al*, 2023). Les étapes de denoising et dereplication des séquences furent réalisées avec Frogs (version 4.1.0) et Vsearch (version 2.17.0) pour le merging (Bernard *et al*, 2021; Escudié *et al*, 2018; Rognes *et al*, 2016). Le clustering des amplicons fut ensuite réalisé avec Swarm (version 3.0.0) (Mahé *et al*, 2021) et une distance d'agrégation de 1 suivie de la suppression des chimères avec Vsearch. Un filtre sur l'abondance fut ensuite appliqué sur les clusters, suivant Bokulich *et al* (2013). L'affiliation taxonomique fut réalisée avec BLAST et RDP, suivant deux bases de références, DairyDB (v.2.0) et EzBioCloud (52018) afin d'évaluer la base la plus pertinente au regard de la question biologique.

b. Biostatistique :

Les comparaisons multigroupes d'une seule variable ont été réalisées suivant que les conditions soient paramétriques ou non. La plupart du temps, les conditions n'étant pas paramétriques, un test de Kruskal-Wallis a été réalisé avec l'ajustement de Bonferroni, suivi d'un test de Dunn en post-hoc. Les comparaisons

d'occurrence de *Listeria spp* et *mono* et les comparaisons des scores de propreté ont été réalisées suivant le test du Chi2.

Les ordinations ont été réalisées sur une matrice de distance de Bray-Curtis, et représentées à condition que l'algorithme converge et que le stress soit considéré suffisamment bon (<0.2). Les tests associés à ces ordinations sont des PERMANOVA réalisées avec 1000 permutations. Le test de variance multigroupes a été réalisé à partir d'une matrice de distance de Bray-Curtis entre échantillons, pour tester la dispersion relativement au centroïde. Une ANOVA a ensuite été réalisée suivie d'un test de Tukey-HSD dans le cas d'une significativité, pour comparer les variances par paires.

Les réseaux d'interactions (mutualisme, compétition) furent réalisés à partir du package ggclusternet (Tao *et al*, 2022), avec un *r.threshold* de 0.5 et un *p.threshold* de 0.05. Les corrélations entre espèces furent vérifiées avec le package SECOM (Lin *et al*, 2022).

4. Classification des taxons en grands groupes fonctionnels

La classification en grands groupes fonctionnels des espèces du jeu de données fut réalisée à partir de différentes sources bibliographiques. Les fonctions précises étant souches dépendantes, il fut décidé de ne conserver que des fonctions représentées à l'échelle de l'espèce. Le groupe "utiles à la fromagerie" s'appuie sur toutes les espèces documentées impliquées directement dans la transformation fromagère, de manière neutre ou positive si l'espèce montre un intérêt particulier pour le produit fini au niveau des qualités organoleptiques (texture, goût, arôme, couleur, odeur). Le groupe "indésirable" s'appuie sur les espèces provoquant des défauts la majorité du temps toute technologie fromagère confondue, les cas particuliers de certaines technologies ne fut pas pris en compte pour cette classification. La majorité des espèces de cette classification sont psychrophiles. Outre les nombreuses sources bibliographiques, l'inventaire IDF fut largement exploité pour la classification des espèces "utiles à la fromagerie" (Bourdichon *et al*, 2017) ainsi que Florilège (Falentin *et al*, 2017). Les bases de données internationales comme Bacdive ont permis d'avoir de nombreuses informations à l'échelle de l'espèce. Une base de données vétérinaire (Warde, 2002) a permis de détecter les espèces potentiellement pathogènes pour les animaux et l'humain.

Résultats:

Partie pasteurienne :

Les dénombrements des groupes microbiens (Fig.2) ont permis de montrer que les abondances des bactéries d'affinages n'étaient pas significativement différentes selon les systèmes. Les niveaux en entraves paillées étaient toutefois plus importants que ceux en logette sciure (8.37log10 contre 8.10, p-value < 0.05). Les microflores lactiques mésophiles montraient quant à elles des niveaux significativement plus importants en entraves paillées avec une moyenne de 6.78log10, les niveaux minimums étaient atteints dans les aires paillées avec une moyenne de 5.23. Les niveaux en levures, moisissures et bactéries à G- étaient significativement plus faibles en logettes tapis (p-value < 0.05). Les aires paillées montraient les niveaux les plus importants en bactéries à G- et coliformes fécaux. Les bactéries butyriques ne montraient pas de différences majeures entre les systèmes, mais la moyenne la plus élevée était atteinte en aires paillées.

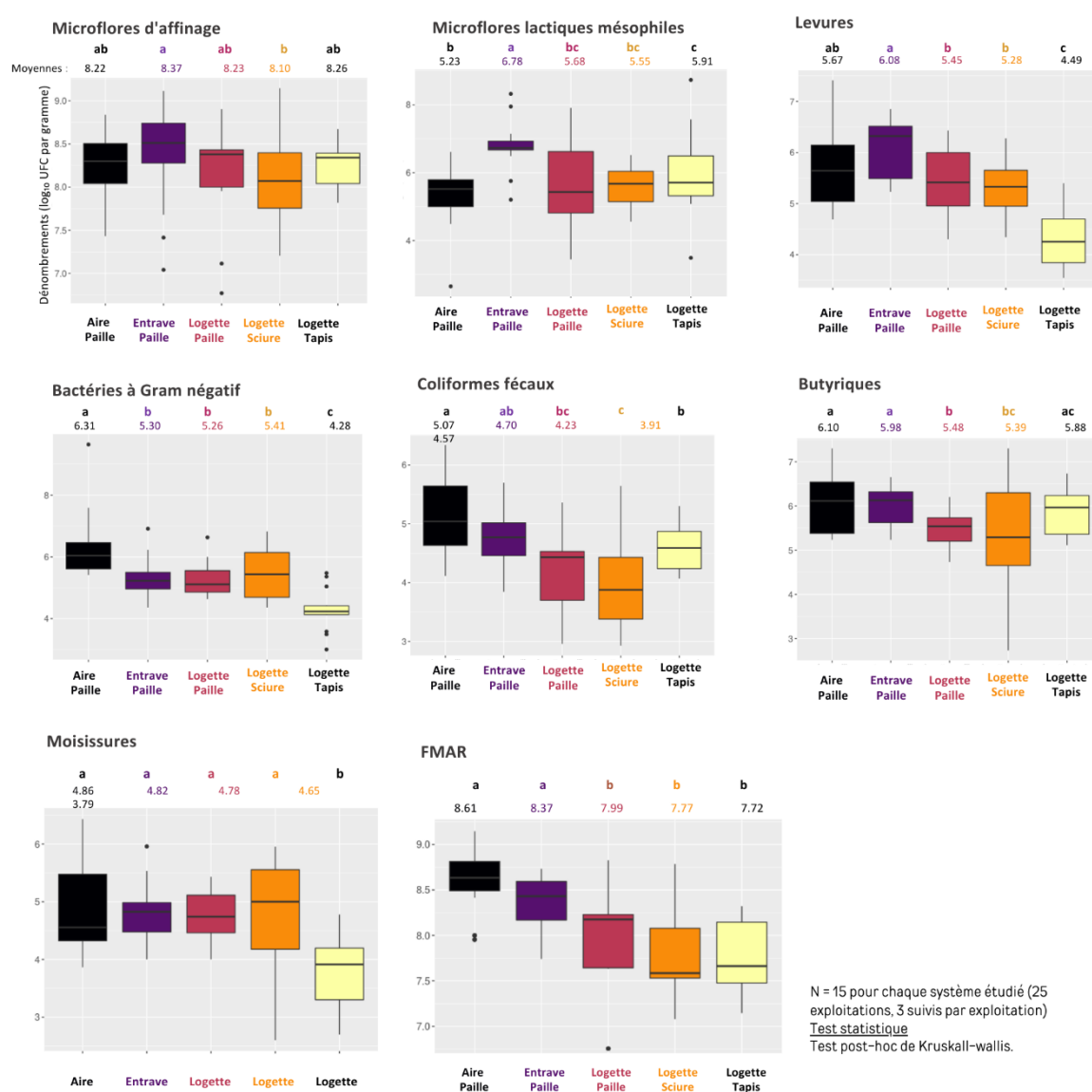


Fig.2 Abondance des UFC/mL des différents groupes microbiens en fonction des systèmes

Description des systèmes :

Les litières jugées propres (Fig.3) sont plus souvent représentées en logettes paillées (p-value < 0.001***). Les aires paillées sont celles qui présentent le plus de litières jugées sales (p-value < 0.01**)

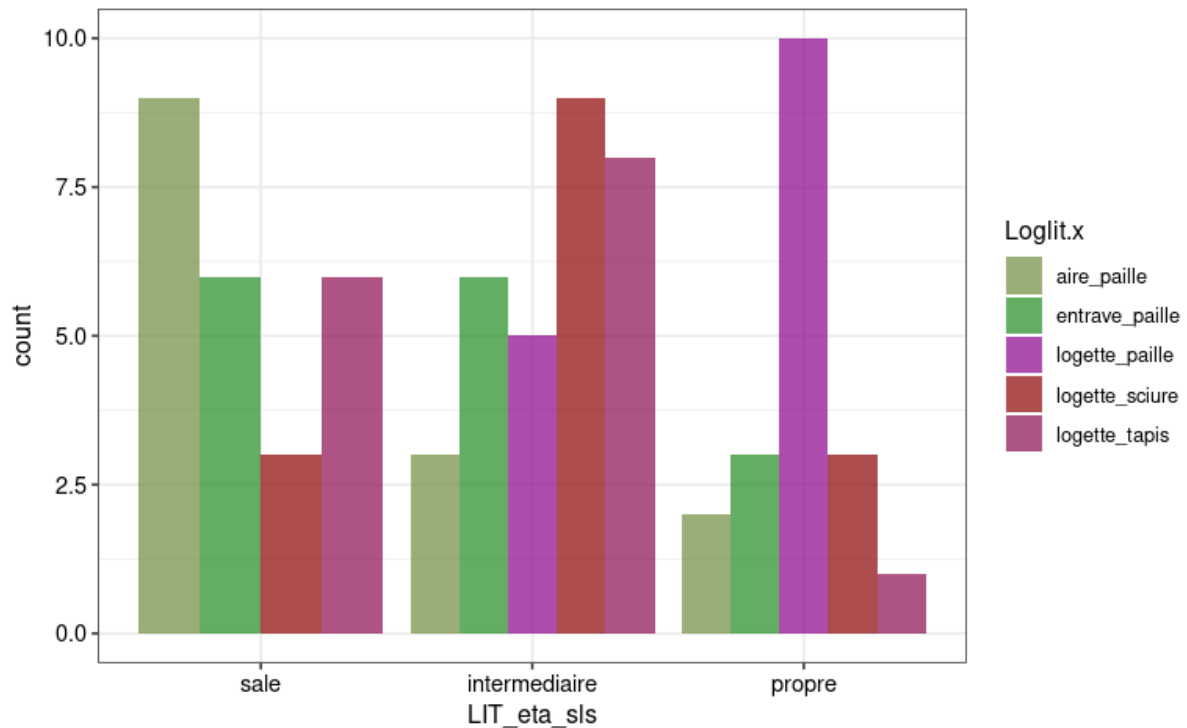


Figure 3 : Occurrence des systèmes en fonction des catégories de propreté des litières “sales”, “intermédiaires” et “propre”

Également les systèmes en aires paillées montrent des litières plus âgées (Fig.4) que les autres systèmes (p-value = 3.86e-8)

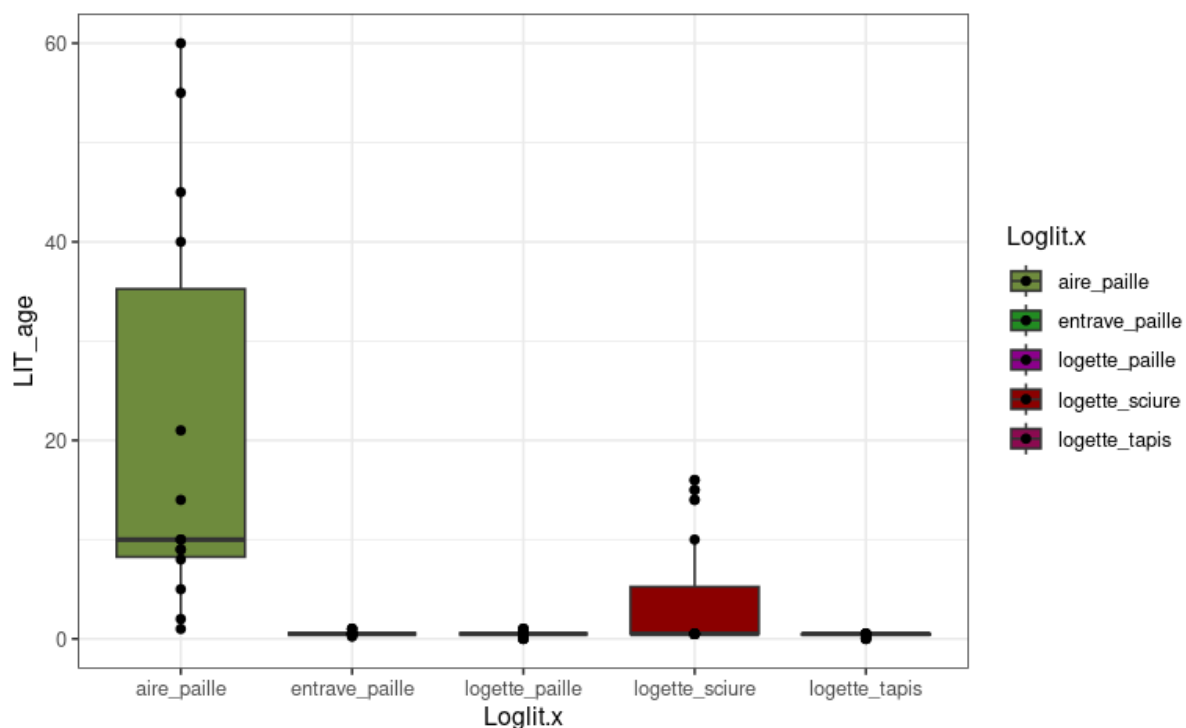


Figure 4 : Age des litières en jours, en fonction des différents systèmes

Partie métabarcoding :

Richesse et diversité selon les systèmes :

Les données de métabarcoding ont permis de montrer que la richesse bactérienne en variants de séquence d'amplicons (ASV) (Fig.5.a) et la diversité de Shannon étaient significativement plus faibles en aires paillées (p -value < 0.05). Cependant, la différence de diversité de Shannon entre les aires paillées et les entraves paillées n'est pas importante malgré la significativité (Fig.5.b)

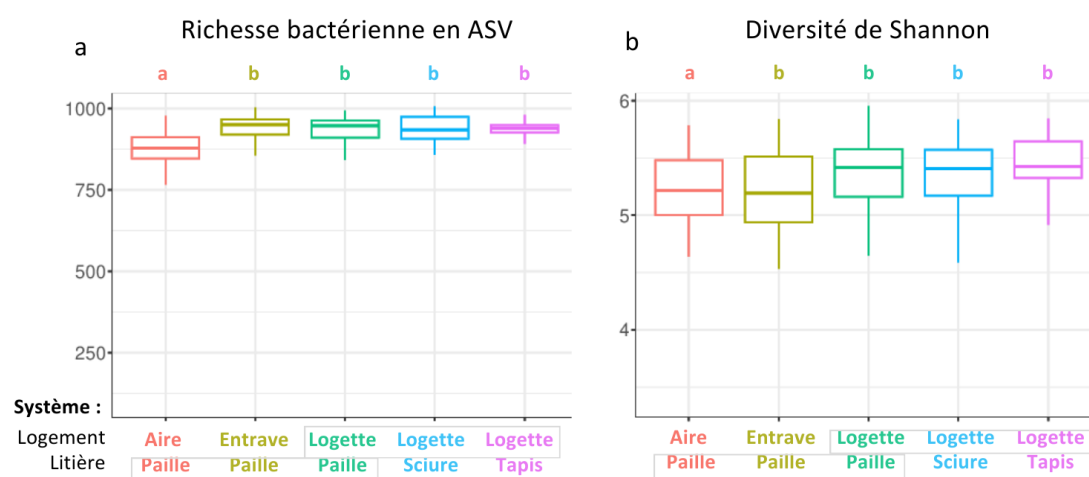


Figure 5: a) Richesse bactérienne en ASV en fonction des différents systèmes. b) Diversité bactérienne de Shannon en fonction des différents systèmes.

Effets fermes, litière et logement sur les microbiotes bactériens :

Tout échantillon confondus, l'effet exploitation calculé est le plus important (Fig.6.a), avec un R^2 de 0.60 (p -value = 0.001***), suivis de l'effet logement (Fig.6.b) (R^2 = 0.21, p -value = 0.001***), puis de l'effet litière (Fig.6.c) à proprement parlé (R^2 = 0.05, p -value = 0.001***).

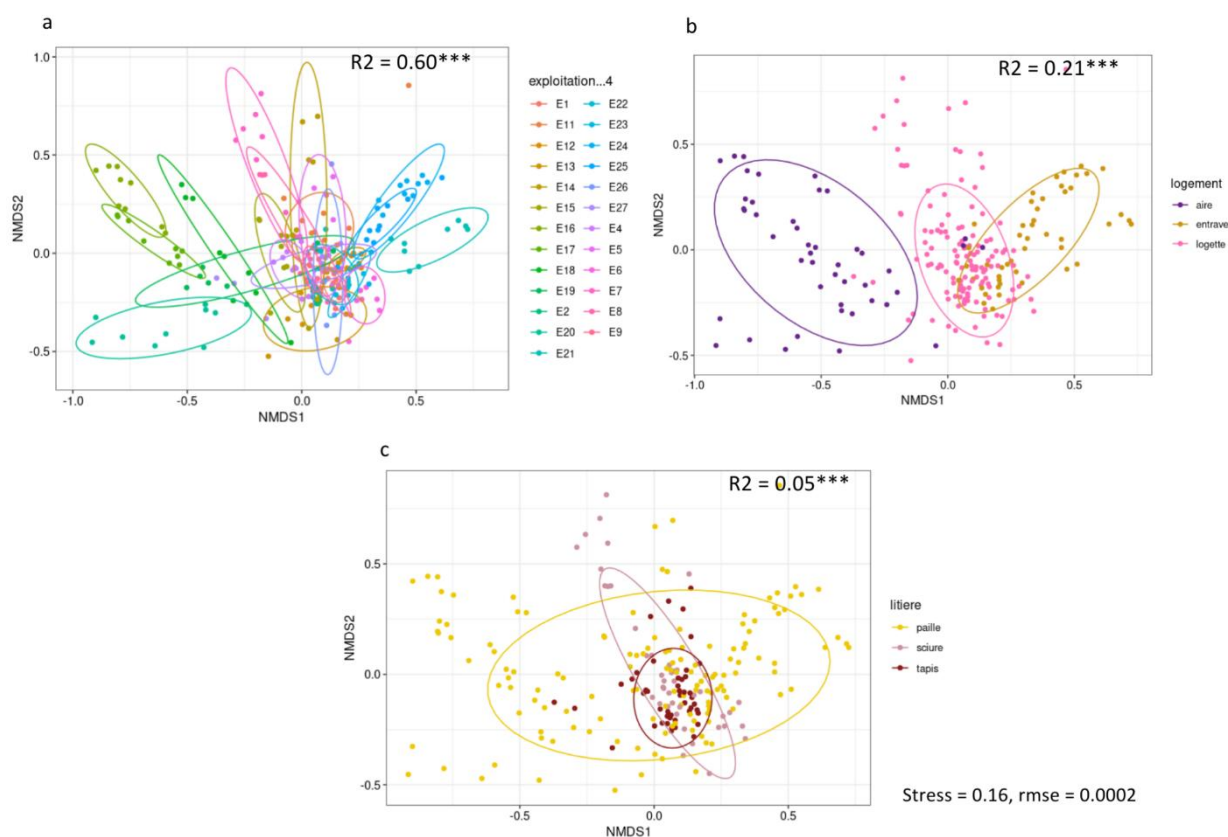


Figure 6 a) NMDS des échantillons colorés par numéro d'exploitation. b) NMDS des échantillons colorés par type de logement. c) NMDS des échantillons colorés par type de litière. Les ordinations sont réalisées sur des matrices de distances de Bray-Curtis. Les ellipses assument 80% d'une distribution t.

Contrairement à ce qui était imaginé, l'effet de la litière sur le microbiote bactérien est bien plus faible que celui du logement utilisé. On peut émettre l'hypothèse que derrière la variable du logement se trouve d'autres facteurs confondants, comme la gestion des litières, la fréquence de renouvellement, l'utilisation ou pas d'un asséchant, l'humidité relative et le pH.. L'analyse de la variance des groupes en fonction du logement a permis de voir que les aires présentaient une variance intra-groupe plus importante que celle des entraves (p -value = 0.003), et plus importante que celle du groupe Logettes (p -value = 0.01).

Les variances des groupes définis par les litières ne peuvent pas être comparées directement, du fait de la sur-représentation des litières en paille dans le jeu de données.

Certaines fermes montrent des variances plus élevées que d'autres (E27, E11), impliquant que la variation dans le temps des microbiotes de ces fermes est plus importante. D'autres au contraire sont plus stables en fonction des répétitions dans le temps (E1, E12).

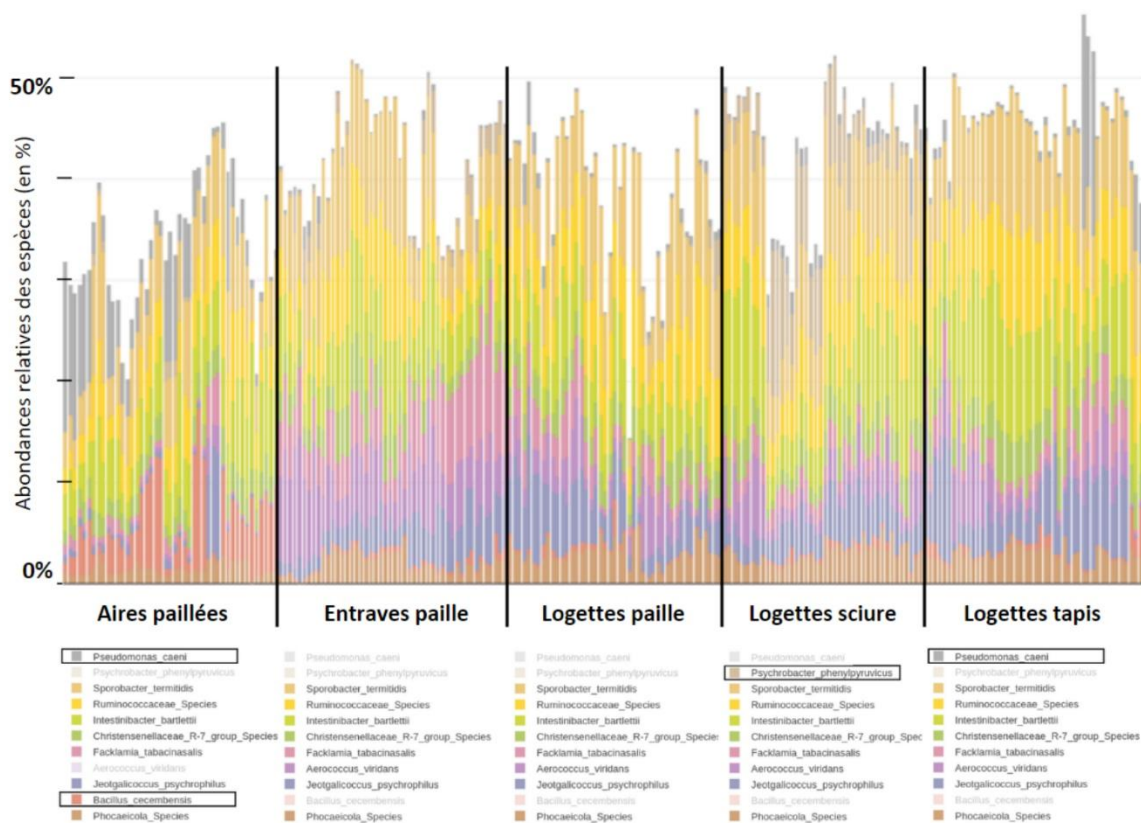


Figure8 Représentation des abondances relatives des 11 espèces majoritaires pouvant atteindre 50% de la composition des échantillons. Représentation par système.

Les classes bactériennes “utiles” directement à la fromagerie et “indésirables pour la transformation” :

Il est important de souligner ici que seules les bactéries utiles **directement** à la fromagerie sont représentées (Fig.10.a), et que les bactéries corrélées positivement avec ces dernières ne le sont pas. Les facilitateurs apparaîtront dans un prochain article. Les facilitateurs sont également à prendre en compte pour interpréter correctement un système complexe, ainsi que les bactéries compétitrices des espèces utiles en fromagerie. Le même raisonnement s’applique concernant les bactéries indésirables à la fromagerie (Fig.9.b)

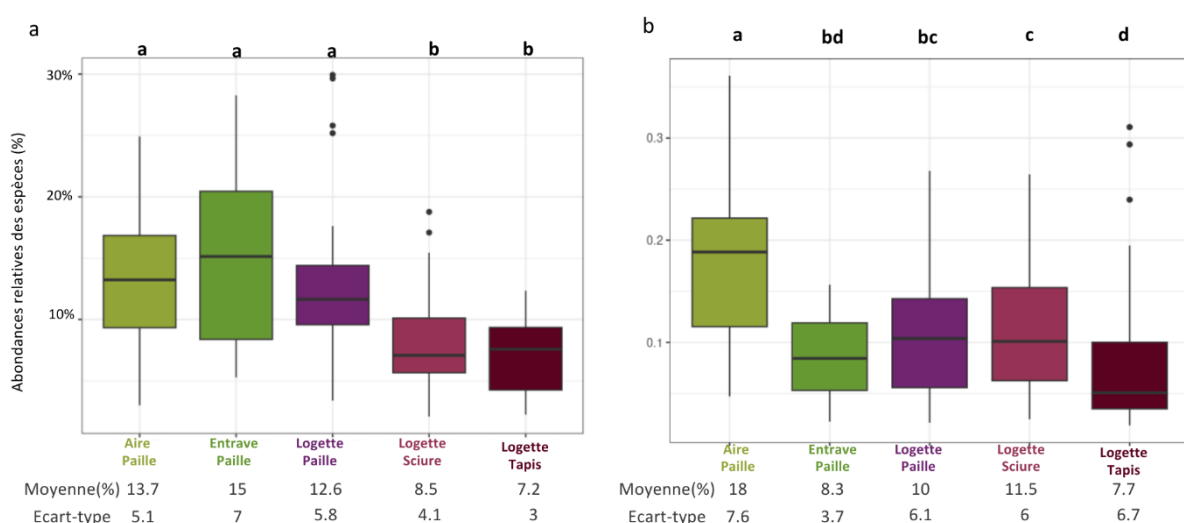


Figure 9 a) Abondances relatives des espèces utiles directement à la fromagerie par système. b) Abondances relatives des espèces indésirables pour la fromagerie.

Les bactéries *Corynebacterium callunae* et *C.casei*, peuvent représenter jusqu'à 12% des bactéries utiles directement à la fromagerie (Fig.10). A la surface des aires paillées, *Arthrobacter arilaitensis* est l'espèce la plus abondante. En entrave paillée, une diversité importante de *Corynebacterium* est remarquée.

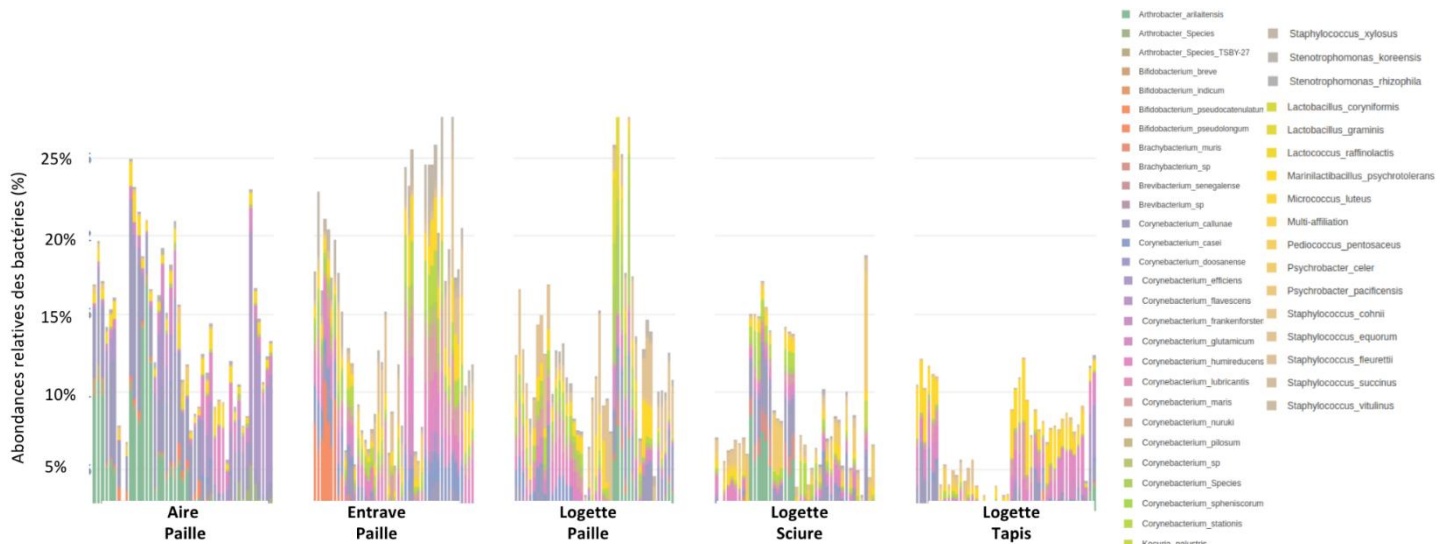


Figure 10 Abondances relatives des espèces utiles directement à la fromagerie, colorées par nom d'espèce, et représentées par systèmes.

Les effets des paramètres abiotiques :

Les logettes paillées montrent des patterns bien différents des autres concernant le pH du substrat (Fig.11.a), son pourcentage en matière sèche (Fig.11.b), et la température de l'air (Fig.11.d). Les logettes sciures montrent des pourcentages d'humidité dans l'air et des pH plus faibles que les autres systèmes (Fig.11.a. et c). On observe pour chaque paramètre une étendue relativement importante. Il est intéressant de voir que les pH sont plutôt alcalins, avec un maximum de 8.97 en entraves paillées.

Également, une corrélation négative entre la température de l'air et l'humidité de l'air fut détectée (-0.33 , $p\text{-value} = 8.86e-7$) ainsi qu'une corrélation négative entre le pH et le pourcentage de matière sèche ($\rho = -0.49$, $p\text{-value} = 1.08e-9$)

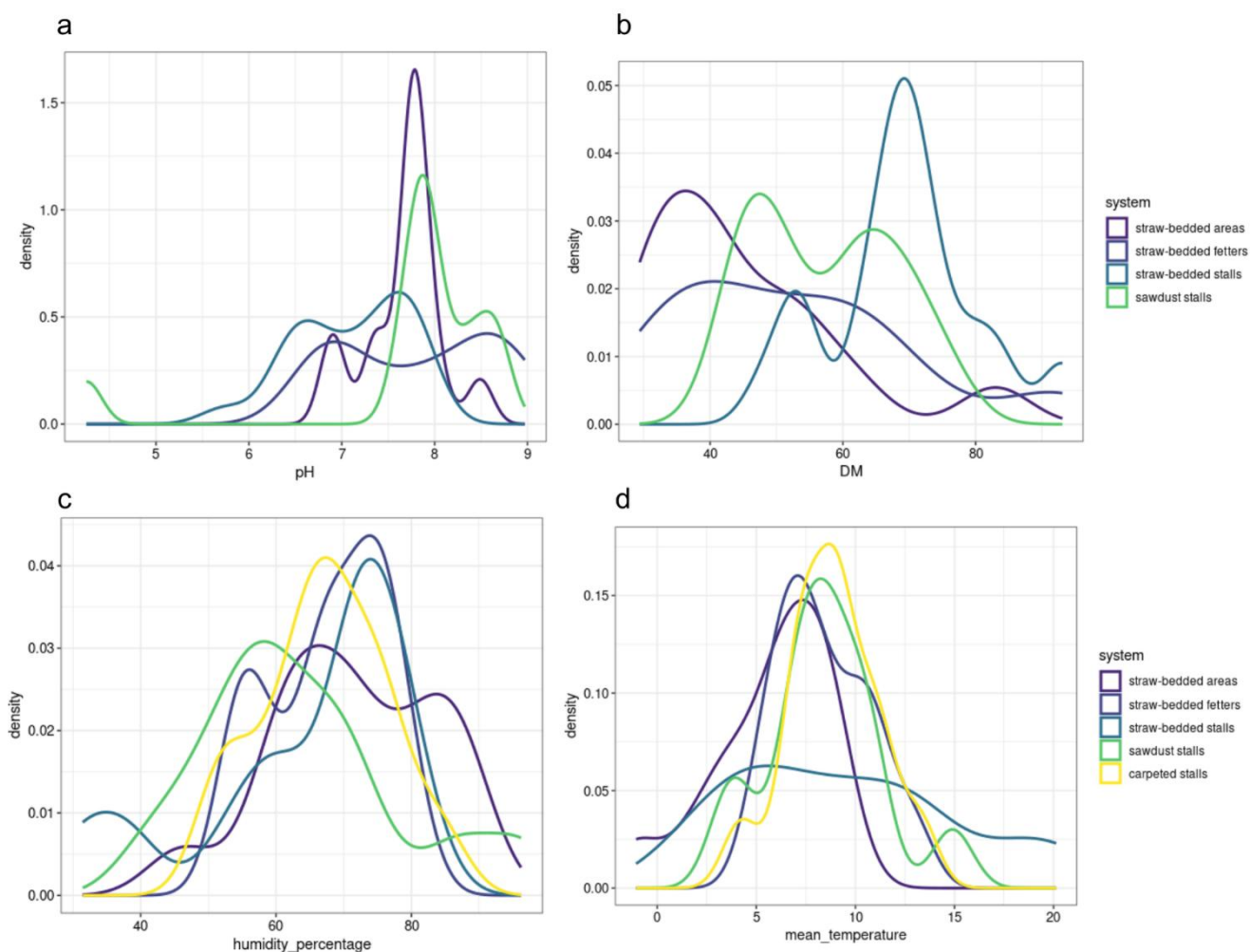


Figure 11 a) Courbe de densité du pH colorée par système. b) Courbe de densité de la matière sèche colorée par système. c) Courbe de densité du pourcentage d'humidité de l'air colorée par système. d) Courbe de densité de la température de l'air colorée par système.

A travers ces résultats, on comprend un effet exploitation important. Pour comprendre l'effet des paramètres abiotiques sur les microbiotes, il est donc important de les réaliser par système en incluant en première variable le numéro d'exploitation, et de prendre en compte également les interactions entre les facteurs abiotiques et les exploitations quand une dépendance entre les deux existe.

En logettes tapis, les exploitations ont un poids de 45% sur le microbiote ($p\text{-value} = 0.0009$), l'humidité relative de l'air influe plus que la température de l'air ($R^2 = 4.6\%$, $p\text{-value} = 0.0009$, contre $R^2 = 1.2$, NS). Ce système montre une forte dépendance des températures aux exploitations dans lesquelles elles ont été mesurées.

En logettes paillées, les exploitations ont un poids de 37.4% ($p\text{-value} = 0.0009$), suivis d'un poids pH de 4.7% ($p\text{-value} = 0.0049$), d'un poids matière sèche ($R^2 = 4.4\%$, $p\text{-value} = 0.0009$), puis humidité de l'air ($R^2 = 4.2\%$, $p\text{-value} = 0.0019$), et enfin d'un poids température de l'air ($R^2 = 3.9\%$, $p\text{-value} = 0.008$). On observe dans ce système une dépendance forte de la température et du pH aux exploitations.

Les logettes sciures montrent des températures de l'air moins dépendantes aux exploitations que les deux autres cités précédemment. Le poids des exploitations est toujours le plus important ($R^2 = 62\%$, $p\text{-value} =$

0.0009). Viennent ensuite dans l'ordre croissant : la température de l'air ($R^2 = 3.5\%$, $p\text{-value} = 0.01$), puis l'humidité de l'air ($R^2 = 2.4$, $p\text{-value} = 0.04$). Aucun effet pH ni Matière sèche n'est détecté à l'échelle du microbiote, ce qui ne signifie pas qu'aucune espèce ou ASV n'est liée à ces paramètres.

En aires paillées, les températures sont fortement dépendantes des exploitations. Ces dernières jouent majoritairement sur la variance des microbiotes ($R^2 = 54\%$, $p\text{-value} = 0.0009$). Un effet important de l'humidité de l'air est détecté ($R^2 = 5.6$, $p\text{-value} = 0.0009$), puis la matière sèche ($R^2 = 4.1\%$, $p\text{-value} = 0.0009$), la température de l'air ($R^2 = 3\%$, $p\text{-value} = 0.0009$) et finalement le pH avec un effet plus faible, dû à sa variance moins importante dans ce système ($R^2 = 1.9\%$, $p\text{-value} = 0.002$).

En entraves paillées on n'observe pas d'effet de l'humidité de l'air et l'effet de la température ne se mesure qu'à travers son interaction avec les exploitations ($R^2 = 4.4\%$, $p\text{-value} = 0.015$). Le poids des exploitations est toujours le plus important ($R^2 = 61.8\%$, $p\text{-value} = 0.0009$). Dans l'ordre décroissant on retrouve ensuite la matière sèche ($R^2 = 4.2$, $p\text{-value} = 0.004$), puis le pH ($R^2 = 2.6\%$, $p\text{-value} = 0.03$)

Les réseaux d'interactions (mutualisme/compétition) par système en fonction des facteurs abiotiques :

Plusieurs réseaux ont pu être étudiés, nous présenterons un exemple ici du système logette sciure, en fonction des pH catégorisés "hauts" et "bas" selon leur écart à la médiane.

Les réseaux des sciures avec un pH bas (Fig.12.a) montrent beaucoup moins de relations de compétition que ceux des sciures en pH hauts (Fig.12.b) (14.4% contre 34.3%). On peut donc estimer que la compétition est plus forte en logette sciure quand les pH sont supérieurs à 7.92. La force des corrélations entre les taxons est impactée par le pH (closeness = 0.43 contre 0.3; $p\text{-value} = 2.2e-16$) avec des valeurs plus importantes quand le pH est supérieur à 7.92. Il y a également plus d'espèces keystones (structurantes) dans les réseaux à pH hauts (degree centrality = 45.88 contre 11.33; $p\text{-value} = 2.2e-16$)

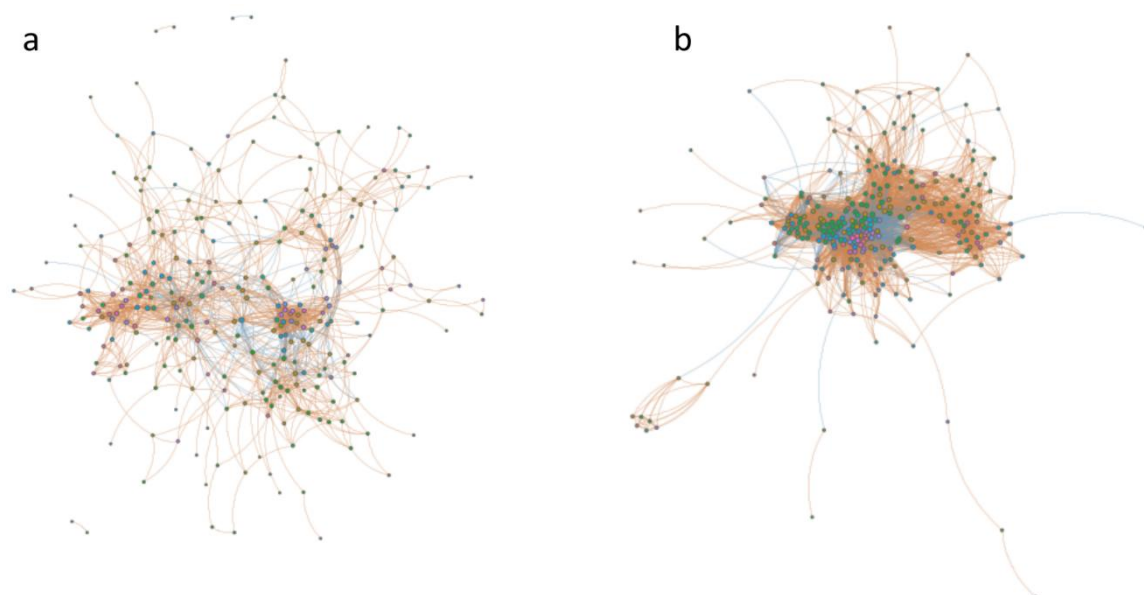


Figure 12 a) Réseau d'interaction bactérien des logettes sciures avec un $pH < 7.92$. b) Réseau d'interaction bactérien des logettes sciures avec un $pH > 7.92$. $r\text{-threshold}$ limité à 0.5, $p\text{-threshold}$ limité à 0.05

Une recherche plus poussée des relations avec les espèces d'intérêt fromager nous apprend que ces espèces d'intérêt ont plus de relations positives donc de mutualisme que les espèces potentiellement pathogènes dans les deux types de réseaux, mais le réseau des pH plus hauts montre une richesse en ASV plus importante, impliquant théoriquement, une richesse fonctionnelle plus importante également. Dans ce réseau, on a également des abondances plus élevées d'espèces d'intérêts et de leurs mutualistes comparés au réseau pH bas.

Les relations mutualistes sont plus fortes quand les pH sont supérieurs à la médiane (Fig.13), avec des espèces d'intérêt fromager comme *Arthrobacter arilaitensis* corrélées positivement avec *Planococcus plakortidis* et *Dietzia maris* (cor >0.80, p-value < 0.05)

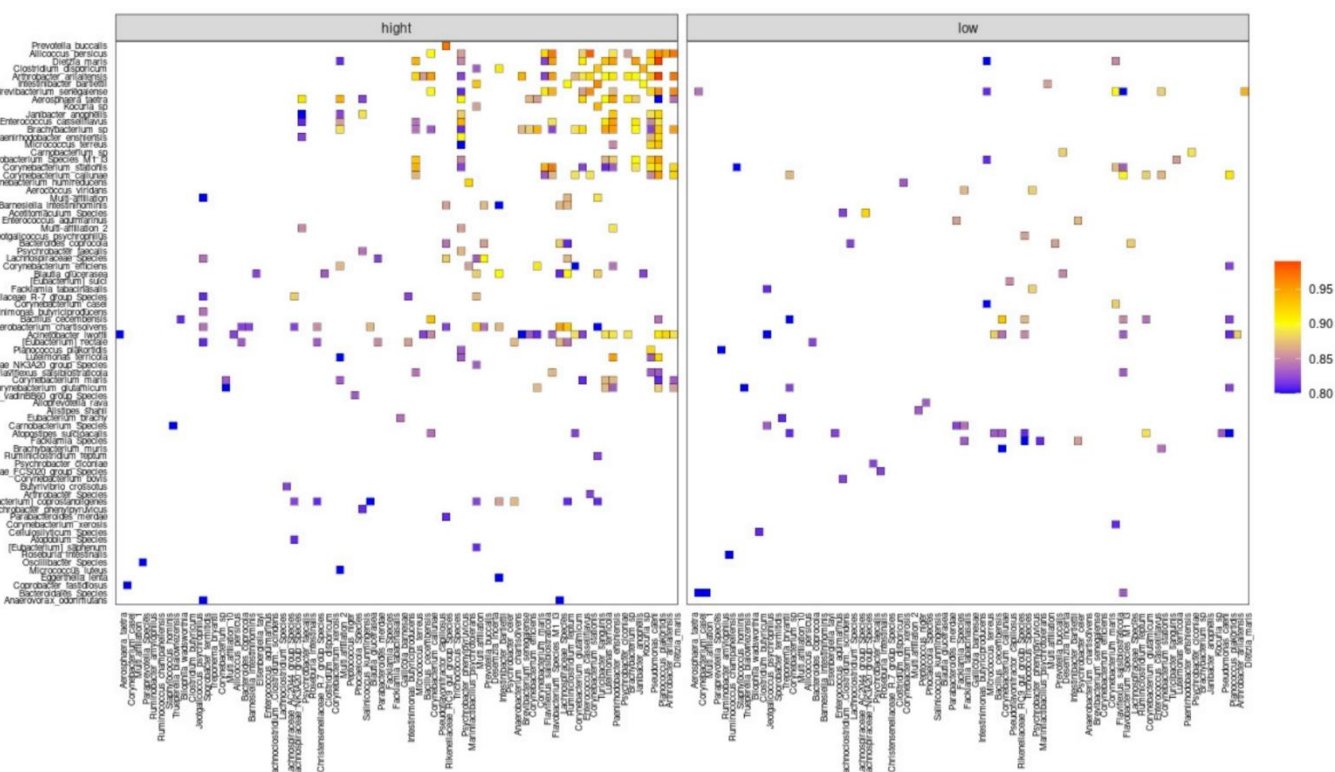


Figure 13 Représentation des corrélations positives des réseaux des logettes sciures en fonction de la classe des pH "bas" < 7.92 et "hauts" > 7.92. Les corrélations entre espèces représentées sur cette figure sont supérieures ou égales à 0.8.

Conclusion







Cet essai a permis de mettre en évidence la diversité et la richesse microbienne des litières, et surtout leurs spécificités plus marquées en fonction du type de logement. Les aires paillées montrent dans cet essai, des litières plus sales et plus vieilles que les autres, tandis que les logettes paillées sont particulièrement propres. Les richesses et diversité des aires paillées sont relativement plus faibles que les autres systèmes. Globalement, 11 espèces majoritaires ressortent parmi tous les systèmes et composent le core microbiome, avec une espèce très souvent présente qui est *Sporobacter termitidis*. La classification des taxons en taxons “utiles directement à la fromagerie” et “taxons indésirables” a permis de montrer que les logette tapis et les logettes sciures montraient le moins d’espèces d’intérêt fromager, et que les aires paillées montraient le plus d’espèces indésirables à la fromagerie. Les pH, pourcentages en matière sèche et température de l’air sont spécifiques en système aire paillée, ainsi que les logettes sciures, ces dernières montrant des pH plus faibles que dans les autres systèmes. Globalement les pH sont plutôt alcalins, avec un maximum de 8.97. La température de l’air et l’humidité de l’air sont corrélées négativement tous systèmes confondus, tout comme le pH et le pourcentage de matière sèche, ces derniers ayant une relation négative encore plus marquée. Les effets des paramètres abiotiques sur les microbiotes dépendent des systèmes étudiés, avec un effet plus important en logette tapis et aires paillées de l’humidité relative de l’air, du pH en logettes paillées, de la température de l’air en logettes sciures, du pourcentage de matière sèche en entraves paillées. On retrouve cet effet système et paramètres abiotiques également chez les réseaux d’interactions microbiennes. Les indicateurs de compétition microbienne sont plus importants pour les sciures avec des pH supérieurs à 7.92. La magnitude des corrélations entre taxons et le nombre d’espèces clefs sont également plus importante dans les sciures aux pH plus élevés. Les sciures aux pH plus élevés montrent également plus de taxons aux espèces d’intérêt fromager, et plus de taxons mutualistes de ces espèces. Cette approche sera détaillée pour tous les systèmes dans un futur article scientifique à paraître prochainement.







Annexes :









Annexe 1 : Questionnaire agronomique

EXP								
Variable R	Valeurs/modalités	Suivi			N°			Commentaires
SUV_dat	date effectuée (XX/XX/XXXX)							
SUV_hr	horaire de la traite(XX heure)							
Mesure								
EXP_air_hgr	hygrometrie air extérieur				X	X	X	
EXP_air_tmp	temperature air extérieur				X	X	X	
VAC_air_hgr	hygrometrie air intérieur				X	X	X	
VAC_air_tmp	temperature air intérieur				X	X	X	
LIT_hgr	humidité litiere							
LIT_tmp_srf	température litière en surface							
LIT_tmp_prf	température litière en profondeur							
STK_hgr	humidité stock							
STK_tmp_srf	temperature stock en surface							
STK_tmp_prf	temperature stock en profondeur							
LIT_eps	épaisseur_litiere							
Observation terrain								
LIT_eta	etat de la litiere en place							
LIT_eta_hmd	humidité sur la pedi-chiffonette au premier pas	humide ; intermédiaire ; sèche						
LIT_eta_slis	degrés de salissure sur la pedi-chiffonette au premier pas	sâle ; intermédiaire ; propre						
VAC_eta	etat des vaches							
VAC_eta_pds	note de 1 à 5	1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 5						
VAC_eta_arr	note de 1 à 5	1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 5						
SUV_air	atmosphère							
SUV_air_ovt	ouverture du batiment des vaches	très ouvert ; peu ouvert ; fermé						
SUV_air_amo	force de l'odeur d'amoniac dans le batiment	forte ; moyenne ; faible						
LIT_qit	qualite_litiere							
LIT_qit_hmd	humidité dans la litière stockée	humide ; intermédiaire ; sèche						
LIT_qit_mss	moisissure dans la litière stockée	moisissures ; traces ; absence						
Questionnaire Eleveur								
LIT_age	age_litiere							
VAC_trt	nombre de vache à la traite							
VAC_nb_mmt_ELV	nombre de vache mammites							
VAC_nb_dd	dermatite digitée							
VAC_nb_dhr	diarrhées							
EXP_ptr_snt	pratique sanitaire en place							
EXP_ptr_snt_vac	présence de vaccination	oui ; non						
EXP_ptr_snt_atb	présence de traitement antibiotique	oui ; non						
EXP_ptr_snt_atr	présence de traitements autres	oui ; non						

Méthode de notation de propreté des vaches : Sélection aléatoire de 20% de l'effectif du troupeau puis moyenne des trois notations (ci-après) pour obtenir la note globale de l'animal.

Note	Description	Exemples
0	Corne entièrement visible ou croûte peu épaisse sur une partie de la corne	
1	Corne entièrement recouverte d'une croûte non épaisse, espace entre onglons visible	
2	Corne entièrement recouverte d'une croûte épaisse, espace entre onglons parfois non visible (« gangue »)	
3	Corne entièrement recouverte d'une croûte épaisse qui recouvre la ligne entre les poils et la corne	
4	Gangue de croûtes allant des onglons à la ligne au-dessus des onglons accessoires	
5	Gangue de croûtes allant des onglons jusqu'au-dessus des onglons accessoires	

Note	Description	Exemples
0	Absence de croûte, zone sous les onglons accessoires propre	
1	Gangue de croûtes sur les onglons accessoires, zone sous les onglons accessoires propre	
2	Croûtes allant des talons à la ligne au-dessus des onglons accessoires	
3	Croûtes allant des talons et sous la ligne sous le jarret	
4	Gangue de croûtes allant des talons jusqu'au jarret	
5	Gangue de croûtes partant des onglons accessoires et pieds propres sous les onglons accessoires	

CLASSES DE PROPRETÉ	FLANC	ARRIÈRE
A : PROPRE		
Absence de salissures sur l'animal ou salissures à l'état de traces.		
B : PEU SALE		
Zones de salissures s'étendant sur la moitié inférieure de la cuisse et sur le bas du ventre et du sternum.		
C : SALE		
Zones de salissures s'étendant du haut de la cuisse (trochanter) jusqu'à l'avant du sternum.		
D : TRÈS SALE		
Zones de salissures s'étendant de la fesse (hanche) jusqu'à la pointe de l'épaule. Les salissures remontent sur le côté jusqu'en haut du flanc et forment une croûte épaisse.		

Annexe 2 : Bibliographie pour la caractérisation des bactéries

1. Amoozegar, M. A. *et al.* Aliococcus persicus gen. nov., sp. nov., a halophilic member of the Firmicutes isolated from a hypersaline lake. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **64**, 1964–1969.
2. Anaerobic Bacteria - Infectious Disease and Antimicrobial Agents. <http://www.antimicrobe.org/b77.asp>.
3. Abe, K. *et al.* Anaerocella delicata gen. nov., sp. nov., a strictly anaerobic bacterium in the phylum Bacteroidetes isolated from a methanogenic reactor of cattle farms. *The Journal of General and Applied Microbiology* **58**, 405–412 (2012).
4. Matthies, C., Evers, S., Ludwig, W. & Schink, B. 2000. Anaerovorax odorimutans gen. nov., sp. nov., a putrescine-fermenting, strictly anaerobic bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **50**, 1591–1594.
5. Lin, K.-J., Tani, T., Endo, Y., Kodatna, M. & Teramoto, K. Antimicrobial Activities of Iodinated Polystyrene Derivatives. *Artificial Organs* **20**, 1191–1195 (2008).
6. Magnusson, M., Christiansson, A. & Svensson, B. Bacillus cereus spores during housing of dairy cows: factors affecting contamination of raw milk. *J Dairy Sci* **90**, 2745–2754 (2007).
7. Weber, M., Liedtke, J., Plattes, S. & Lipski, A. Bacterial community composition of biofilms in milking machines of two dairy farms assessed by a combination of culture-dependent and -independent methods. *PLoS ONE* **14**, e0222238 (2019).
8. Hošťacká, A. & Klokočníková, L. Characteristics of clinical Acinetobacter spp. strains. *Folia Microbiol* **47**, 579–582 (2002).
9. Broda, D. M., Saul, D. J., Lawson, P. A., Bell, R. G. & Musgrave, D. R. 2000. Clostridium gasigenes sp. nov., a psychrophile causing spoilage of vacuum-packed meat. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **50**, 107–118.
10. Kabeerdoss, J., Sankaran, V., Pugazhendhi, S. & Ramakrishna, B. S. Clostridium leptum group bacteria abundance and diversity in the fecal microbiota of patients with inflammatory bowel disease: a case-control study in India. *BMC Gastroenterol* **13**, 20 (2013).
11. Graham, M. *et al.* Clostridium scindens colonization of gnotobiotic mice promotes a chronic unresolving infection with Clostridioides difficile. Preprint at <https://doi.org/10.1101/2022.06.12.495821> (2022).
12. Schauss, T., Busse, H.-J., Golke, J., Kämpfer, P. & Glaeser, S. P. Y. 2015. Empedobacter stercoris sp. nov., isolated from an input sample of a biogas plant. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **65**, 3746–3753.
13. Rahmati, E. *et al.* Facklamia Species as an Underrecognized Pathogen. *Open Forum Infectious Diseases* **4**, ofw272 (2017).
14. Kutzer, P., Schulze, C., Engelhardt, A., Wieler, L. H. & Nordhoff, M. Helcococcus ovis, an Emerging Pathogen in Bovine Valvular Endocarditis. *J Clin Microbiol* **46**, 3291–3295 (2008).
15. Falcocchio, S., Ruiz, C., Pastor, F. I. J., Saso, L. & Diaz, P. Identification of a carboxylesterase-producing Rhodococcus soil isolate. *Can. J. Microbiol.* **51**, 753–758 (2005).
16. Kämpfer, P., Terenius, O., Lindh, J. M. & Faye, I. 2006. Janibacter anophelis sp. nov., isolated from the midgut of Anopheles arabiensis. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **56**, 389–392.
17. Chen, Y.-G. *et al.* Jeotgalicoccus marinus sp. nov., a marine bacterium isolated from a sea urchin. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **59**, 1625–1629.
18. Brisabois, A. *et al.* Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe: -EN- -FR- -ES-. *Rev. Sci. Tech. OIE* **16**, 452–471 (1997).
19. Hoque, M. N. *et al.* Metagenomic deep sequencing reveals association of microbiome signature with functional biases in bovine mastitis. *Sci Rep* **9**, 13536 (2019).
20. Fang, W. *et al.* Multilocus sequence analysis of the genus Kurthia, and a description of Kurthia populi sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **65**, 3788–3793.
21. Kämpfer, P., Falsen, E., Langer, S., Lodders, N. & Busse, H.-J. Y. 2010. Paenalcaligenes hominis gen. nov., sp. nov., a new member of the family Alcaligenaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **60**, 1537–1542.
22. Wang, D., Liu, H., Zheng, S. & Wang, G. 2014. Paenirhodobacter enshiensis gen. nov., sp. nov., a non-photosynthetic bacterium isolated from soil, and emended descriptions of the genera Rhodobacter and Haematobacter. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **64**, 551–558.

23. Dutkiewicz, J., Mackiewicz, B., Kinga Lemieszek, M., Golec, M. & Milanowski, J. Pantoea agglomerans: a mysterious bacterium of evil and good. Part III. Deleterious effects: infections of humans, animals and plants. *Ann Agric Environ Med* **23**, 197–205 (2016).
24. Urakami, T., Tamaoka, J., Suzuki, K.-I. & Komagata, K. 1989. Paracoccus alcaliphilus sp. nov., an Alkaliphilic and Facultatively Methylophilic Bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **39**, 116–121.
25. Kim, Y.-J., Kim, M. K., Im, W.-T., Srinivasan, S. & Yang, D.-C. 2010. Parapusillimonas granuli gen. nov., sp. nov., isolated from granules from a wastewater-treatment bioreactor. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **60**, 1401–1406.
26. Margesin, R., Spröer, C., Schumann, P. & Schinner, F. Pedobacter cryoconitis sp. nov., a facultative psychrophile from alpine glacier cryoconite. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **53**, 1291–1296 (2003).
27. Grabowski, A., Tindall, B. J., Bardin, V., Blanchet, D. & Jeanthon, C. Petrimonas sulfuriphila gen. nov., sp. nov., a mesophilic fermentative bacterium isolated from a biodegraded oil reservoir. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **55**, 1113–1121 (2005).
28. Kaur, I. et al. Planococcus plakortidis sp. nov., isolated from the marine sponge Plakortis simplex (Schulze). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **62**, 883–889.
29. Pascual, J. et al. Pseudomonas litoralis sp. nov., isolated from Mediterranean seawater. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **62**, 438–444.
30. Arnau, V. G., Sánchez, L. A. & Delgado, O. D. 2015. Pseudomonas yamanorum sp. nov., a psychrotolerant bacterium isolated from a subantarctic environment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **65**, 424–431.
31. Lin, S.-Y. et al. Pseudomonas formosensis sp. nov., a gamma-proteobacteria isolated from food-waste compost in Taiwan. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **63**, 3168–3174.
32. Romanenko, L. A., Tanaka, N., Frolova, G. M. & Mikhailov, V. V. Y. 2009. Psychrobacter fulvigens sp. nov., isolated from a marine crustacean from the Sea of Japan. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **59**, 1480–1486.
33. Romanenko, L. A., Lysenko, A. M., Rohde, M., Mikhailov, V. V. & Stackebrandt, E. 2004. Psychrobacter maritimus sp. nov. and Psychrobacter arenosus sp. nov., isolated from coastal sea ice and sediments of the Sea of Japan. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **54**, 1741–1745.
34. THIEULIN, G. et al. RECHERCHE DES STAPHYLOCOQUES PATHOGÈNES DANS LE LAIT ET LES PRODUITS LAITIERS. *Le Lait* **46**, 131–140 (1966).
35. Duchaine, C., Mériaux, A., Brochu, G., Bernard, K. & Cormier, Y. Saccharopolyspora rectivirgula from Quebec dairy barns: application of simplified criteria for the identification of an agent responsible for farmer's lung disease. *Journal of Medical Microbiology* **48**, 173–180 (1999).
36. Lee, D.-H., Hur, J. S. & Kahng, H.-Y. Sphingobacterium cladoniae sp. nov., isolated from lichen, Cladonia sp., and emended description of Sphingobacterium siyangense. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **63**, 755–760 (2013).
36. Mazier, W. et al. A New Strain of Christensenella minuta as a Potential Biotherapy for Obesity and Associated Metabolic Diseases. *Cells* **10**, 823 (2021).
37. Besnard, A. et al. Aerococcus sp., a promising genus as a source of anti-Salmonella bioprotective agents for the dairy industry revealed by a miniaturised screening method. *International Dairy Journal* **116**, 104949 (2021).
38. ZELLNER, G. et al. Anaerofilum pentosovorans gen. nov., sp. nov., and Anaerofilum agile sp. nov., Two New, Strictly Anaerobic, Mesophilic, Acidogenic Bacteria from Anaerobic Bioreactors†. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **46**, 871–875.
39. Robinson, I. M., Allison, M. J. & Hartman, P. A. Y. 1975. Anaeroplasmabactoclasticum gen. nov., sp. nov.: an Obligately Anaerobic Mycoplasma from the Rumen. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **25**, 173–181.
40. Monnet, C. et al. Assessment of the anti-listerial activity of microfloras from the surface of smear-ripened cheeses. *Food Microbiology* **27**, 302–310 (2010).
41. Prasanna, P. H. P., Grandison, A. S. & Charalampopoulos, D. Bifidobacteria in milk products: An overview of physiological and biochemical properties, exopolysaccharide production, selection criteria of milk products and health benefits. *Food Research International* **55**, 247–262 (2014).
42. Geirnaert, A. et al. Butyricicoccus pullicaecorum, a butyrate producer with probiotic potential, is intrinsically tolerant to stomach and small intestine conditions. *Anaerobe* **30**, 70–74 (2014).
43. Leisner, J. J., Laursen, B. G., Prévost, H., Drider, D. & Dalgaard, P. Carnobacterium: positive and negative effects in the environment and in foods. *FEMS Microbiol Rev* **31**, 592–613 (2007).
44. Afzal, M. I. et al. Characterization of Carnobacterium maltaromaticum LMA 28 for its positive technological role in soft cheese making. *Food Microbiology* **36**, 223–230 (2013).

45. FREIER, T. A., BEITZ, D. C., LI, L. & HARTMAN, P. A. Y. 1994. Characterization of *Eubacterium coprostanoligenes* sp. nov., a Cholesterol-Reducing Anaerobe†. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **44**, 137–142.
46. Sun, L.-N. *et al.* *Comamonas jiangduensis* sp. nov., a biosurfactant-producing bacterium isolated from agricultural soil. *Int J Syst Evol Microbiol* **63**, 2168–2173 (2013).
47. Liu, L. *et al.* Complete Genome Sequence of the Industrial Strain *Ketogulonigenium vulgare* WSH-001. *J Bacteriol* **193**, 6108–6109 (2011).
48. Hailemariam, S., Zhao, S. & Wang, J. Complete Genome Sequencing and Transcriptome Analysis of Nitrogen Metabolism of *Succinivibrio dextrinosolvens* Strain Z6 Isolated From Dairy Cow Rumen. *Front. Microbiol.* **11**, 1826 (2020).
49. Bockelmann, W., Willems, K. P., Neve, H. & Heller, K. H. Cultures for the ripening of smear cheeses. *International Dairy Journal* **15**, 719–732 (2005).
50. Ryu, S. H. *et al.* *Devosia geojensis* sp. nov., isolated from diesel-contaminated soil in Korea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **58**, 633–636.
51. Yamamura, H. *et al.* *Dietzia timorensis* sp. nov., isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **60**, 451–454.
52. Frolková, P. *et al.* *Enterococcus alcedinis* sp. nov., isolated from common kingfisher (*Alcedo atthis*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **63**, 3069–3074.
53. Christophe, G. Etude de *Fibrobacter succinogenes* en bioréacteur anaérobie en vue de la dégradation de déchets végétaux. (Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II ; Université d'Auvergne - Clermont-Ferrand I, 2007).
54. Krumholz, L. R. & Bryant, M. P. *Eubacterium oxidoreducens* sp. nov. requiring H₂ or formate to degrade gallate, pyrogallol, phloroglucinol and quercetin. *Arch. Microbiol.* **144**, 8–14 (1986).
55. Park, M.-H., Traiwan, J., Jung, M. Y. & Kim, W. 2012. *Gulosibacter chungangensis* sp. nov., an actinomycete isolated from a marine sediment, and emended description of the genus *Gulosibacter*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **62**, 1055–1060.
56. Ritschard, J. S., Van Loon, H., Amato, L., Meile, L. & Schuppler, M. High Prevalence of Enterobacterales in the Smear of Surface-Ripened Cheese with Contribution to Organoleptic Properties. *Foods* **11**, 361 (2022).
57. Kovács, G. *et al.* *Kocuria palustris* sp. nov. and *Kocuria rhizophila* sp. nov., isolated from the rhizoplane of the narrow-leaved cattail (*Typha angustifolia*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **49**, 167–173.
58. Les microflore utiles des laits crus de vache et de chèvre : principaux (...) - 3R - Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants. <http://www.journees3r.fr/spip.php?article1617>.
59. Oikonomou, G. *et al.* Milk Microbiota: What Are We Exactly Talking About? *Front. Microbiol.* **11**, 60 (2020).
60. Schauss, T., Busse, H.-J., Golke, J., Kämpfer, P. & Glaeser, S. P. Y. 2016. *Moheibacter stercoris* sp. nov., isolated from an input sample of a biogas plant. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **66**, 2585–2591.
61. Hosomi, K. *et al.* Oral administration of *Blautia wexlerae* ameliorates obesity and type 2 diabetes via metabolic remodeling of the gut microbiota. *Nat Commun* **13**, 4477 (2022).
62. Hosomi, K. *et al.* Oral administration of *Blautia wexlerae* ameliorates obesity and type 2 diabetes via metabolic remodeling of the gut microbiota. *Nat Commun* **13**, 4477 (2022).
63. Jiang, S., Cai, L., Lv, L. & Li, L. *Pediococcus pentosaceus*, a future additive or probiotic candidate. *Microbial Cell Factories* **20**, 45 (2021).
64. Dieuleveux, V., Van Der Pyl, D., Chataud, J. & Gueguen, M. Purification and Characterization of Anti-*Listeria* Compounds Produced by *Geotrichum candidum*. *Appl Environ Microbiol* **64**, 800–803 (1998).
65. Stackebrandt, E., Schumann, P., Swiderski, J. & Weiss, N. 1999. Reclassification of *Brevibacterium incertum* (Breed 1953) as *Desemzia incerta* gen. nov., comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **49**, 185–188.
66. Schmidt, V. S. J., Wenning, M. & Scherer, S. *Sphingobacterium lactis* sp. nov. and *Sphingobacterium alimentarium* sp. nov., isolated from raw milk and a dairy environment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **62**, 1506–1511 (2012).
67. Vernozy-Rozand, C. *et al.* *Staphylococcus fleurettii* sp. nov., isolated from goat's milk cheeses. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **50**, 1521–1527 (2000).
68. Thierry, A. *et al.* Strain-to-strain differences within lactic and propionic acid bacteria species strongly impact the properties of cheese—A review. *Dairy Sci. & Technol.* **95**, 895–918 (2015).
69. Rees, E. M. R., Lloyd, D. & Williams, A. G. The effects of co-cultivation with the acetogen *Acetivibrio ruminis* on the fermentative metabolism of the rumen fungi *Neocallimastix patriciarum* and *Neocallimastix* sp. strain L2. *FEMS Microbiology Letters* **133**, 175–180 (1995).

70. Montel, M.-C. *et al.* Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. *International Journal of Food Microbiology* **177**, 136–154 (2014).
71. SCHUBERT, K. *et al.* Two Coryneform Bacteria Isolated from the Surface of French Gruyère and Beaufort Cheeses Are New Species of the Genus *Brachybacterium*: *Brachybacterium alimentarium* sp. nov. and *Brachybacterium tyrofermentans* sp. nov.^{r†}. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **46**, 81–87.
72. Milesi, M. M., Wolf, I. V., Bergamini, C. V. & Hynes, E. R. Two strains of nonstarter lactobacilli increased the production of flavor compounds in soft cheeses. *Journal of Dairy Science* **93**, 5020–5031 (2010).
73. Lee, S.-H. *et al.* *Weissella jogaejeotgali* sp. nov., isolated from jogae jeotgal, a traditional Korean fermented seafood. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **65**, 4674–4681.
74. Magnusson, J., Jonsson, H., Schnürer, J. & Roos, S. *Weissella soli* sp. nov., a lactic acid bacterium isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **52**, 831–834 (2002).
75. Abdel-Mageed, W. M. *et al.* Whole genome sequencing of four bacterial strains from South Shetland Trench revealing biosynthetic and environmental adaptation gene clusters. *Marine Genomics* **54**, 100782 (2020).

Bibliographie

- Aljasir, S.F., D'Amico, D.J., 2023. Anti-infective properties of the protective culture *Hafnia alvei* B16 in food and intestinal models against multi-drug resistant *Salmonella*. *Food Microbiology* 110, 104159. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2022.104159>
- Bernard, M., Rué, O., Mariadassou, M., Pascal, G., 2021. FROGS: a powerful tool to analyse the diversity of fungi with special management of internal transcribed spacers. *Briefings in Bioinformatics* 22, bbab318. <https://doi.org/10.1093/bib/bbab318>
- Bettera, L., Dreier, M., Schmidt, R.S., Gatti, M., Berthoud, H., Bachmann, H.-P., 2023. Selective enrichment of the raw milk microbiota in cheese production: Concept of a natural adjunct milk culture. *Front. Microbiol.* 14, 1154508. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1154508>
- Bokulich, N.A., Subramanian, S., Faith, J.J., Gevers, D., Gordon, J.I., Knight, R., Mills, D.A., Caporaso, J.G., 2013. Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing. *Nat Methods* 10, 57–59. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2276>
- Bourdichon, F., Budde-Niekiet, A., Dubois, A., Fritz, D., Hatte, J.-L., Laulund, S., McAuliffe, O., Ouwehand, Arthur.C., Yao, S., Zgoda, A., Zuliani, V., Morelli, L., 2022. Inventory of microbial food cultures with safety demonstration in fermented food products (No. ISSN 0250-5118). IDF International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
- Chanos, P., Williams, D.R., 2011. Anti-*Listeria* bacteriocin-producing bacteria from raw ewe's milk in northern Greece: Anti-listerial bacteria in raw milk. *Journal of Applied Microbiology* 110, 757–768. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04932.x>
- Chen, S., Zhou, Y., Chen, Y., Gu, J., 2018. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics* 34, i884–i890. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty560>
- Denis, C., Gueguen, M., Henry, E., Levert, D., 2001. New media for the numeration of cheese surface bacteria. *Lait* 81, 365–379. <https://doi.org/10.1051/lait:2001138>
- Escudié, F., Auer, L., Bernard, M., Mariadassou, M., Cauquil, L., Vidal, K., Maman, S., Hernandez-Raquet, G., Combes, S., Pascal, G., 2018. FROGS: Find, Rapidly, OTUs with Galaxy Solution. *Bioinformatics* 34, 1287–1294. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx791>
- Falentin, H., Chaix, E., Dridi, B., Bessieres, P., Buchin, S., 2017. Florilege : a database gathering microbial phenotypes of food interest.
- Lin, H., Eggesbø, M., Peddada, S.D., 2022. Linear and nonlinear correlation estimators unveil undescribed taxa interactions in microbiome data. *Nat Commun* 13, 4946. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-32243-x>
- Mahé, F., Czech, L., Stamatakis, A., Quince, C., De Vargas, C., Dunthorn, M., Rognes, T., 2021. Swarm v3: towards tera-scale amplicon clustering. *Bioinformatics* 38, 267–269. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btab493>
- Marchandise, C., 2019. Impact de l'ajout de levures vivantes dans l'alimentation des vaches laitières sur la flore des laits crus. Paul-Sabatier, Toulouse.

- Montel, M.-C., Buchin, S., Mallet, A., Delbes-Paus, C., Vuitton, D.A., Desmasures, N., Berthier, F., 2014. Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. *International Journal of Food Microbiology* 177, 136–154. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.019>
- Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C., Mahé, F., 2016. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ* 4, e2584. <https://doi.org/10.7717/peerj.2584>
- Verdier-Metz, I., Delbès, C., Bouchon, M., Rifa, E., Theil, S., Chaucheyras-Durand, F., Chevaux, E., Dunière, L., Chassard, C., 2023. Dietary Live Yeast Supplementation Influence on Cow's Milk, Teat and Bedding Microbiota in a Grass-Diet Dairy System. *Microorganisms* 11, 673. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030673>
- Warde, M., 2002. Mammal pathogen species level associations.
- Wen, T., Xie, P., Yang, S., Niu, G., Liu, X., Ding, Z., Xue, C., Liu, Y., Shen, Q., Yuan, J., 2022. ggClusterNet: An R package for microbiome network analysis and modularity-based multiple network layouts. *iMeta* 1, e32. <https://doi.org/10.1002/imt2.32>
- Yan, H., Du, W., Ji, S., Guo, C., Zhang, Y., Wang, Y., Cao, Z., Li, S., 2022. Bacterial Composition and Interactions in Raw Milk and Teat Skin of Dairy Cows. *Fermentation* 8, 235. <https://doi.org/10.3390/fermentation8050235>