



Caractérisation métagénomique de l'écosystème microbien de la chaîne de valeur du porc

Mémoire

Pascal Laforge

Maîtrise en sciences des aliments - avec mémoire
Maître ès sciences (M. Sc.)

Québec, Canada

Caractérisation métagénomique de l'écosystème microbien de la chaîne de valeur du porc

Mémoire

Pascal Laforge

Sous la direction de :

Pre Linda Saucier, PhD, agr., chm., directrice de recherche

Pr Antony Vincent, PhD, codirecteur de recherche

Résumé

La viande de porc est susceptible à la croissance microbienne en raison de sa teneur élevée en nutriments et en eau. L'élaboration de nouvelles stratégies pour optimiser sa qualité microbiologique passe par une profonde compréhension de la composition microbienne de la chaîne de valeur du porc. Les nouvelles technologies de séquençage (16S et génomes entiers) permettent la caractérisation de ce microbiome. Cependant, aucune étude à ce jour n'a suivi les mêmes animaux de la ferme, à l'usine jusqu'à la pièce de viande, les échantillons étant plutôt prélevés aléatoirement sur les différents sites. Cette étude consiste à évaluer comment le microbiote de porcs provenant de deux fermes avec des statuts sanitaires différents, ainsi que les microorganismes de leur environnement, influencent la composition microbienne de la chaîne de valeur, la contamination des usines et la qualité microbiologique des viandes. Les dénombrements d'aérobies mésophiles totaux et d'entérobactéries des échantillons prélevés à la fin des procédures préopératoires étaient près ou sous le seuil de détection indiquant que les procédures de nettoyage sont efficaces. De plus, les dénombrements des échantillons prélevés à l'abattoir ne variaient pas significativement en fonction des fermes étudiées. Cependant, un test de la somme des rangs de Wilcoxon ($p < 0.05$) a révélé que la contamination moyenne aux *Enterobacteriaceae* pour les échantillons d'abattoir collectés après l'abattage des animaux était plus souvent supérieure pour la ferme avec un statut sanitaire inférieur comparativement à l'autre ferme. Le séquençage de l'ADN microbien de la chaîne de valeur du porc a révélé qu'*Acinetobacter*, *Clostridium*, *Moraxella* et *Rothia* étaient les genres les plus abondants dans cette chaîne de valeur. L'algorithme LEfSe ($p < 0.05$, LDA 1.0) a permis d'identifier un plus grand nombre de biomarqueurs pour la ferme avec le statut sanitaire inférieur. De plus, les indices de diversité alpha étaient significativement plus élevés dans l'air et dans la moulée pour la ferme dont le statut est inférieur. L'analyse de la diversité bêta indiquait que les facteurs tels que le type d'échantillon et la localisation (ferme, éviscération et découpe) ont eu un effet significatif sur le microbiome de la chaîne de valeur et cela, selon un test ANOSIM ($p < 0.05$). Ainsi, ces résultats suggèrent que l'écosystème microbien de la chaîne de valeur du porc varie avec la ferme d'origine. L'impact du statut sanitaire des animaux sur la chaîne de valeur mérite d'être étudié à plus grande échelle.

Abstract

Pork meat is a food product at risk of microbial contamination due to its rich nutrient and water content. Developing new strategies to optimize the microbiological quality of these products requires a deeper understanding of the microbial ecology of the pork value chain. This microbiome is beginning to be studied using new genomic methods (16S and whole genome sequencing). However, no study to date has followed the same animals from farm to meat, rather samples are taken at random from different sites. The purpose of this study is to evaluate how the microbiota of pigs, originating from farms with different sanitary status, and their environment, influence the microbial composition of the value chain, the contamination of slaughterhouse and the microbiological quality of the resulting meats. The counts of total mesophilic aerobes and *Enterobacteriaceae* in samples collected at the end of preoperative procedures were near or below the detection limit indicating that the cleaning procedures are effective. In addition, the counts of samples taken at the slaughterhouse did not vary significantly depending on the farms analyzed. However, a Wilcoxon rank sum test ($p < 0.05$) revealed that mean *Enterobacteriaceae* counts associated with the farm with a lower sanitary status, across all slaughterhouse samples collected after the slaughter of animals, are more often above the ones from the other farm. Sequencing of the pork value chain microbial DNA revealed that *Acinetobacter*, *Clostridium*, *Moraxella* and *Rothia* were the most abundant genera in this value chain. The LEfSe algorithm ($p < 0.05$, LDA 1.0) identified a greater number of biomarkers for the farm with the lower sanitary status. Alpha diversity indices were significantly higher in air and food when the status is lower. In addition, analysis of beta diversity indicates that the factors; sample type and localization (farm, evisceration, and cut-out) have a significant impact on the value chain microbiome according to a ANOSIM test ($p < 0.05$). Thus, these results suggest that the microbial ecosystem of the pork value chain varies with the farm of origin and the impact of the herd sanitary status deserves to be studied on a larger scale.

Table des matières

Résumé	ii
Abstract.....	iii
Table des matières	iv
Table des figures	vii
Table des tableaux.....	xii
Liste des abréviations	xiii
Remerciements.....	xvi
Avant-propos	xviii
Introduction générale	1
Chapitre 1 : Revue de littérature	4
1.1 Problématiques et défis microbiologiques à travers la chaîne de valeur du porc	4
1.1.1 Élevage porcin	4
1.1.2 Abattage, éviscération et découpe	9
1.1.3 Produits pour le marché de détail	14
1.2 Systèmes de contrôle des problématiques et défis actuels	19
1.2.1 Mesures à la ferme	19
1.2.2 Mesures à l'abattoir.....	23
1.2.3 Mesures sur les pièces de viande et produits du détail	24
1.3 Méthodes d'analyses des populations microbiennes	26
1.3.1 Analyses chimiques	26
1.3.2 Analyses microbiologiques classiques	27
1.3.3 Analyse métagénomique par séquençage d'amplicons du gène 16S	27
1.3.4 Analyse métagénomique par séquençage de génome entier	30
1.4 États des connaissances génomiques de la chaîne de valeur porcine	33
1.4.1 Microbiote de l'environnement à la ferme	33
1.4.2 Microbiote porcin.....	36
1.4.3 Populations microbiennes à l'abattoir.....	44

1.4.4 Population microbienne des produits finis de viande	46
1.5. Conclusion	50
Chapter 2: Farm contribution to the swine value chain microbiome	52
2.1 Résumé	52
2.2 Abstract	53
2.3 Importance	53
2.4 Introduction.....	54
2.4 Material and methods	56
2.4.1 Selected farms.	56
2.4.2 Slaughter and carcass splitting.	56
2.4.3 Sampling and sample processing.	57
2.4.4 Microbial analysis.....	59
2.4.5 Short-Chain Fatty acids analysis.....	60
2.4.6 DNA-extraction and 16S rRNA gene sequencing.....	61
2.4.7 Amplification of the 16S RNA gene.....	61
2.4.8 Sequence processing.....	62
2.4.9 Statistical analysis.....	63
2.5 Results	65
2.5.1 Microbial counts from the slaughterhouse environment.	65
2.5.2 Carcass inspection data.....	70
2.5.3 Volatile fatty acids	70
2.5.4 Analysis of the swine value chain microbiome using 16S rRNA gene amplicon sequencing.	71
2.6 Discussion	84
2.7 Conclusion.....	90
2.8 Acknowledgement	90
Conclusion générale	91
Bibliographie	94

Annexe A : Résumé des maladies porcines d'origines bactériennes	116
Annexe B : Figures supplémentaires	122
Annexe C : Donnée supplémentaire	126

Table des figures

FIG 1	Évènements possiblement impliqués dans la contamination par <i>Salmonella spp.</i> dans les découpes de porcs. Traduit de Giovannacci et coll. (94).....	10
FIG 2	Résumé des différentes étapes d'abattage, d'éviscération et de découpe des porcs à l'abattoir. Adapté de (10, 125, 126)	12
FIG 3	Résumé du processus d'analyse métagénomique des communautés microbiologiques par la méthode 16S et par l'analyse du génome entier de type <i>shotgun</i>	30
FIG 4	Abondance relative des trois plus importants phyla (A) et des 20 plus abondants genres (B) à différents segments dans le tractus gastro-intestinal du porc (25).....	37
FIG 5	Abondance relative des microorganismes présents en surface des viandes (les microorganismes de moins de 0,5 % d'abondance relative sont groupés dans la catégorie others; (39).	45
FIG 6	Flow chart of the location of various samples taken throughout the pork value chain at the selected farms and meat plant investigated. Sample locations are highlighted in orange. Samples were collected from Air=Ar (1), Feces=Fc (2), Saliva=Sa (3), Feed=Fe (4), Drain at evisceration=Dev (5), Blood collection gutter=Gev (6), Conveyor at evisceration=Cev (7), Dressed carcasses (after blast chilling)=Dc (8), Cold carcasses (after overnight refrigeration)=Cc (9), Drain at cut-out=Dcu (10), Conveyor at cut-out=Ccu (11), Shoulder=S (12).	57
FIG 7	Total aerobic mesophilic (A) and <i>Enterobacteriaceae</i> (B) counts in log CFU/300 cm ² or 300 ml for samples taken from farms with the lower (L; red) or the higher (H; green) sanitary status. Samples were collected from Air=Ar, Feces=Fc, Saliva=Sa, Feed=Fe, Drain at evisceration=Dev, Blood collection gutter=Gev, Conveyor at evisceration=Cev, Dressed carcasses (after blast chilling)=Dc, Cold carcasses (after overnight refrigeration)=Cc, Drain at cut-out=Dcu, Conveyor at cut-out=Ccu, Shoulder=S. At t=0 means on the clean production line and t=after means after the passage of the last animal from the studied farm. The detection level for drain samples was ≤ 2.48 log CFU/300 ml for TAM and EB. For the other	

	samples, it was ≤ 1.22 log CFU/300 cm ² for TAM and ≤ 0.70 log CFU/300 cm ² for EB.	67
FIG 8	Total aerobic (A) and Enterobacteriaceae (B) counts of environmental samples in log CFU/300 cm ² or 300 ml before and after the passage of animals under study; results from both farms were pooled. Significant difference between the samples is highlighted with *: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$ according to a Student T test. Samples were collected from Drain at evisceration=Dev, Blood collection gutter=Gev, Conveyor at evisceration=Cev, Drain at cut-out=Dcu, Conveyor at cut-out=Ccu.	69
FIG 9	Top 15 phyla were identified in relative abundance (%) in each of the different sample types for both farms using the SILVA data base. Color gradient ranges from blue=0 % to orange= 100%. Samples were collected from Air=Ar, Feces=Fc, Saliva=Sa, Feed=Fe, Dressed carcasses (after blast chilling)=Dc, Drain at evisceration=Dev, Conveyor at evisceration=Cev, Blood collection gutter=Gev, Cold carcasses (after overnight refrigeration)=Cc, Drain at cut-out=Dcu, Conveyor at cut-out=Ccu, Shoulder=S. Low sanitary status=L (red), High sanitary Status=H (green).	72
FIG 10	Top 30 identified genera in relative abundance (%) in each of the different sample types for both farms using the SILVA data base. Color gradient ranges from blue=0 % to orange= 100%. Samples were collected from Air=Ar, Feces=Fc, Saliva=Sa, Feed=Fe, Dressed carcasses (after blast chilling)=Dc, Drain at evisceration=Dev, Conveyor at evisceration=Cev, Blood collection gutter=Gev, Cold carcasses (after overnight refrigeration)=Cc, Drain at cut-out=Dcu, Conveyor at cut-out=Ccu, Shoulder=S. Low sanitary status=L (red), High sanitary Status=H (green).	74
FIG 11	Campylobacteraceae, Carnobacteriaceae, Enterobacteriaceae, Lactobacillaceae and Staphylococcaceae in relative abundance (%) amongst themselves calculated for each of the different sample types for both farms. The top row indicates the percentage these five families represent in the total microbiota. Color gradient ranges from blue=0 % to orange= 100%. Samples were collected from Air=Ar, Feces=Fc, Saliva=Sa, Feed=Fe, Dressed carcasses (after blast chilling)=Dc, Drain	

	at evisceration=Dev, Conveyor at evisceration=Cev, Blood collection gutter=Gev, Cold carcasses (after overnight refrigeration)=Cc, Drain at cut-out=Dcu, Conveyor at cut-out=Ccu, Shoulder=S. Low sanitary status=L (red), High sanitary Status=H (green).	76
FIG 12	Alpha diversity indexes for richness (Observed, Chao1) and both richness and evenness (Shannon, Simpson). Significantly different sanitary status according to a Student T test ($p<0.05$) are identified with * at the bottom of the graph. Significantly different samples are identified with different letters are significantly different according to a Tukey HSD test ($p<0.05$). Samples were collected from Air=Ar, Feces=Fc, Saliva=Sa, Feed=Fe, Dressed carcasses (after blast chilling)=Dc, Drain at evisceration=Dev, Conveyor at evisceration=Cev, Blood collection gutter=Gev, Cold carcasses (after overnight refrigeration)=Cc, Drain at cut-out=Dcu, Conveyor at cut-out=Ccu, Shoulder=S. Low sanitary status=L (red), High sanitary Status=H (green).	78
FIG 13	Principal-coordinate analysis plots of Bray-Curtis dissimilarities (A, B), unweighted UniFrac distances (C, D), and weighted UniFrac distances (E, F) classified by sample types. The right side (A, C, E) are the axis 1 and 2 and the left side (B, D, F) are axis 1 and 3. Samples were collected from Air=Ar, Feces=Fc, Saliva=Sa, Feed=Fe, Dressed carcasses (after blast chilling)=Dc, Drain at evisceration=Dev, Conveyor at evisceration=Cev, Blood collection gutter=Gev, Cold carcasses (after overnight refrigeration)=Cc, Drain at cut-out=Dcu, Conveyor at cut-out=Ccu, Shoulder=S.	80
FIG 14	Differentially abundant genera for both farms (lower (L) and the higher (H) sanitary status) across all samples as assessed using linear discriminant analysis (LDA) with effect size (LEfSe) measurements. Only those genera with an LDA score ($\log_{10}$) of >1.0 are displayed.	82
FIG 15	Flow diagram of the source of microorganisms on the shoulder samples. The proportion (%) that each source present on the shoulders is indicated in parenthesis. Samples were collected from Air=Ar, Feces=Fc, Saliva=Sa, Feed=Fe, Dressed carcasses (after blast chilling)=Dc, Drain at evisceration=Dev, Conveyor	

at evisceration=Cev, Blood collection gutter=Gev, Cold carcasses (after overnight refrigeration)=Cc, Drain at cut-out=Dcu, Conveyor at cut-out=Ccu, Shoulder=S..... 83

FIG S1 Differentially abundant genera for both the lower (L) and the higher (H) sanitary status farms in the feces samples as assessed using linear discriminant analysis (LDA) with effect size (LEfSe) measurements. Only those genera with an LDA score ($\log_{10}$) of >2.0 are displayed..... 122

FIG S2 Genera belonging to the *Campylobacteraceae* (black), *Carnobacteriaceae* (purple), *Enterobacteriaceae* (brown), *Lactobacillaceae* (blue) and *Staphylococcaceae* (green) in relative abundance (%) amongst themselves calculated for each of the different sample types for both farms. The top row indicates the percentage these five families represent in the total microbiota. Color gradient ranges from blue=0 % to orange= 100%. Samples were collected from Air=Ar, Feces=Fc, Saliva=Sa, Feed=Fe, Dressed carcasses (after blast chilling)=Dc, Drain at evisceration=Dev, Conveyor at evisceration=Cev, Blood collection gutter=Gev, Cold carcasses (after overnight refrigeration)=Cc, Drain at cut-out=Dcu, Conveyor at cut-out=Ccu, Shoulder=S. Low sanitary status=L (red), High sanitary Status=H (green). Abundance difference between farms the analysis of compositions of microbiomes with bias correction methodology. Significant difference is highlighted with *: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$ 123

FIG S3 Genera identified by LEfSe analysis as biomarkers of the lower (L; red labels) or higher (H; green labels) sanitary status farms across all samples expressed in relative abundance amongst themselves calculated for each of the different sample types for both farms. The top row indicates the percentage these genera represent in the total microbiota. Color gradient ranges from blue=0 % to orange= 100%. Samples were collected from Air=Ar, Feces=Fc, Saliva=Sa, Feed=Fe, Dressed carcasses (after blast chilling)=Dc, Drain at evisceration=Dev, Conveyor at evisceration=Cev, Blood collection gutter=Gev, Cold carcasses (after overnight refrigeration)=Cc, Drain at cut-out=Dcu, Conveyor at cut-out=Ccu, Shoulder=S..... 124

FIG S4 Venn diagram of the shared ASV (count of shared ASV) between the feces=Fc, the saliva=Sa, the Dressed carcasses (after blast chilling)=Dc, Cold carcasses (after overnight refrigeration)=Cc and Shoulder=S samples. 125

Table des tableaux

TABLE 1	Résumé des causes de maladies porcines à la ferme	5
TABLE 2	Principaux microorganismes pathogènes humains potentiellement problématiques dans les viandes porcines	11
TABLE 3	Principaux microorganismes d'altération du porc	15
TABLE 4	Total aerobic mesophilic and <i>Enterobacteriaceae</i> counts regardless of sample types (CFU/300cm ² or 300 ml ± SEM).	68
TABLE 5	Mean volatile fatty acids concentration (ug/g ± SEM) in feces of swine coming from different sanitary status farms.	70
TABLE 6	Factors associated with the microbiome community structure of the swine value chain as measured using ANOSIM of the weighted and unweighted UniFrac distances and Bray-Curtis dissimilarities.	81
TABLE 7	Détail des maladies porcines d'origine bactérienne.....	116
TABLE S1	Raw abundance of each ASV and their accompanying taxonomic identification	126

Liste des abréviations

Abréviations françaises

ADN : Acide désoxyribonucléique
AMT : Aérobes mésophiles totaux
API : Appareils et Procédés d'Identification
ARN : Acide ribonucléique
ARNr : Acide ribonucléique ribosomique
ATP : Adénosine triphosphate
CAD : Dollar Canadien (Canadian Dollar)
DEP : Diarrhée épidémique porcine
EB : Entérobactéries
INDEL : insertion/délétion de nucléotides
Log : Logarithme en base 10
PASA : Programme d'amélioration de la salubrité des aliments
Pb : Paire de bases
SRRP : Syndrome reproducteur et respiratoire porcin
UFC : Unité formatrice de colonies

Abréviations anglaises

ASV : Amplicon sequence variant
BLAST : Basic Local Alignment Search Tool
CFU : Colony-forming unit
DNA : Deoxyribonucleic acid
dNTPs : Nucleoside triphosphates containing deoxyribose
EB : *Enterobacteriaceae*
ELISA : Enzyme-linked immunosorbent assay
EMBL : European Molecular Biology Laboratory
GTDB : Genome Taxonomy Database
GTR+G+I : General time reversible + gamma distribution + proportion of invariable sites
HACCP : Hazard analysis critical control point
HSD : Honest Significant Difference
ICG : Internal Control Genes

KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes

LDA : Linear discriminant analysis

LEfSe : Linear discriminant analysis Effect Size

MyRDP : My ribosomal database project

NA : Not available

NCBI : National center for biotechnology information

OTU : Operational taxonomic unit

PCo : Principal coordinate

PCoA : Principal coordinates analysis

PCR : Polymerase chain reaction

PERMANOVA : Permutational multivariate analysis of variance

PERMDISP : Permutational analysis of multivariate dispersions

PSE : Pale, soft, exudative

PICRUST : Phylogenetic investigation of communities by reconstruction of unobserved states

RFI : Residual feed intake (apport alimentaire résiduel)

RNA : Ribonucleic acid

rRNA : Ribosomal ribonucleic acid

RPM : Revolutions per minute

SEM : Standard Error of the Mean

SNP : Single nucleotide polymorphism (Polymorphisme d'un seul nucléotide)

TAM : Total aerobic mesophilic

*To wonder is to explore and to explore is to
create or discover. - Anonyme.*

Remerciements

Ce projet de maîtrise fut un travail énorme qui n'aurait pu être réalisé sans l'aide et le support d'un ensemble d'excellentes personnes que je souhaite remercier dans cette section.

Tout d'abord, je tiens à remercier Linda Saucier, ma directrice de recherche et un mentor formidable. J'ai joint ton équipe avec peu de connaissance de l'industrie porcine et de son fonctionnement et tu m'as permis, grâce à ce projet, d'en comprendre les rouages à un point que je n'aurais jamais imaginé à l'été 2018. Je veux te remercier pour ton support, ton écoute, tes bons conseils et ta disponibilité tout au long de cette maîtrise. Tu m'as toujours poussé à travailler plus fort, à faire mieux et à bien structurer mon travail. Ces qualités et apprentissages, je les porte dans mon cœur et cela, pour tous mes projets futurs. J'espère avoir été à la hauteur de tes attentes, merci pour tout.

Merci à Antony T. Vincent, tes conseils et ton support, tout particulièrement sur tout ce qui a trait aux analyses génomique et bio-informatiques, m'ont été d'une aide précieuse. Ces longues discussions sur les analyses et paquets R, utile à ce projet, m'ont permis de bien comprendre les éléments des analyses 16S. Ce fut un honneur d'être ton premier étudiant gradué, je t'en souhaite beaucoup d'autres.

Merci à Véronique Hamel et Dominic Gagné pour votre aide et votre savoir précieux au laboratoire. Vous m'avez formé, mais plus que tout conseillé et encouragé lorsque mes analyses n'ont pas fonctionné, ce fut très apprécié.

À Anne-Sophie et Joanie, je veux vous offrir un merci spécial. Vous m'avez été d'une assistance précieuse tant à la ferme qu'à l'abattoir. Sans votre aide, je n'aurais jamais réussi à collecter et à analyser tous ces échantillons. J'ai vraiment apprécié le temps qu'on a passé ensemble. Je vous souhaite beaucoup de succès dans vos doctorats respectifs. J'espère avoir le plaisir de travailler avec vous dans le futur.

Merci à toute l'équipe technique du laboratoire, Annick Rioux, Annie Pelletier, Isabelle Laflamme, Nancy Bolduc et Micheline Gingras pour votre professionnalisme et votre aide au laboratoire. Ce fut très agréable vous côtoyer au laboratoire.

Un gros merci à Simon, Mariève et tous les étudiants d'été qui sont venus me prêter main-forte à la ferme et à l'abattoir. On s'est levé très tôt pour collecter ces échantillons, mais ça en a valu la peine.

Je remercie Sylvain Fournaise, Éric Pouliot, Johanne Leclair, Josée Veilleux et Pierre Champoux pour leur accueil et leur support à l'abattoir. Sans vous ce projet n'aurait jamais pu avoir lieu. Merci.

Merci au Dr Jean Brochu et Dre Brigitte Boucher qui ont sélectionné les fermes de ce projet.

Merci aux producteurs, aux chefs d'équipes, aux employés de l'abattoir et à tous les gens de l'industrie qui ont rendu ce projet possible.

Ce projet n'aurait également pas pu voir le jour sans le soutien financier des Innovateurs Canadiens en Alimentation, dans le cadre de la Grappe d'Innovateurs canadiens en alimentaire – 2018-2023. Ainsi que du soutien financier du Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ), dans le cadre de la Chaire de recherche MAPAQ sur la qualité et la salubrité de la viande et des produits de viande transformée (musculo). Merci à Sollio Groupe Coopératif pour leur collaboration.

À toute ma famille et mes amis qui m'ont appuyé et supporté dans les moments plus difficiles, merci. À mes grands-parents, votre émerveillement et vos questions pour tout ce que je fais m'ont toujours inspiré à poursuivre mes études. Un merci spécial va à mes parents. Vous m'avez toujours supporté dans mes choix et bien que je n'aie jamais imaginé faire une maîtrise, votre support et vos encouragements m'ont permis de me surpasser et réussir ce défi unique et passionnant. Du fond de mon cœur, merci!

Avant-propos

Ce mémoire est divisé en deux chapitres. Le premier consiste en une revue de la littérature associée au microbiome de la chaîne de valeur du porc. Elle est structurée en plusieurs sections incluant les problématiques microbiennes des différentes étapes de production, les méthodes de contrôles de ces problématiques, les différentes méthodes d'analyses microbiologiques et l'état des connaissances génomiques de la chaîne de valeur du porc. Le deuxième chapitre, rédigé sous forme d'article scientifique est intitulé : « Farm contribution to the swine value chain microbiome » et rassemble les résultats de mes travaux de recherche. Il sera soumis pour publication dans la revue « Applied and environmental microbiology ». Je suis l'auteur principal de cet article, les coauteurs sont les chercheurs A.T. Vincent, C. Duchaine, E. Pouliot, S. Fournaise et L. Saucier.

Introduction générale

Le porc est l'une des viandes les plus consommées dans le monde et jusqu'en 2015, elle était la chair la plus consommée mondialement (1). Ce segment de l'industrie des viandes est un secteur important de l'économie canadienne de 26,95 millions d'animaux ayant une valeur marchande de 4,6 milliards CAD en 2019 (2, 3). Au Canada, une large proportion de cette viande produite (1 370 Kilotonnes ou 3,9 milliards CAD) est exportée dans le monde entier, principalement en Asie (4). La nature réglementaire exigeante de ce marché et la longue distance sur laquelle les produits doivent être transportés, fait que la viande de porc exporté dans ces pays doit être de qualité irréprochable tant au niveau microbiologique et qu'organoleptique.

La viande porcine, comme tous les muscles d'animaux sains, à l'exception des ganglions lymphatiques, ne contiennent presque aucun microorganisme (5). Pourtant, ces produits sont les plus à risque de provoquer des toxi-infections alimentaires (6, 7). La viande de porc de par sa teneur en nutriments et en eau est un produit alimentaire favorisant la croissance microbienne suite à une contamination lors du processus d'abattage et de transformation (8, 9). De plus, bactéries initiales des porcs (colonisant système respiratoire, peau, système digestif, salive, etc.) peuvent aussi contaminer la viande lors du processus d'abattage, d'éviscération ou encore de découpe (10). C'est pourquoi la qualité et la salubrité de la viande de porc doivent provenir d'une combinaison de mesures à la ferme et en usine. Ces mesures sont une efficace biosécurité, une gestion de la santé du troupeau, un abattage et une découpe hygiénique de la viande le tout combiné à des mesures de gestion des risques dans les abattoirs (plans de contrôle préventifs, plans HACCP et mesures similaires). La salubrité des viandes est une préoccupation constante pour les producteurs de porcs et les transformateurs qui doivent trouver de nouvelles façons d'identifier, avec précision, les interventions susceptibles de pousser plus loin la qualité microbiologique de la viande de porc.

Le statut sanitaire d'un troupeau est une évaluation faite par un vétérinaire de la santé globale d'un troupeau. Il peut être élevé, moyen ou faible selon la prévalence et la fréquence de trouble de santé dans l'exploitation porcine. Ce statut est un facteur contribuant à la qualité microbienne du produit final (11). Ainsi, il a été identifié comme l'un des nombreux facteurs influençant le microbiote intestinal du porc (12). Au début des années 2000, l'application d'une gestion de la santé des troupeaux et d'autres mesures sanitaires ont réduit le risque d'infection par les agents pathogènes *Mycoplasma hyopneumoniae* et *Actinobacillus pleuropneumoniae* (13). Le statut sanitaire des

troupeaux pour des agents pathogènes spécifiques tels que *Clostridium perfringens*, *Salmonella enterica* et *Yersinia enterocolitica* a été lié à la contamination des carcasses (14). Alors que les exploitations de porc modernes en Amérique du Nord et en Europe ont en grande partie un statut sanitaire élevé, certaines exploitations ont un statut moyen à faible (15). En améliorant les conditions sanitaires à la ferme, la santé et le bien-être des animaux sont ainsi améliorés (16). Pour évaluer l'impact du statut sanitaire d'un troupeau sur le microbiome de la chaîne de valeur, une connaissance précise de l'évolution des populations microbiennes et de ses variations de la ferme à la découpe de viande doit être disponible.

L'analyse de microorganismes par culture sur boîtes de Petri est une technique populaire utilisée dans l'évaluation routinière des populations microbiennes des abattoirs (17). Cette technique permet une évaluation quantitative, mais incomplète des populations microbiennes, car seules les bactéries viables et cultivables peuvent être dénombrées. Donc, elle sous-estime la diversité microbiologique réelle (18, 19). Pour compenser cette faiblesse, de nouvelles techniques de biologie moléculaire incluant le séquençage du génome entier ou d'amplicons de gènes spécifiques (5S, 8S, 16S, etc.) ont été développées. Le microbiome de divers environnements a été caractérisé (intestins humains (20), microbiome terrestre (21), etc.), à l'aide de ces techniques puissantes. En raison de son coût inférieur et de sa relative simplicité par rapport à d'autres méthodes génomiques, de nombreuses études de séquençage d'amplicons du gène 16S ont vu le jour, se concentrant sur des points spécifiques de la chaîne de valeur du porc. L'écosystème microbien présent dans l'air des bâtiments d'élevage porcin (19, 22-24), le microbiote du système digestif du porc (12, 25-32), les microbes des voies respiratoires et de la bouche/salive (33-36), les agents environnementaux des abattoirs (37, 38), le microbiote de la carcasse (37, 39, 40), ont tous été évalués par des méthodes génomiques lors d'études spécifiques.

Aucune étude à ma connaissance ne relie tous ces environnements en suivant les mêmes animaux de la ferme à la découpe de viande. Les études précédentes se concentraient plutôt sur différents sites ou sections de la chaîne de valeur et étaient basées sur un échantillonnage aléatoire. Deux élevages porcins commerciaux ayant des statuts sanitaires différents ont été suivis. On cherche à évaluer comment le passage de ces animaux provenant d'élevages de statut sanitaire différents module le microbiote lors de l'habillage des carcasses (abattage et éviscération) et lors de la découpe des carcasses. Ce projet générera une connaissance précise des risques microbiens

associés au microbiote animal et de l'efficacité avec laquelle les usines de transformation de la viande atténuent ces risques de nature microbiologique.

Chapitre 1 : Revue de littérature

1.1 Problématiques et défis microbiologiques à travers la chaîne de valeur du porc

La production porcine présente des risques de problématiques microbiologiques et de maladies infectieuses pouvant décimer un cheptel, causer des altérations des viandes et des toxi-infections alimentaires chez les consommateurs. Ces préoccupations se retrouvent à la ferme, mais aussi à l'abattoir et dans les usines de transformation. L'épidémie actuelle de peste porcine africaine (*Asfivirus*) en Asie est un exemple d'une problématique microbiologique qui bouleverse l'industrie. En Chine, le cheptel porcin a chuté de 705 millions d'animaux à 440 millions entre 2017 et 2019 selon le *United States Department of Agriculture* (41). Cette catastrophe risque d'affaiblir l'industrie chinoise pour les années à venir. Ce pathogène n'a jamais été détecté au Canada. Cependant, une détection et par conséquent un statut positif de l'industrie canadienne entraînerait de sévères restrictions des exportations de porc vivant, des viandes et produits transformés de porc, ainsi que des aliments pour animaux destinés aux porcs produits au Canada. De plus, des euthanasies massives pour freiner la propagation du virus devraient être envisagées afin de circonscrire et contrôler le virus. D'autres exemples de maladies sérieuses affectant les productions porcines sont la diarrhée épidémique porcine (DEP) et le syndrome reproducteur et respiratoire porcin (SRRP).

1.1.1 Élevage porcin

Les problématiques à la ferme sont principalement d'origine bactérienne, virale et parasitaire. Il est aussi possible que l'origine soit autre que microbiologique. Il existe une variété de maladies d'ordre métaboliques et physiologiques dont les causes sont associées à l'alimentation des porcs, à la présence de toxines dans les aliments et à la présence de produits chimiques dans l'environnement porcin (Tableau 1).

TABLE 1 Résumé des causes de maladies porcines à la ferme

Type	Classification	Microorganisme ou autre problématique
Bactéries ^a	Gram+	<i>Actinobaculum suis</i>
		<i>Actinomyces hyovaginalis</i>
		<i>Bacillus anthracis</i>
		<i>Clostridium</i> spp. (Principalement <i>C. difficile</i> et <i>C. perfringens</i>)
		<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>
		<i>Enterococcus</i> spp.
		<i>Listeria monocytogenes</i>
		<i>Mycobacterium</i> spp. (Tuberculose)
		<i>Mycoplasma</i> spp.
		<i>Rhodococcus equi</i>
		<i>Staphylococcus</i> spp. (Principalement <i>S. aureus</i> /MRSA et <i>S. hyicus</i>)
		<i>Streptococcus</i> spp.
		<i>Trueperella abortus</i> , <i>T. pyogenes</i> (anciennement : <i>Arcanobacterium abortus</i> , <i>A. pyogenes</i>)
	Gram-	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> ; <i>A. suis</i> et <i>A. equuli</i>
		<i>Bordetella bronchiseptica</i>
		<i>Brachyspira</i> spp. et <i>Brachyspira hyodysenteriae</i> (Dysenterie porcine)
		<i>Brucella suis</i> ; <i>B. abortus</i> et <i>B. melitensis</i>
		<i>Burkholderia pseudomallei</i>
		<i>Campylobacter coli</i> , <i>Campylobacter jejuni</i>
		<i>Chlamydophila pecorum</i> , <i>C. psittaci</i> , <i>C. abortus</i> et <i>C. suis</i>
		<i>Escherichia coli</i>
		<i>Haemophilus parasuis</i>
		<i>Lawsonia intracellularis</i>
		<i>Leptospira</i> spp.
		<i>Pasteurella multocida</i> sous espèces <i>P. multocida</i> , <i>P. septica</i> , et <i>P. gallicida</i> .
		<i>Salmonella</i> spp.
		<i>Treponema pedis</i>
		<i>Yersinia</i> spp. (<i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Y. pseudotuberculosis</i>)
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>

Virus	À ADN	Famille <i>Adenoviridae</i> (Mastadenovirus porcin type A, B et C) Famille <i>Anelloviridae</i> (<i>Torque teno virus</i>) Famille <i>Asfarviridae</i> (Peste porcine africaine) Famille <i>Circoviridae</i> (Circovirus porcin type 1, 2 et 3) Famille <i>Herpesviridae</i> (Herpèsvirus; maladie d'Aujeszky, Cytomégalo virus porcin PCMV, fièvre catarrhale maligne) Famille <i>Parvoviridae</i> (Parvovirus porcin) Famille <i>Poxviridae</i> (Variole porcine)
	À ARN	Famille <i>Arteriviridae</i> (Syndrome reproducteur et respiratoire du porc) Famille <i>Astroviridae</i> (Mamastrovirus) Famille <i>Caliciviridae</i> (Exanthème vésiculaire porcin; <i>Lagovirus</i>, <i>Vesivirus</i>, <i>Norovirus</i>, <i>Sapovirus</i>, et <i>Nebovirus</i>) Famille <i>Coronaviridae</i> (Virus de la gastroentérite transmissible; deltacoronavirus porcin; Diarrhée épidémique porcine; virus de l'encéphalite hémagglutinante du porc) Famille <i>Filoviridae</i> (Virus ebola; Virus Reston) Famille <i>Flaviviridae</i> (Encéphalite japonaise; virus du Nil occidental; encéphalite australienne; fièvre porcine classique; virus bungowannah; Virus Zika) Famille <i>Hepeviridae</i> (Hépatite E) Famille <i>Orthomyxoviridae</i> (Virus de l'influenza) Famille <i>Paramyxoviridae</i> (Syndrome des yeux bleus; virus nipah, Virus de Menangle) Famille <i>Peribunyaviridae</i> (Bunyavirus porcin; Virus Akabane, Oya, Lumbo et Tahyna) Famille <i>Picornaviridae</i> (Fièvre aphteuse; maladie vésiculeuse du porc; virus encéphalomyocardique; teschovirus porcin, Sénécavirus, Sapélovirus Porcin) Famille <i>Reoviridae</i> (Rotavirus Porcin, Reovirus Porcin) Famille <i>Retroviridae</i> (Rétrovirus) Famille <i>Rhabdoviridae</i> (Virus de la stomatite vésiculaire, Rage) Famille <i>Togaviridae</i> (Encéphalite équine de l'Est; virus GETAH; infection virale SAGIYAMA; infection à virus Ross River)
Parasites	Insectes	Acariens (Sarcoptic mange, Demodectic mange)

		Mouches (<i>Musca domestica</i> ; <i>Stomoxys calcitrans</i>)
		Moucheron (Myiase à callitroga)
		Moustiques
		Poux (<i>Haematopinus suis</i>)
		Puce (<i>Siphonaptera</i>)
		Tique (Ixodid; Argasid)
Coccidies et protozoaires		<i>Isospora suis</i> (Coccidiose)
		<i>Toxoplasma gondii</i> (toxoplasmose)
		<i>Sarcocystis</i> spp. (sarcosystose)
		<i>Cryptosporidium</i> spp. (Cryptosporidiose)
		<i>Giardia</i> spp. (Giardiase)
		<i>Entamoeba</i> spp.
		Les microsporidies (<i>Enterocytozoon bienewisi</i> ; <i>Encephalitozoon</i> spp.)
		<i>Balantidium coli</i>
		<i>Gongylonema pulchrum</i>
		<i>Hyostrogylus rubidus</i> (Ver rouge de l'estomac)
		Vers de l'estomac spiroïde (<i>Physicocephalus sexalatus</i> ; <i>Ascarops strongylina</i> ; <i>Gnathostoma Spinigerum</i> ; <i>Simondsia paradoxa</i>)
		<i>Strongyloides ransomi</i>
		<i>Ascaris suum</i> (Ver rond)
		<i>Trichinella spiralis</i> (Trichinellose)
Helminthe		<i>Globocephalus urosubulatus</i> (Ankylostome)
		<i>Macracanthorhynchus hirudinaceus</i> (Acanthocéphale)
		<i>Trichuris suis</i> (trichurose)
		<i>Oesophagostomum</i> spp. (Vers nodulaires)
		Vers des poumons (<i>Metastrongylus apri</i> ; <i>Metastrongylus pudendotectus</i> ; <i>Metastrongylus salmi</i>)
		Paragonimose (<i>Paragonimus kellicotti</i> ; <i>Paragonimus westermani</i>)
		<i>Fasciola hepatica</i> (distomose hépatique)
		<i>Echinococcus</i> spp. (Hydatidose)
		<i>Stephanurus dentatus</i> (vers rénaux)
		<i>Taenia solium</i> (cysticercose)
Problématique alimentaire	Carences nutritionnelles :	Apport alimentaire réduit
		Faible biodisponibilité en nutriments dans les aliments

	causes	Variabilité de la teneur en éléments nutritifs des aliments Erreurs de formulation et de préparation des aliments Variation des besoins en nutriments des porcs Excès de certains nutriments
	Excès nutritionnels :	Apport alimentaire excessif Erreurs de formulation et de préparation des aliments
	causes	Mauvaise qualité de l'eau Suppléments de minéraux contaminés
	Mycotoxines dans les grains et les aliments	Aflatoxines de type B ₁ ; B ₂ ; G ₁ et G ₂ (aflatoxicoses) Ergot (<i>Claviceps purpurea</i>) Fumonisine de type B ₁ ; B ₂ ; et B ₃ Ochratoxine A et Citrinine Trichothécène (deoxynivalenol) Zearalenone (Toxine F-2)
	Plantes toxiques	<i>Amaranthus Retroflexus</i> (amarante à racine rouge) Excès de nitrites ou de nitrates provenant de plantes <i>Solanum Nigrum</i> (morelle noire) <i>Xanthium Spp.</i> (lampourde glouteron)
	Minéraux (excès ou carence)	Minéraux essentiels (cuivre, fer, sélénium, zinc) Minéraux non essentiels (arsenic, fluor, plomb, mercure) Toxicose aux ions de sodium (empoisonnement au sel ou manque d'eau)
Problématique autre	Pesticides	Brométhaline Cholécalférol (vitamine D ₃) Formamidine, phénylpyrazole et néonicotinoïde (peu de risques de toxicoses) Hydrocarbure chloré Organophosphorés et carbamates Pyréthroïde Rodenticides anticoagulants (Warfarine, diphacinone, chlorophacinone, etc.) Strychnine
	Toxicants divers	Brai de goudron Glycol d'éthylène

	Gossypol
Défaillance de la	Ammoniac (NH ₃)
ventilation et gaz	Dioxyde de carbone (CO ₂)
toxiques	Hyperthermie (défaillance de la ventilation)
	Méthane (CH ₄)
	Monoxyde de carbone (CO)
	Sulfure d'hydrogène (H ₂ S)

^a les informations détaillées des maladies associées aux bactéries sont regroupées à l'annexe A

Adapté de (42-46)

Ces problématiques (Tableau 1) ont des origines variées (47, 48). Les microorganismes problématiques peuvent être introduits par la nourriture (46, 49-56), les vecteurs passifs de transmission (les véhicules, le personnel et l'équipement; (46, 53, 57-63), l'air (46, 64-68), l'eau (46, 61, 69-72), les animaux sauvages (46, 55, 61, 73-76), les vermines (insectes, rongeurs, parasites externes; (46, 61, 62, 76-82), la semence (46, 83-85) ou encore, par les matières fécales (46, 62, 86-89). La plupart de ces sources de contaminations sont synergiques (46). Par exemple, les animaux sauvages sont porteurs de microorganismes pathogènes qui peuvent être transmis par contact direct (rare dans des installations modernes), mais aussi par les vermines. Ces derniers se contaminent sur les porcs sauvages et ensuite entrent dans les bâtiments et transmettent les contaminants, ce qui, sans les vermines, n'aurait pas été possible (76).

1.1.2 Abattage, éviscération et découpe

Les microorganismes et autres problématiques identifiées à la ferme exercent une influence directe sur la composition microbienne de l'abattoir. Durant les opérations d'abattage, de l'éviscération et de la découpe, des microorganismes provenant du système digestif, respiratoire et de la zone buccale des porcs risquent de contaminer la carcasse (5, 90-92). Plus la charge en microorganismes de ces zones contaminées est importante, plus les risques de contaminer la viande sont grands (93). De plus, le statut sanitaire positif d'un troupeau à des pathogènes spécifiques tel que *C. perfringens*, *Salmonella enterica* et *Y. enterocolitica* a été lié à leur incidence sur les carcasses résultantes (14). Ces microorganismes peuvent provenir d'une contamination à la ferme, mais ils peuvent aussi se transmettre lors du transport à la suite d'une contamination croisée entre les porcs (Fig. 2).

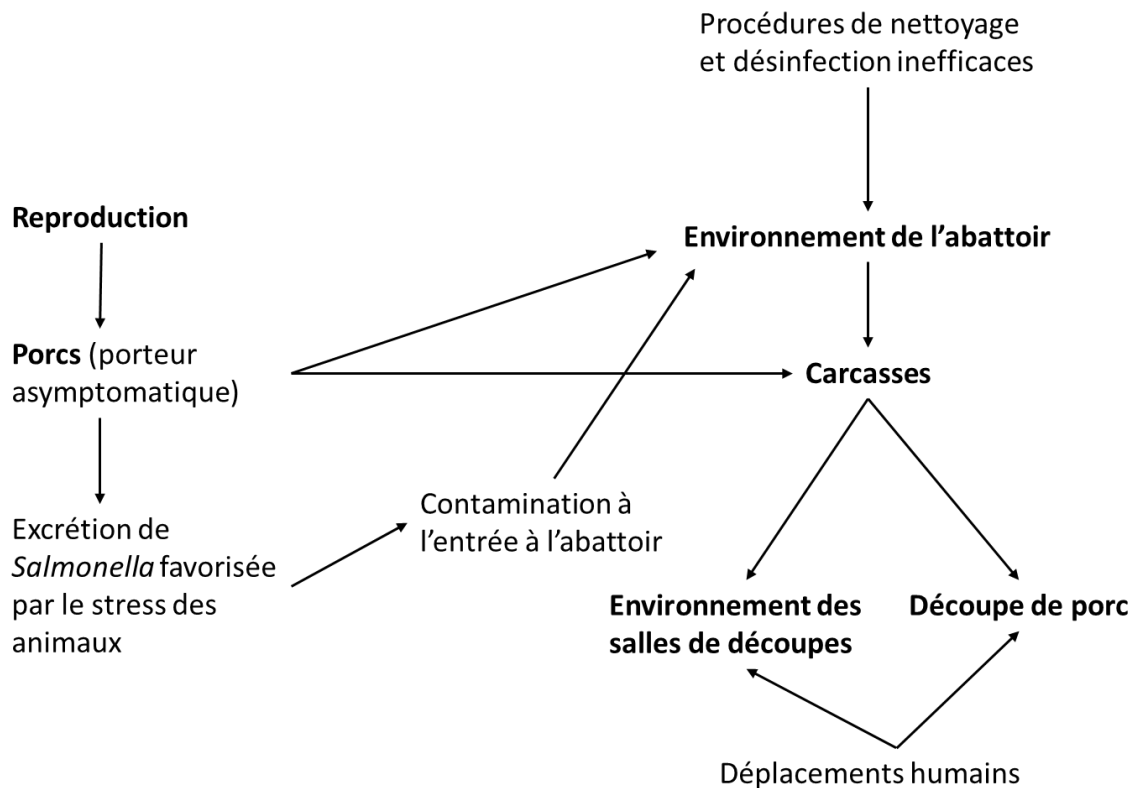


FIG 1 Évènements possiblement impliqués dans la contamination par *Salmonella* spp. dans les découpes de porcs. Traduit de Giovannacci et coll. (94).

À l'abattoir, l'animal représente le réservoir le plus important de microorganismes (91). Également, il existe d'autres sources variées de microorganismes dont : le manipulateur (91), l'équipement (38, 95-98), les drains (99-101) et l'air ambiant (102-105). Par exemple, la contamination des drains d'abattoir représente un risque d'introduction de contaminants. La teneur en aérobies mésophiles totaux (AMT) et en entérobactéries (EB) dans les liquides de drain varie respectivement de 3,5 à 10 et 1,5 à 8,5 log d'UFC/ml. Ces liquides contenant une grande charge microbienne peuvent former des aérosols dans les drains entraînant un risque de contamination (106). Ces sources ne sont pas négligeables, car même si les manipulations et la santé de l'animal semblent adéquates, des microorganismes environnementaux peuvent tout de même contaminer les carcasses et être sujets à des altérations des produits suivis de cas de toxi-infections alimentaires (Tableau 2 et 3).

TABLE 2 Principaux microorganismes pathogènes humains potentiellement problématiques dans les viandes porcines

Type	Classification	Microorganisme
Bactéries	Gram+	<i>Bacillus Cereus</i>
		<i>Clostridium difficile</i> , <i>C. perfringens</i> et <i>C. botulinum</i>
		<i>Staphylococcus spp.</i> (principalement <i>S. aureus</i> /MRSA)
		<i>Listeria monocytogenes</i>
		<i>Mycobacterium avium</i>
		<i>Streptococcus suis</i>
		<i>Aeromonas hydrophyla</i> (En très haute concentration)
	Gram-	<i>Arcobacter spp.</i> et <i>A. butzleri</i>
		<i>Campylobacter coli</i> et <i>C. jejuni</i>
		<i>Escherichia coli</i>
		<i>Salmonella spp.</i>
		<i>Yersinia enterocolitica</i> et <i>Y. pseudotuberculosis</i>
		Famille <i>Caliciviridae</i> (Norovirus et Sapovirus)
		Famille <i>Coronaviridae</i> (Coronavirus autres que le Covid-19 qui ne se transmet pas par les produits alimentaires; Syndrome respiratoire aigu sévère)
		Famille <i>Hepeviridae</i> (hépatite E et A)
		Famille <i>Reoviridae</i> (Rotavirus)
Virus	À ARN	
Parasites	Coccidies et protozoaires	<i>Cryptosporidium spp.</i>
		<i>Toxoplasma gondii</i> (toxoplasmose)
		<i>Trichinella spiralis</i> , <i>T. britovi</i> et <i>T. pseudospiralis</i>
		<i>Taenia saginata asiatica</i> et <i>T. solium</i>
	Helminthe	

Adapté de (5, 45, 92, 94, 95, 107-124)

Les muscles des animaux en santé sont considérés comme contenant une infime quantité de microorganismes à l'exception des nœuds lymphatiques. Bien qu'il puisse y avoir des populations microbiennes intrinsèques des muscles, celles-ci ne sont pas la cause principale de la contamination de la viande (5). Les microorganismes retrouvés sur les carcasses proviennent de contamination extrinsèque principalement lors du processus d'abattage, d'éviscération et de découpe. Ce processus complexe est résumé à la Figure 2.

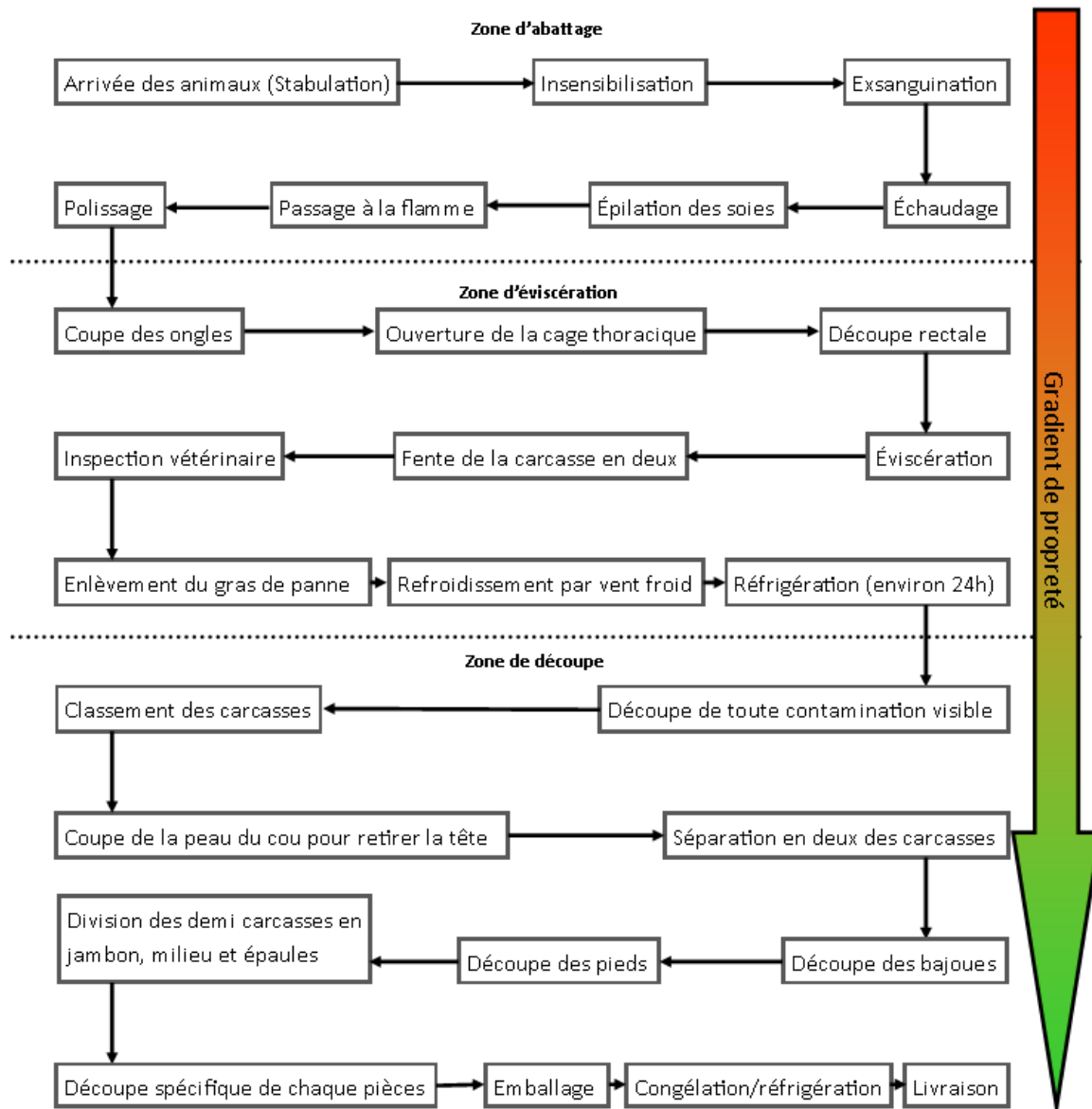


FIG 2 Résumé des différentes étapes d'abattage, d'éviscération et de découpe des porcs à l'abattoir.
Adapté de (10, 125, 126)

À l'abattage, la population bactérienne en surface de l'animal est maximale (environ 6,5 log d'UFC/cm² d'AMT). Les carcasses porcines sont ensuite échaudées, épilées et flambées (Fig. 3). Ces étapes participent à diminuer la charge microbienne des carcasses et permettent de la réduire à environ 3,5 log d'UFC/cm² (10, 98). Ce niveau de contamination remonte après le passage des carcasses dans le tunnel de polissage à environ 6 log d'UFC/cm². L'équipement de polissage accumule une quantité non négligeable de microorganismes, ce qui peut entraîner une transmission de la contamination de carcasses fortement contaminée vers des carcasses avec une plus faible teneur en microorganismes (96). Elle reste ensuite relativement stable à environ 6 log d'UFC/cm² pendant les étapes d'éviscération. Elle redescend à environ 5 log d'UFC/cm² après le refroidissement des carcasses (10, 98, 127). Cette contamination en surfaces des carcasses est similaire dans les abattoirs canadiens et se situe en moyenne à 2,2 log d'UFC/cm² pour les AMT, 1,74 log d'UFC/100 cm² pour les coliformes et 1,31 log d'UFC/100 cm² pour *E. coli* (128). Les zones les plus contaminées des porcs canadiens sont celles de l'épaule, du flanc, des pattes avant et du coup. Elles ont une contamination supérieure à 2 log d'UFC/cm² d'AMT ou 1 log d'UFC/100 cm² de coliforme ou d'*E. coli* (129). Dans les abattoirs de Suisse, la contamination moyenne en AMT est de 3,3 log d'UFC/cm² variant de 2,1 à 4,2 log UFC/cm², où le dos est la zone la plus contaminée (10). Un point est à noter. Les animaux hors dimension, comme les truies de reproduction envoyées à l'abattoir, ont une concentration en microorganismes (UFC/cm²) significativement plus importante que les porcs d'engraissement principalement à cause de leur taille et poids supérieur qui dérangent les abattoirs moins bien conçus pour recevoir ce type de carcasses, ce qui entraîne plus de contamination en frottant sur les murs et le plancher des abattoirs (40).

Les seuls microorganismes dont le niveau de contamination varie peu à l'abattoir sont les parasites internes. Les parasites comme *T. gondii* et *T. spiralis* se développent dans le système digestif porcin puis, une fois qu'ils ont atteint leur taille adulte, ils vont se reproduire. Les larves générées vont ensuite se loger dans les tissus et les muscles de l'animal (130, 131); ce qui les protège des traitements en surface des carcasses. *T. gondii* et *T. spiralis* se retrouvent majoritairement dans les abats comme les poumons, le cœur et le cerveau; d'où l'importance de bien cuire ces organes et autres abats de porc (118, 132-135). Une fois enkysté, il est presque impossible de les détecter lors de l'inspection visuelle des carcasses (136). Cependant, même s'ils sont difficiles à détecter, les parasites *T. spiralis* et *T. gondii* sont très bien contrôlés dans les élevages porcins modernes et posent un risque faible pour la santé publique puisqu'ils ont une prévalence d'un peu moins d'un 1 %

chez les porcs américains à l'abattoir (45). Le porc canadien est positif à *T. gondii* dans 0,3 % des pièces de viande au détail et est exempt de *T. spiralis* (137). Cependant, les porcs d'élevages biologiques sont plus souvent porteurs de parasites de la famille des coccidés (*Isospora suis*, *Eimeria spp.* etc.) et *Ascaris suum* que les porcs d'élevages conventionnels (138).

Les porcs et les carcasses subséquentes peuvent aussi être contaminés par de plusieurs virus (Tableau 2), comme l'hépatite E (116, 117), les rotavirus (124), les Sapovirus (123) et les Norovirus (139). Il y a un risque de contamination avec des agents viraux de la carcasse à l'abattoir par les matières fécales et les organes contaminés, car les fèces sont composées d'une panoplie de virus; principalement des *Picornaviridae* et des *Astroviridae* ce qui indique une haute probabilité de retrouver ces virus sur les carcasses (140).

1.1.3 Produits pour le marché de détail

Les produits pour le marché du détail sont divisés en deux types, les produits crus comme les découpes de viande, les abats et les saucisses crues et les produits cuits tels que le jambon et les pâtés. Puisque les microorganismes provenant de la ferme devraient être détruits par la cuisson, les produits cuits ne seront pas abordés ici. Cependant, la viande et les produits frais sont contaminés lors des étapes de sa transformation, principalement par microorganismes associés à l'altération (tableau 3; (141).

TABLE 3 Principaux microorganismes d'altération du porc

Classification	Microorganisme	Références
Bactérie, Gram +	<i>Arthrobacter spp.</i>	(142)
	<i>Bacillus spp.</i>	(98, 141-146)
	<i>Brochothrix thermosphacta</i>	(39, 141, 142, 144, 146-151)
	<i>Carnobacterium divergens</i>	(142, 148, 149, 151, 152)
	<i>C. maltaromaticum</i>	
	<i>C. gallinarum</i>	
	<i>Clostridium spp.</i>	(39, 98, 142, 144, 148)
	<i>C. algidicarnis</i>	
	<i>C. estertheticum</i>	
	<i>C. frigidicarnis</i>	
	<i>C. gasigenes</i>	
	<i>C. putrefaciens</i>	
	<i>Kocuria spp.</i>	(142)
	<i>Kurthia spp.</i>	(142)
	<i>Lactobacillus spp.</i>	(5, 39, 40, 98, 144, 146-150, 152)
	<i>L. algidus</i>	
	<i>L. curvatus</i>	
	<i>L. sakei</i>	
	<i>L. kimchii</i>	
	<i>L. graminis</i>	
	<i>L. oligofermentans</i>	
	<i>Lactococcus spp.</i>	(40, 98, 142, 146, 147, 150)
	<i>L. piscium</i>	
	<i>Leuconostoc spp.</i>	(142, 144, 148-150, 153)
	<i>L. carnosum</i>	
	<i>L. gasicomitatum</i>	
	<i>L. gelidum</i>	
	<i>L. mesenteroides</i>	
	<i>L. pseudomesenteroides</i>	
	<i>L. kimchii</i>	
	<i>Listeria spp. (Autre que</i>	(142)

	<i>monocytogenes</i>)	
	<i>Macrococcus</i> spp.	(154)
	<i>Microbacterium</i> spp.	(142, 155)
	<i>Micrococcus</i> spp.	(141, 142, 151)
	<i>Paenibacillus</i> spp.	(142)
	<i>Pediococcus</i> spp.	(154)
	<i>Staphylococcus</i> spp.	(98, 141-143, 146, 149, 151, 155, 156)
	<i>S. pasteurii</i>	
	<i>S. saprophiticus</i>	
	<i>S. xylosus</i>	
	<i>Streptococcus</i> spp.	(39, 98, 142, 155)
	<i>S. parauberis</i>	
	<i>Weissella</i> spp.	(142, 148)
Bactérie, Gram -	<i>Aeromonas</i> spp.	(5, 39, 142, 146)
	<i>Acinetobacter</i> spp. (Proche des <i>Moraxella</i>)	(5, 39, 98, 141-143, 146, 151, 154, 156)
	<i>Achromobacter</i> spp.	(142, 151)
	<i>Alcaligenes</i> spp.	(142)
	<i>Alteromonas</i> spp. et <i>A. putrefaciens</i>	(5, 141, 142)
	<i>Bradyrhizobium</i> spp.	(142)
	<i>Buttiauxella agrestis</i>	(142)
	<i>B. gaviniae</i>	
	<i>B. noackiae</i>	
	<i>Chromobacterium</i> spp.	(142)
	<i>Citrobacter freundii</i>	(98, 142)
	<i>Enterobacter cloacae</i>	(142, 144, 148, 151, 154)
	<i>E. agglomerans</i>	
	<i>Flavobacterium</i> spp.	(98, 141, 151)
	<i>Hafnia alvei</i>	(142, 151)
	<i>Klebsiella</i> spp.	(142)
	<i>Kluyvera</i> spp.	(142)
	<i>Limnobacter</i> spp.	(142)
	<i>Moraxella</i> spp. (Proche des	(5, 98, 141, 142)

<i>Acinetobacter</i>)	
<i>Pantoea</i> spp.	(142)
<i>P. agglomerans</i>	
<i>P. anantis</i>	
<i>Photobacterium</i> spp.	(142, 150)
<i>P. kishitaniiclade</i>	
<i>Proteus</i> spp.	(142, 151)
<i>P. vulgaris</i>	
<i>Providencia</i> spp.	(142)
<i>Pseudomonas</i> spp.	(5, 39, 40, 141-148, 150-152, 154-158)
<i>P. fluorescens</i>	
<i>P. fragi</i>	
<i>P. lundensis</i>	
<i>P. migulae</i>	
<i>P. putida</i>	
<i>P. syringae</i>	
<i>Psychrobacter</i> spp.	(98, 142, 146)
<i>Rahnella</i> spp.	(142)
<i>R. aquatilis</i>	
<i>Ralstonia</i> spp.	(142)
<i>Rudaea cellulolytica</i>	(142)
<i>Serratia</i> spp.	(39, 142, 149, 151, 156)
<i>S. grimesii</i>	
<i>S. liquefaciens</i>	
<i>S. marcescens</i>	
<i>S. proteamaculans</i>	
<i>Shewanella putrefaciens</i>	(142, 146)
<i>Stenotrophomonas</i>	(142, 155)
<i>maltophilia</i>	
<i>Yersinia</i> spp.	(142, 144, 151, 152)

La présence de microorganismes pathogènes comme *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.* et *Staphylococcus aureus* soulèvent des inquiétudes en transformation porcine et se retrouvent à la surface des pièces de viande. *Salmonella* est présente dans 3,5 % des pièces de viande danoises (159), 2,8 % des pièces de viandes américaines (160) et 1,39 % pour la viande hachée de porc américain (161). *C. coli* et *C. jejuni* sont présent dans 7.8 % et 1.3 % des pièces de viande de Nouvelle-Zélande, respectivement (162). De plus, ils se retrouvent sur 3.0 % et 0.5 % des pièces de viande américaines (160). *S. aureus* (incluant ceux résistant à la méticilline) est isolé sur 45,6 % des pièces de porc américaines du détail tandis que de tous les isolats 5,6 % sont résistants à la méticilline (163). Ce qui est similaire aux pièces de viande canadiennes où la prévalence de *S. aureus* résistant à la méticilline est de 7,7 % (164). Ces microorganismes (tableau 2 et 3) sont des contaminants qui peuvent croître et même supplanter la flore indigène des viandes lors des différentes étapes de leur transformation. Les bactéries comme *E. coli* et *L. monocytogenes* sont de bon exemple. Ces pathogènes s'aggravent tout au long de la chaîne de transformation, alors que la contamination totale diminue (165). Elles peuvent ainsi supplanter la communauté microbienne résiduelle pendant la durée de vie des viandes (149).

Les virus présentent aussi un risque de causer des toxi-infections avec des viandes crues. Le foie et les produits à base de foie sont les produits à risque chez le porc. Les foies sont contaminés à l'hépatite E dans une proportion de 8,8 % au Canada, 17,3 % en France et 12,3 % aux Pays-Bas, alors que les saucisses faites à partir de foie le sont dans une proportion de 70 % (117, 119, 121). De plus, les rotavirus et les calicivirus se retrouvent sporadiquement sur les pièces de viandes porcines canadiennes (121).

Ainsi, les produits de porcs sont à risque de contaminer la viande tout au long de la chaîne de valeur. Il est clair que ces contaminations varient et se modulent tout au long de la chaîne. Le statut sanitaire des élevages est peu exploré comme facteur d'incidence de contaminants des viandes crues.

1.2 Systèmes de contrôle des problématiques et défis actuels

La viande est un produit favorable à la croissance des microorganismes par sa composition en nutriments essentiels à leur développement et sa teneur élevée en eau. Comme elle se contamine par des microorganismes lors de l'abattage et de la découpe des animaux, une panoplie de mesures, de techniques et de méthodes ont été mises en place dans toute la chaîne de valeur pour assurer les contrôler et ainsi, réduire leur impact négatif sur la qualité microbiologique et l'innocuité des produits alimentaires pour le détail.

1.2.1 Mesures à la ferme

1.2.1.1 Mesures appliquées en industries

Pour contrôler les microorganismes causant des maladies à la ferme deux approches principales sont mises en œuvre dans l'industrie porcine. La première est l'application de mesures de biosécurité à la ferme. Ces mesures, les plus communes, sont résumées ici :

- Installer les bâtiments loin de la population et dans un endroit ayant un climat propice à l'élevage.
- Selon le type de ferme, éviter d'avoir plusieurs animaux différents dans une localisation.
- Ségréger dans différents bâtiments les porcs de la pouponnière, maternité et engraissement.
- Contrôler l'accès aux installations et faire un vide sanitaire à l'entrée des bâtiments (sas danois).
- Contrôler la source des animaux et s'assurer de la santé des nouveaux arrivants.
- Isoler les nouveaux arrivants.
- Pratiquer une quarantaine où les porcs sont observés minutieusement.
- Faire un vide sanitaire entre la sortie et l'arrivée de nouveaux porcs.
- Utilisation de système *all-in-all-out* où les différents groupes de porcs ne se croisent jamais.
- Faire un contrôle des pestes, comme les rongeurs et les insectes.
- Garder les bâtiments et les parcs propres et bien respecter les protocoles de désinfections
- Faire un contrôle des véhicules et du personnel ayant accès au site pour éviter les contaminations entre les fermes par des périodes de retrait
- Avoir un système de gestions du purin efficace et unique à chaque ferme
- Faire un contrôle strict de la taille, de la forme et de la composition des aliments
- Appliquer des campagnes de vaccination
- Ajouter des additifs comme des acides organiques ou des probiotiques aux aliments et à l'eau

Liste tirée de (57, 166).

La seconde est l'utilisation d'antimicrobiens comme agent thérapeutique, prophylactique ou métaphylaxique dans le cadre d'un suivi vétérinaire. L'utilisation d'antimicrobiens comme facteur de croissance est interdite en Europe depuis 2006 et est fortement restreinte au Canada où tous les antimicrobiens importants en santé humaine et utilisée en alimentation animale sont vendus uniquement sous ordonnance vétérinaire depuis 2018. L'objectif de ces mesures étant de diminuer leur utilisation pour minimiser l'apparition de résistances et prolonger leur efficacité en santé humaine et animale (167, 168). Les antimicrobiens utilisés dans l'alimentation animale ont différents effets, qui sont résumés ici :

- Ils stimulent la synthèse de vitamines chez les bactéries désirables,
- Ils réduisent le nombre total de bactéries dans le système digestif,
- Ils inhibent la croissance de bactéries pathogènes ou productrice de toxines,
- Ils inhibent la production d'uréase par les bactéries,
- Ils améliorent l'efficacité énergétique du système digestif,
- Ils inhibent l'activité de la cholytaurine hydrolase (ce qui augmente l'efficacité des sels biliaires),
- Ils améliorent l'absorption des nutriments par un amincissement de la paroi intestinale,
- Ils améliorent l'activité des enzymes intestinales,
- Ils réduisent la stimulation immunitaire,
- Ils induisent un effet anti-inflammatoire dans le système digestif

Liste tirée de (169-171).

Les antimicrobiens ont historiquement été utilisés comme facteurs de croissance pour améliorer les performances zootechniques (gain moyen quotidien, efficacité alimentaire, prévention de maladie, etc.). Cependant, ils ont été surutilisés dans la deuxième moitié du 20^e siècle, ce qui a entraîné une diminution graduelle de leur efficacité (172). Cette perte d'efficacité s'explique par l'acquisition de résistance des populations ciblées. Puisque les antimicrobiens ont souvent un large spectre d'efficacité, ils entraînent une augmentation généralisée de la résistance dans le milieu où ils sont utilisés (173). Cette acquisition de résistance se fait par des mutations aléatoires du génome, par du transfert de matériel génétique mobile (plasmides, transposons et intégrons) et par transduction par des bactériophages (174, 175). Cette résistance peut avoir de sérieux impacts sur la production porcine. En effet, l'utilisation à long terme d'antimicrobiens entraîne une accumulation de résistances, un affaiblissement du système immunitaire, une plus grande susceptibilité aux infections et des perturbations métaboliques (176).

L'efficacité des antimicrobiens est de plus en plus menacée. Au Canada, la prévalence de microorganismes résistants aux antibiotiques isolés dans le milieu hospitalier (patients sains ou malades) incluant : *Staphylococcus* résistant à la méticilline, les entérocoques résistants à la vancomycine, les entérobactéries productrices de carbapénémase, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Str. pyogenes*, *S. enterica* typhique et non typhique a augmenté entre 2014 et 2018. De plus, l'incidence de microorganismes résistants aux différents antimicrobiens pendant cette période augmente ou reste stable. Il y a donc un risque réel dans un futur relativement rapproché de ne plus avoir d'antimicrobiens efficaces en santé humaine ce qui pourrait entraîner d'ici 2050 des pertes de vies considérables et une baisse du produit intérieur brut au Canada de plusieurs centaines de milliards de dollars. Ce risque a été adressé dans les productions animales par une réduction de 11 % de la consommation canadienne d'antimicrobiens entre 2014-2018. Cette baisse de consommation a entraîné une réduction de la prévalence d'isolat d'*E. coli*, *Campylobacter* et *Salmonella* résistantes aux antimicrobiens et d'une réduction de la résistance aux antimicrobiens des microorganismes isolés. Malheureusement, le constat au Québec dans les productions animales est moins positif où la mise en place et l'application de réglementation efficace pour contrer l'accroissement de la résistance aux antimicrobiens sont déficientes (177-180). La résistance aux antimicrobiens est un enjeu majeur en production porcine qui force l'industrie à s'adapter, par différentes alternatives, à la réglementation à venir dans les prochaines années.

1.2.1.2 Mesures prometteuses

Pour s'adapter aux réductions progressives des antimicrobiens, il existe des traitements ayant des effets bénéfiques sur le microbiote intestinal porcin qui sont prometteurs au niveau de la recherche. Il est possible d'améliorer la santé intestinale des animaux en favorisant la compétition entre des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exercent des effets positifs sur la santé, au-delà des effets nutritionnels traditionnels, des probiotiques et des microorganismes pathogènes ou problématiques du système digestif. L'utilisation de bactéries probiotiques permet d'améliorer les performances zoologiques des animaux, d'améliorer la santé intestinale, d'épaissir les parois épithéliales, de prévenir les contaminations par des microorganismes pathogènes, d'augmenter la diversité microbienne du système digestif et d'améliorer la qualité de la viande (181-184). Ces bactéries peuvent être introduites dans un consortium bactérien administré aux animaux, mais elles peuvent aussi être introduites par fermentation des aliments du bétail avec des microorganismes probiotiques. Les aliments pour porcs sont fermentés en ajoutant de l'eau à un

ratio de 1:1,5 à 1:4 par rapport aux aliments puis en conservant ceux-ci dans des conditions permettant le développement de microorganismes provenant des aliments (microbiote indigène) ou en les ajoutant dans le mélange (ferment/probiotique). Cela permet d'acidifier l'aliment, de développer les saveurs du mélange et d'intégrer un cocktail de bactéries bénéfiques aux aliments des animaux. Ces aliments fermentés améliorent la santé intestinale en réduisant le pH du système digestif, ce qui freine la croissance de microorganismes pathogènes (185, 186).

Il est possible de transférer un extrait de microorganismes provenant d'un donneur sain (transplantation fécale) à un donneur présentant des symptômes de maladies gastriques pour stimuler le microbiote porcin (187-189). Ces améliorations induisent une prise de poids quotidienne plus importante et une prévalence plus faible de diarrhée (187). Le transfert préventif de microbiote permet de réduire les impacts de co-infections au SRRP et aux circovirus porcins de type 2 comparativement à des porcs n'ayant pas reçu de transfert de microbiote des animaux sains (188). De plus, le transfert de microbiote peut aussi être utilisé comme agent de traitement pour réduire les impacts d'infection à *E. coli* K88 (189). Cependant, le transfert de microbiote n'a pas toujours que des effets positifs. McCormack et coll. (190) ont testé le transfert de microbiote à des porcelets ainsi qu'à leur mère pour établir si le don de microbiote de porcs ayant une haute efficacité alimentaire pouvait améliorer l'efficacité alimentaire du receveur. L'efficacité alimentaire fut réduite après le traitement, comparativement à des porcs contrôle, non traité. Ce traitement est encore au stade expérimental, mais il présente un intérêt comme technologie alternative de soutien et d'amélioration de la santé porcine sans recours aux antimicrobiens.

Les populations bactériennes sur des pièces de viande peuvent être contrôlées à la source en modifiant la diète alimentaire, soit en incorporant des extraits de plantes, des huiles essentielles, des acides organiques ou des minéraux à l'alimentation animale (191). L'addition de composés phytogéniques¹ à la diète animale permet d'améliorer l'efficacité alimentaire, la qualité de la viande et la qualité microbienne du porc ou du poulet (192-195). Les agents phytogéniques les plus populaires sont représentés par : le carvacrol, le thymol, le citral, l'eugénol et les cinnamaldehydes (195). Le remplacement de la tétracycline (40mg/Kg) comme promoteurs de croissances par un mélange d'huiles essentielles (40mg/Kg) a permis d'obtenir des résultats similaires à l'utilisation de

¹ Additifs d'origine végétale telle que des herbes, épices, huiles essentielles et autres extraits à base plantes ayant des propriétés bioactives.

l'antibiotique dans l'alimentation de porcelets (193, 196). De plus, différents mélanges de composés phénoliques peuvent avoir un effet inhibiteur plus important sur certains groupes tels que les *E. coli*, les entérobactéries et les aérobies mésophiles totaux, dû à un faible développement de résistance envers ce type de composés (197).

Il est aussi possible, pour améliorer la santé intestinale, de compléter la diète des animaux en minéraux (zinc et cuivre) ou encore en acides organiques. En effet, le zinc et le cuivre ont des effets antimicrobiens (198, 199) et ont été utilisés dans l'alimentation animale comme suppléments depuis plusieurs années (166). Ces minéraux constituent des suppléments ayant une activité antimicrobienne, mais pour lesquels l'apparition de résistance a été observée, comme pour les antibiotiques (42, 43, 200, 201). Il existe aussi des acides organiques qui peuvent être ajoutés à l'eau et aux diètes liquides permettant d'améliorer la santé gastro-intestinale des porcs et leurs performances zootechniques (202). En réduisant le pH de l'eau aux environs de 4, on rapporte des teneurs intestinales réduites en microorganismes pathogènes tels que *Salmonella spp.* (203-206) et *E. coli* (207), de même qu'une réduction des coliformes au profit des bactéries lactiques (208). Ce type d'acidification fonctionne aussi dans les aliments liquides avec un mode d'action similaire lié à la réduction du pH par fermentation. Cette technique permet le contrôle des microorganismes pathogènes comme *Salmonella spp.* (206). Ainsi, une diversité de mesures existe à la ferme pour prévenir et traiter les maladies des porcs tout en améliorant leur santé intestinale.

1.2.2 Mesures à l'abattoir

Une fois rendu à l'abattoir, il existe différentes mesures visant à contrôler la contamination de la viande porcine. Les principales mesures au Canada sont celles décrites dans le règlement sur la salubrité des aliments au Canada entré en vigueur depuis janvier 2019 (209). Ce règlement englobe les contrôles préventifs (identification des dangers biologiques, chimiques et physiques incluant les traitements et procédés, entretiens et assainissement des exploitations, plan de contrôle préventif, etc.) ainsi que la traçabilité sans oublier les exigences propres à certains aliments et autres. Ces mesures remplacent et modernisent les anciens programmes PASA et les plans de contrôle préventif de type HACCP (le système HACCP existe toujours, mais fait maintenant partie intégrante du règlement) qui étaient obligatoires en abattoir sous inspection fédérale depuis 1990 (210). Ces anciens programmes et leur nouvelle mouture ont permis de réduire considérablement les risques alimentaires en minimisant les combinaisons de ces risques avec des agents dangereux (211).

Cependant, l'utilisation des programmes de préventions et de contrôle des risques ne permet pas de contrôler tous les microorganismes et autres agents dangereux des aliments (211). D'autres méthodes à l'abattoir intégrées au plan HACCP aident ce contrôle. Par exemple, le refroidissement par haut débit d'air froid à la suite de l'éviscération assure une réfrigération rapide de la carcasse. Cela permet de réduire la perte en eau lors du refroidissement et peut aider à contrebalancer les carcasses légèrement PSE (*pale soft exsudative*) en ralentissant le taux de diminution du pH. Cependant, un refroidissement rapide entraîne des défauts principalement du *cold shortening*². Ce refroidissement rapide aide en même temps à contrôler le développement de microorganismes en quittant rapidement la zone de température de réplifications exponentielles de certaines bactéries problématiques (157, 212, 213). De plus, la contamination générale des carcasses est mieux contrôlée dans des opérations compartimentées que dans des abattoirs à aire ouverte (214). Il est aussi possible de contrôler la contamination en surface des carcasses grâce à la pulvérisation d'une solution d'acides organiques incluant l'acide lactique, acétique, peroxyacétique, etc. (concentration maximale permise au Canada : variable selon le respect des bonnes pratiques industrielles, en Ontario : respectivement 5 %, 2,5 % et 2000 ppm) en surface des carcasses (215-218). Ces solutions d'acides organiques permettent de contrôler les entérobactéries, principalement *E. coli*, *Salmonella spp.* et *Campylobacter spp.* (219-222). Ce type de traitement permet de réduire la contamination générale. Cependant, il favorise les bactéries lactiques plus résistantes aux conditions acides ce qui, selon l'acide utilisé, peut favoriser l'altération des viandes(223).

Il existe aussi des technologies prometteuses au niveau de la recherche qui pourraient être appliquées commercialement dans les prochaines années. On peut citer l'application sur les carcasses ou les viandes de bactériophages (permis au Canada depuis 2014; (224, 225), des consortiums bactériens (226-229) et des bactériocines (230, 231) pour contrôler les populations de microorganismes pathogènes sur les carcasses.

1.2.3 Mesures sur les pièces de viande et produits du détail

Pour assurer aux consommateurs des produits de qualité présentant un risque minimal tout en ayant une longue durée de vie, d'autres contrôles sont nécessaires au niveau des viandes découpées. Ces

² Lorsque la viande est refroidie trop rapidement, l'ATP résiduelle n'a pas le temps d'être métabolisée et entraîne de sévères contractions musculaires sujettes à une perte en eau sous forme d'une texture dense. Cela se produit lorsque le pH est supérieur à 6 alors que la température est de moins de 15 °C.

mesures sont variées et jouent un rôle sur l'ensemble des caractéristiques des microorganismes. En effet, il est possible de moduler les populations en surface des pièces de viande par l'emballage sous vide, avec des atmosphères modifiées (un emballage plastique imperméable aux gaz dans lequel un mélange de gaz contrôlé est injecté) et dans les dernières années, des emballages actifs (inclusion de capteur d'O₂, générateur de CO₂, agents antimicrobiens dans l'emballage, etc.) afin de prolonger la durée de vie (232, 233). La réfrigération est une méthode efficace et reconnue pour contrôler la croissance microbienne. Avec des technologies plus récentes comme le *superchilling*, qui conserve le produit juste en dessous du point de congélation, il est possible de réduire au maximum l'activité des microorganismes sans congeler le produit. Malheureusement, la réfrigération favorise les communautés microbiennes psychotrophes et psychrophiles (229). Une autre technologie, utilisée dans l'industrie, principalement dans les viandes transformées, est celle des procédés de hautes pressions hydrostatiques où une pression de 100 à 800 Mp est appliquée pour tuer les microorganismes en surface des produits (17, 109). Cette technologie peut être appliquée en combinaison à l'utilisation de sel de nitrites pour un effet synergique intéressant (234). Les microorganismes peuvent aussi être éliminés par l'utilisation de la radiation ionisante. Au Canada, l'irradiation est approuvée uniquement pour les viandes hachées, et pour plus de détail, se référer au règlement sur les aliments et drogues chapitre B.26 (135, 235). Il est aussi possible d'ajouter aux viandes transformées des agents de conservations ou additifs alimentaires ou de couvrir la surface de viandes crues d'une solution d'agents antimicrobiens tels que les produits chlorés, les acides organiques, les phosphates trisodiques, les huiles essentielles, etc. (pour la liste complète des agents antimicrobiens permis au Canada, voir le règlement sur les aliments et drogues, chapitre B.16, tableau XI; (229, 233).

De plus, des technologies prometteuses en recherche pourraient être appliquées commercialement dans un futur proche. Les microorganismes pathogènes et d'altération comme *Yersinia enterocolitica*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus spp.*, etc. peuvent être contrôlés sur les viandes par l'utilisation de plasma non thermique à pression atmosphérique (145). Il est aussi possible d'obtenir un niveau de contrôle microbien équivalant à une stérilisation ou à une pasteurisation par l'utilisation de la technologie des barrières microbiologiques multiples (*Hurdles technologies*). Lorsque des traitements et des technologies qui, individuellement, ne sont pas suffisants pour assurer la salubrité et la durée de vie d'un produit sont combinées, un effet additif, voire synergique permet d'atteindre le niveau de contrôle bactérien recherché (229, 233). Par

exemple, la combinaison d'un traitement de haute pression hydrostatique et d'un léger traitement à la chaleur permet de mieux contrôler les microorganismes dans les produits traités que lorsqu'un seul traitement est appliqué (236, 237). La combinaison de produits comme la nisine et les nitrites permet d'inhiber *Clostridium botulinum* et de réduire la croissance de *Leuconostoc mesenteroides* et de *Listeria monocytogenes* dans les viandes à 24 °C (238). Un autre exemple est la combinaison d'agents antimicrobiens et d'emballage à atmosphère contrôlée, où une combinaison d'huile essentielle de thym et un emballage à 80 % de CO₂ et 20 % de N₂ ont permis de prolonger la durée de vie de 9 jours de la viande d'agneau (239). Ainsi, il existe une diversité de processus de contrôle permettant de réduire la croissance microbienne, mais pas d'éliminer totalement les risques microbiologiques.

1.3 Méthodes d'analyses des populations microbiennes

Pour mieux comprendre le microbiome de la chaîne de valeur du porc, il faut sélectionner une technique d'analyse des populations microbiennes appropriée. La méthode sélectionnée d'évaluation de l'écosystème microbien doit être choisie en fonction de la question investiguée. Les populations microbiennes peuvent être caractérisées à l'aide de différentes techniques ayant une sensibilité, une précision d'analyse et un coût variable.

1.3.1 Analyses chimiques

Une méthode simple pour détecter la présence de microorganismes est la détection chimique de l'adénosine triphosphate (ATP) par bioluminescence. Cette méthode rapide détecte une réaction lumineuse entre le complexe Luciférine + Luciférase et l'ATP. Comme l'ATP est présente dans l'ensemble des cellules vivantes, la lecture de cette réaction peut être corrélée à la concentration en microorganismes et en matières organiques présents à l'endroit échantillonné (240). Cette méthode est utilisée dans les abattoirs pour estimer rapidement l'efficacité du nettoyage et de la désinfection des surfaces et des équipements (241). Cependant, cette méthode n'est pas quantitative, la quantité d'ATP varie grandement entre les bactéries, les levures et les cellules somatiques. De plus, la méthode n'est pas spécifique aux microorganismes et peut détecter l'ATP provenant des cellules animales et végétales (240). C'est pourquoi ce procédé est utilisé plutôt pour mesurer l'efficacité du nettoyage et de l'assainissement que la présence de microorganismes.

1.3.2 Analyses microbiologiques classiques

La méthode classique de culture sur milieu nutritif gélifié est la plus répandue. Cette technique permet de reproduire sur une gélose nutritive un environnement favorable à la croissance des microorganismes que l'on cherche à dénombrer ou identifier. Cette technique permet de cibler des populations microbiennes d'intérêt comme les entérobactéries ou les aérobies mésophiles à l'aide de milieux non spécifiques ou des microorganismes précis comme *E. coli* ou *Listeria spp.* à l'aide de milieux sélectifs. Cette technique est utilisée en abattoir pour déterminer les variations de ces populations (17). De plus, c'est la méthode officielle d'évaluation de la contamination des usines alimentaires. Cette technique peut aussi servir de base pour sélectionner des microorganismes avec des milieux spécifiques et sélectifs. Ces bactéries isolées sont par la suite analysées selon des critères génétiques. Par exemple, Botteldoorn et coll. (242) ont prélevé des échantillons provenant de carcasses de porcs à différentes étapes sur la ligne d'abattage. Lesdits échantillons ont été cultivés sur géloses sélectives pour en isoler les salmonelles. Une fois enrichis, les sérotypes ont été déterminés à l'aide d'un test de type ÉLISA. Il est aussi possible de compléter la culture par gélose par une identification biochimique à l'aide des galeries API (bioMérieux, France) afin d'identifier certaines colonies d'intérêt et cela, jusqu'à l'espèce (165, 243).

La culture sur gélose est simple tout en étant relativement peu coûteuse. Par contre, elle comporte des désavantages importants qui expliquent son remplacement progressif par les techniques moléculaires, notamment en recherche. La première problématique est celle du temps associé à cette méthode. Il faut de 24 à 48 h pour que la croissance microbienne soit suffisante pour être visible sous forme de colonie, et cela jusqu'à 7 jours, dans le cas de microorganismes plus fastidieux. Le défaut principal de la croissance sur gélose est qu'elle ne permet pas d'étudier les bactéries viables, mais non cultivables, lesquelles sont les composantes majoritaires des échantillons environnementaux (18). Ces microorganismes ne sont pas cultivables, car elles sont inactives/mortes ou les conditions dans lesquelles elles se retrouvent sont difficiles à reproduire dans un environnement du laboratoire (18, 244, 245).

1.3.3 Analyse métagénomique par séquençage d'amplicons du gène 16S

Pour identifier les populations non cultivables, l'utilisation d'ADN génomique, particulièrement de séquences codant pour l'ARN ribosomique (5S, 16S, 23S), débuta dans les années 80. Avec ces marqueurs génétiques, il fut possible d'identifier des microorganismes sans les cultiver, et cela, grâce

aux premiers assemblages de génomes (18). L'un des marqueurs génétiques qui se démarquèrent est le gène 16S. Le séquençage du marqueur 16S, unique aux bactéries et archéobactéries, est une méthode couramment utilisée pour étudier leurs populations (246, 247). En effet, le ribosome endoplasmique possède deux sous-unités composées de coefficients de sédimentation, d'ARN ribosomique et de protéines. Le gène 16S code pour la partie d'ARNr de la plus petite des deux sous-unités. Ce gène, d'environ 1500 pb, est généralement unique pour chaque bactérie³ (248). Il est composé de neuf sections hypervariables qui peuvent être ciblées pour identifier les microorganismes. Ces régions sont intercalées par des sections conservées ayant une faible variation entre les espèces. Ces portions stables du gène 16S peuvent être ciblées par des amorces universelles permettant d'amplifier les sections hypervariables entre les sections conservées (247, 249). Selon le ou les microorganismes attendus, il est essentiel de sélectionner les régions apportant le plus d'information (250). Une fois amplifiées, ces sections peuvent être séquencées à haut débit avec précision. Ces séquences sont ensuite regroupées en OTU (*operational taxonomic units*) c'est-à-dire des unités taxonomiques opérationnelles ayant une similarité génétique de 97 % pour une identification jusqu'au genre. Les OTU sont ensuite identifiées à l'aide de banque de données comme Greengenes, NCBI, myRDP ou Silva (Fig. 3; (250-253)).

Ce séquençage permet l'analyse de la composition (taxonomique), et de la structure (proportions) des communautés microbiennes (25, 152, 247, 252, 254, 255). Il est aussi possible d'inférer des fonctions aux différents microorganismes identifiés à l'aide du gène 16S. En prédisant à partir de génomes de références entiers les profils de fonctions les plus susceptibles de s'exprimer dans les populations identifiés à l'aide d'algorithmes comme PICRUSt (256), Tax4fun (257) et Piphillin (258), il est possible d'identifier certains gènes ou voies métaboliques potentiellement présents dans les populations bactériennes.

Le séquençage 16S permet l'analyse de populations bactériennes non cultivable à faible coût, environ 20 \$ US par échantillon, dépendamment des paramètres de séquençage, ce qui lui confère un avantage certain (259). Cependant, il y a des limitations importantes associées à cette technique. L'identification génétique à l'aide du gène 16S à des niveaux très précis est difficile. L'identification jusqu'au niveau de l'espèce, et même pour certaines bactéries au niveau du genre, requiert une

³ Certaines espèces, voire même certains genres, ont des gènes 16S identique. Dans les cas où une différenciation de ces espèces est nécessaire, d'autres marqueurs complémentaires doivent être séquencés pour les distinguer.

similarité génétique importante entre la base de données et la séquence échantillonnée. Puisque les bactéries au niveau de l'espèce peuvent avoir une séquence 16S identique même s'ils sont deux espèces différentes, seulement quelques séquences pourront être identifiées avec un niveau acceptable de certitude. Le séquençage d'une bactérie définie par le gène 16S ne donne pas d'indication réelle quant à la variabilité génétique, la présence d'INDEL (*insertion délétion*) et de SNP (*Single-nucleotide polymorphism*) dans le code génétique du microorganisme identifié (245). Un cas type de ces manquements est celui d'*E. coli* O157:H7 et MG1655 qui donnait la même identification par méthode 16S, alors que les souches ont une différence du tiers de leur génome (260). De plus, l'inférence de fonction à des séquences 16S est critiquée puisqu'elle ne prend pas en compte la plasticité des génomes, la variabilité génétique, la capacité des microorganismes à exprimer certains gènes en fonction de leur environnement et la recombinaison des gènes 16S d'une même bactérie (261, 262). Il existe un biais, car les génomes bactériens séquencés dans les bases de données sont ceux qui comportent un intérêt (médical ou autre) pour l'humain ce qui ajoute un degré supplémentaire d'éloignement quant aux fonctions chez le porc ou dans d'autres systèmes (253).

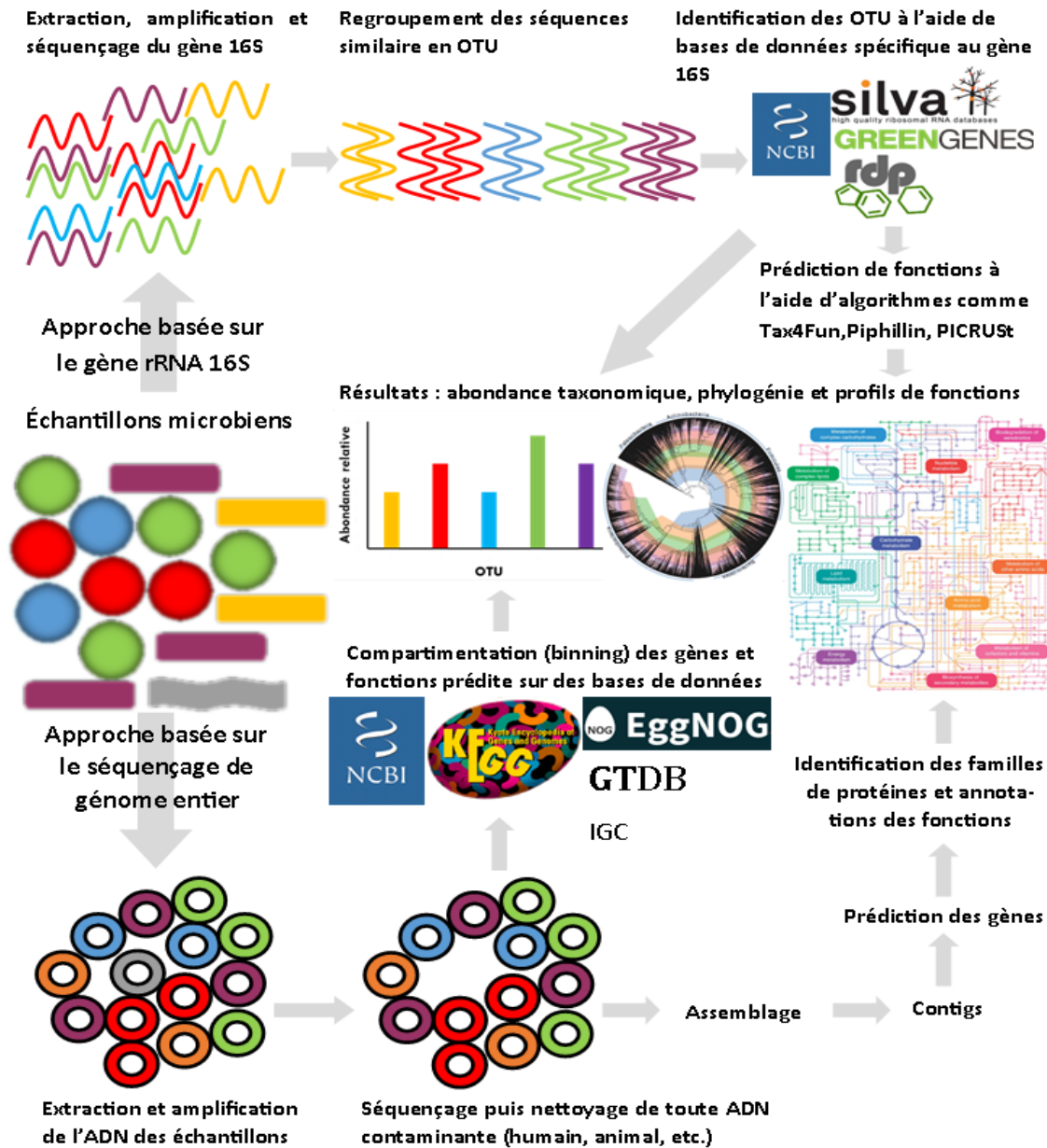


FIG 3 Résumé du processus d'analyse métagénomique des communautés microbiologiques par la méthode 16S et par l'analyse du génome entier de type *shotgun*.

1.3.4 Analyse métagénomique par séquençage de génome entier

L'utilisation, depuis la fin des années 2000, de séquenceurs de nouvelle génération permet de réaliser relativement facilement des analyses métagénomiques à partir de séquençage de génome entier (analyse de type *shotgun*). L'analyse métagénomique de type *shotgun* est une méthode d'analyse des populations microbiennes en se basant sur l'ensemble du génome des différents membres des communautés microbiennes présents dans les échantillons (247). L'entièrete de l'ADN

présent dans l'échantillon est séquencée. Le génome est séquencé en lectures (en anglais; *reads*), de quelques dizaines à quelques centaines de paires de base (pb), selon les appareils. Ces séquences sont ensuite assemblées en fragments appelés *contigs* qui sont ensuite organisés en *scaffolds*, puis en chromosomes/génomes entiers. Ces longues séquences de nucléotides sont ensuite alignées et annotées à des séquences de références avec des bases de données comme NCBI, EMBL, KEGG, GTDB ou ICG (Fig. 4; (251, 253). Lorsque les microorganismes n'existent pas dans les bases de données publiques, un assemblage *de novo* à l'aide d'algorithme peut être réalisé. Ces génomes sont ensuite comparés avec ceux déjà existants pour pouvoir leur assigner une classification la plus juste possible. Si le microorganisme s'avère être inconnu, une nouvelle espèce peut être créée (247).

La limitation de cette technique est qu'elle requiert un nombre beaucoup plus important de lectures comparativement à l'analyse 16S. Les données à identifier sont parfois massives. Les génomes bactériens sont substantiellement plus longs, 4,1 Mpb pour *E. coli* O157:H7 (260), de 4 à 5 Mpb pour *Salmonella* dépendant du sérovar séquencé (263-266), 3.05 Mpb pour *S. aureus* résistant à la méticilline (267), etc. que le gène 16S, de 1500 pb. Donc, l'entièreté du gène 16S est séquencée un nombre beaucoup plus important de fois que pour les génomes entiers pour une même quantité de lectures. Il faut ainsi beaucoup plus de lectures pour obtenir une profondeur⁴ permettant de compenser la quantité importante d'ADN à séquencer, ce qui entraîne des coûts substantiels (268). S'ajoute à cette limitation, la nature du séquençage de génome entier. L'entièreté de l'ADN présent dans l'échantillon est séquencée. Il peut donc se retrouver de l'ADN animal, végétal, viral, fongique, etc. dans la quantité totale de lectures séquencée. Ces lectures peuvent être utiles ou contaminantes selon les informations recherchées. Ces lectures peuvent être utiles dans les études de coévolution entre phage et bactéries (269, 270), dans des analyses comparatives entre le génome de l'hôte et des bactéries le composant (271-273), etc. Dans d'autres cas, cet ADN est considéré comme contaminant et doit être filtré ce qui réduit la profondeur du séquençage ainsi que le nombre de répétitions des génomes d'intérêt. Lorsque ce matériel génétique est considéré comme problématique, il peut être mitigé lors de l'extraction de l'ADN avec certaines techniques

⁴ Nombre de fois où chaque section du génome est séquencée; environ 50-100 fois pour permettre l'assemblage avec les algorithmes actuels

d'enrichissement de cellules et d'ADN avant l'extraction. Certaines méthodes peuvent être utilisées selon la question de recherche, les plus communes sont résumées ici :

- Filtrer les cellules de tailles importantes (cellules eucaryotes),
- Réduire l'ADN de l'hôte par élimination chimique afin de maximiser l'ADN d'intérêt,
- Séquencer des cellules individuelles,
- Séparer les cellules par cytométrie de flux pour conserver seulement les cellules d'intérêt,
- Enrichissement *in situ* (reproduction d'environnement en laboratoire; par exemple, reproduire un environnement marin en aquarium, reproduire un désert dans un vivarium, etc.),
- Culture ou microculture (pour l'étude de microorganismes cultivables),
- Séparation immunomagnétique (séparation à l'aide d'anticorps spécifiques des microorganismes d'intérêts),
- Utilisation de propidium monoazide (PMA) pour distinguer les cellules vivantes des cellules mortes ou inactives,
- Technologies de capture de séquences d'intérêt à l'aide de jeu ordonné d'échantillons (en anglais *array*) et de sonde (en anglais *probe*) spécifique.

Liste tirée de (274-278).

Les génomes séquencés peuvent ensuite être utilisés pour faire l'analyse du profil des fonctions de la population microbienne collectée, de l'abondance de gènes d'intérêt comme ceux de virulence ou de résistance aux antibiotiques, de biomarqueur, de variation génétique (SNP et INDEL), d'analyse de type *clustering* (basé sur la phylogénie ou sur une proximité génétique) et, d'abondance relative des populations (247, 254, 279-281). Ce type d'analyse est plus puissant, car il permet d'obtenir beaucoup plus d'information des échantillons collectés que par l'analyse du gène 16S. Cependant, ces analyses sont plus coûteuses (un échantillon de 70 M de lectures coutent environ 250 \$ US) et plus complexes à analyser (247, 259).

D'autres techniques tels que le génotypage par PCR couplé à une électrophorèse sur gel en gradient dénaturant ou l'analyse de gènes par microarray ne sont pas abordés ici. Ces techniques sont généralement utilisées pour l'analyse de microorganismes ou de gènes précis et non pas pour l'analyse de populations microbiennes complexe et variée ce qui est le sujet de cette mémoire.

1.4 États des connaissances génomiques de la chaîne de valeur porcine

Les technologies de séquençage 16S et de métagénomique sont utilisées dans les projets microbiologie moderne. Comme ces technologies donnent une appréciation plus précise de la population microbienne totale des échantillons environnementaux (245), elles ont été, dans les dernières années, appliquées à l'écosystème porcin.

1.4.1 Microbiote de l'environnement à la ferme

1.5.1.1 Microbiote de l'air

L'air est une source de microorganismes à la ferme. Les microorganismes cultivables de l'air des fermes canadiennes sont estimés à 5 Log d'UFC/m³ alors que la totalité des microorganismes de l'air est estimée à 8,5 log de bactérie/m³ (19, 64, 67). Ce qui est similaire aux fermes européennes (282, 283). Les principales classes de bactéries composant l'air sont *Bacteroidetes* (4.6 %), *Lactobacillales* (1.5 %) et *Clostridia* (93.8 %), dans les bâtiments d'élevages de porcs québécois. (19). Ces bactéries sont commensales et n'ont pas d'impact négatif sur la santé des animaux, à l'exception de certaines espèces de *Clostridium* (voir Tableau 1 pour la liste complète). Alors que les principaux archaea présents sont des clones dont l'archaea connu le plus proche est *Methanospaera stadtmannae* (94.5 %), *Methanosarcina siciliae* (2,6 %) et un archaea non identifié similaire à différents archaea originaires de fèces de porcs (2,8 %) dans les bâtiments d'élevages de porcs québécois (284). De plus, les microorganismes pathogènes comme *St. aureus*, *St. aureus* résistant à la méthicilline (MRSA), *Salmonella spp.*, *C. difficile*, *M. avium*, *Str. suis*, *L. monocytogenes* et le circovirus porcin type 2 sont fréquemment présents dans les bioaérosols de fermes porcines au Québec (64, 65, 67). Les fermes québécoises hébergent aussi, dans leurs aérosols, des gènes de résistances aux antimicrobiens dans leurs aérosols. Pilote et coll. (65) ont étudié la fréquence et la concentration des gènes de résistances au zinc/cadmium (*czrC*), à la céphalosporine (*bla_{CTX-M-1}*) et à la colistine⁵ (polymyxine E; *mcr-1*). Le *czrC* est présent dans 100 % des fermes étudiées à une concentration de $1.73 \times 10^2 - 1.78 \times 10^5$ copies/m³, le *bla_{CTX-M-1}* est présent dans 60 % des fermes à une concentration de $< 8 - 9.89 \times 10^2$ copies/m³ et le *mcr-1* est présent dans 60 % des fermes à une concentration de $< 8 - 9.87 \times 10^2$ copies/m³.

⁵ La Colistine est un antibiotique de derniers recours pour traiter les infections bactériennes multirésistantes

Les microorganismes de l'air des fermes porcines varient largement selon la région du globe. En Corée du sud, les microorganismes viables trouvés dans l'air de bâtiments d'élevage sont beaucoup plus variables. Les bactéries les plus communes identifiées sont : *St. aureus*, *St. cohnii urealyticus*, *Str. intermedius*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Prototheca zofii*, *Trichosporon mucoides* (243). En Allemagne, ces microorganismes ressemblent davantage au microbiote québécois avec *Clostridium sensu stricto*, largement dominant comparativement aux autres microorganismes qui sont composés principalement de : *Lactobacillus*, *Terrisporobacter*, *Turicibacter*, *Romboutsia*, *Methanobrevibacter*, *Aerococcus*, et *Weissella* (283). En Chine, la situation est aussi différente. Chez les bactéries, *Lactobacillus* (8.7 %) est le genre le plus abondant suivi de *Blautia* (5.1 %), *Clostridium_sensu_stricto_1* (4.3 %), *Eubacterium_rectale_group* (3.3 %) et, *Subdoligranulum* (3.1 %; (285). Les microorganismes identifiés dans les fermes porcines du globe présentent un risque de se transporter de ferme en ferme dans les régions à haute densité. Les particules peuvent rapidement se répandre dans un rayon de 500 m (286) et atteindre jusqu'à 9,1 km dans des conditions d'humidité et de favorables vents, particulièrement, dans le cas de microorganismes aisément transmissibles par voies aériennes, comme le virus SRRP et la bactérie *Mycoplasma hyopneumoniae* (68).

1.4.1.2 Microbiote de la moulée

La moulée constitue une autre source de microorganismes à la ferme. Les aliments pour de bétails et leurs composantes ont une teneur significative en microorganismes. Deux études réalisées sur des céréales destinées à l'alimentation animale en Grèce ont déterminé que celles-ci ont une teneur variable en microorganismes. Le soya, le blé, le maïs et l'orge ont les plus hautes teneurs en microorganismes (environ 5 log d'UFC/g) où le soya est le seul porteur d'entérobactéries (environ 2 log d'UFC/g; (49, 56). La moulée et les céréales sont aussi contaminées par des champignons et des moisissures. Le maïs (4,85 log d'UFC/g), l'orge (3,96 log d'UFC/g), le blé (4,17 log d'UFC/g) et le tourteau de coton (3,19 log d'UFC/g) forment un aliment composite ayant une teneur de 3,43 log d'UFC/g (56). De plus, le format influence la concentration en microorganismes de la moulée préparée. Les moulées cubées sont moins contaminées que celles en farine, en raison du traitement thermique nécessaire lors du cubage. La concentration en bactéries lactiques des moulées en farine et cubées est respectivement de 3,30 et 2,29 log d'UFC/g, en entérobactéries de 5,24 et 3,26 log d'UFC/g, en levures de 3,92 et 3,12 log d'UFC/g et en moisissures de 3,75 et 3,00 log d'UFC/g (287). Des variations similaires ont aussi été observées par Paramithiotis et coll.

(49) qui rapporte une différence d'environ 2 log d'UFC/g entre la moulée cubée et celles en farine. Cette diminution est causée directement par le mode de fabrication des moulées cubées. La production de ces dernières fait appel à l'usage de la cuisson, permettant ainsi la réduction du niveau des microorganismes en présence. Inversement, la transformation de moulées sous forme de farines fait appel, généralement, à l'écrasement sous différentes presses jusqu'à l'obtention d'une granulométrie suffisamment fine (49, 288). Cette différence dans la contamination des échantillons a aussi été mise en évidence par Mikkelsen et coll. (52, 289). Ces auteurs notent une baisse, au niveau intestinal, en *Salmonella* des animaux lorsque la moulée est sous forme de farine nonobstant la contamination plus importante en microorganismes. La moulée en farine induit une teneur en acides gras volatiles plus élevés dans le système digestif des animaux que la farine cubée. Dépendamment de l'acide gras volatile, cette teneur double, voire plus, dans l'estomac et le cæcum des animaux (52, 289). Ces acides gras volatiles améliorent les profils hématologiques, réduisent les ulcérations, les taux de diarrhées et ont un effet positif sur la prévalence intestinale de pathogène tels que *Salmonella* et *E. coli*, mais inversement ils entraînent une diminution de l'efficacité alimentaire (289-293).

Il est important de noter que la moulée peut aussi être un vecteur de microorganismes pathogènes pour les porcs incluant : *Brachyspira hyodysenteriae*, *Brucella suis*, le virus de la peste porcine classique (*classical swine fever*), *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *E. coli*, le virus pied mains bouche (*foot and mouth disease*), le circovirus porcin de type 2, le virus de la diarrhée épidémique porcine (DEP), le virus du syndrome respiratoire reproducteur porcin (SRRP), *Salmonella* et le virus de la maladie vésiculeuse du porc (46, 294). De plus, les virus peuvent demeurer infectieux, de 7 à plus de 180 jours, selon les conditions d'humidité et de température, dans la moulée pour porcs à base de plantes (51). Par exemple, les aliments pour le porc ont été ciblés comme étant la cause majeure d'introduction du virus de la diarrhée épidémique porcine (DEP) lors de l'éclosion de 2014 en Ontario, infectant les animaux dans des conditions d'alimentation normales. Ces aliments étaient aussi porteurs du virus du syndrome respiratoire reproducteur porcin (SRRP), de circovirus porcin et de virus gastro-intestinal non spécifiés (53).

Comme les aliments sont des vecteurs de microorganismes, ils peuvent être à l'origine de transmission inter ferme. Il est possible que ceux-ci soient produits adéquatement, mais se recontaminent lors du transport, des manipulations et dans le système de distribution à la ferme

(contamination croisée). Ce qui joue un rôle important dans la dissémination et la prévalence de *Salmonella spp.* dans les élevages porcins (54). Les aliments pour le porc sont porteurs de *Salmonella spp.* dans 3,6 % des échantillons collectés sur des fermes porcines américaines, traduisant ainsi la détection de cet agent microbien dans les particules environnementales ainsi que dans les matières fécales des animaux des fermes utilisant des aliments contaminés (295). De plus, la fabrication domestique d'aliments pour les porcs induit un risque additionnel, car les céréales utilisées pour produire ces aliments peuvent aussi être porteurs de *Salmonella spp.* Il faut souligner que les animaux sauvages (rongeurs, petits animaux, etc.) peuvent contaminer la matière première et introduire des contaminants dans les zones de production d'aliments qui peuvent ensuite induire une contamination récurrente de salmonelles. Au Royaume-Uni, une présence de *S. enterica serovar Typhimurium* 5,4 %, dans les fermes d'engraissement et 12,9 %, dans celles fermes de reproduction du Royaume-Uni fabricant leurs propres aliments pour animaux, a été rapportée (55).

1.4.2 Microbiote porcin

1.4.2.1 Système digestif

Le système digestif du porc est colonisé par un microbiote bactérien dominant (core microbiote; c'est-à-dire les microorganismes présents dans ≥ 90 % des échantillons étudiés) qui est composé en majorité des phyla *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* et *Firmicutes* et des genres *Clostridium*, *Blautia*, *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Ruminococcus*, *Roseburia*, RC9 « gut group » et *Subdoligranulum* (Figure 4 ;25, 296, 297). Seuls quelques microorganismes retrouvés dans le système digestif sont problématiques (voir Tableau 1). La majorité de ces microorganismes sont commensaux ou ont même des effets bénéfiques sur la santé et les performances des animaux. En effet, certains genres tels que *Blautia* (296, 298, 299), *Lactobacillus* (299-303), *Roseburia* (297, 299) et *Ruminococcus* (296, 299) ont des effets probiotiques ou leur présence dans le microbiote des porcs semblent être liés à de meilleures performances (prise de poids plus efficace, animal plus lourd et moins gras, etc.).

Cette population microbienne est caractéristique de sa localisation dans le tractus digestif. La majorité des bactéries, au début du système digestif, sont des *Lactobacillus* puis dans la section du jéjunum et de l'iléon, des *Clostridium*s, *Lactobacillus* et *Streptococcus*. Ensuite, les *Prevotella* prennent leur place dans le cæcum et le colon pour se retrouver dans les matières fécales (Fig.4). Également, les parties du système ayant une teneur relative plus élevée en microorganismes sont les différentes muqueuses gastriques iléales et du colon. Les facteurs affectant le plus la composition

du microbiote sont la position dans le système digestif et le facteur « étude ». Les variations dans la composition du microbiote dans les différentes études publiées peuvent s'expliquer, entre autres, par les différentes sections du gène 16S séquencées, les plateformes d'analyses utilisées, les différentes conditions d'élevage (localisation physique, leurs rations, la génétique animale, l'âge des animaux, etc.) et les designs expérimentaux. Ces conditions, difficilement reproductibles, rendent les comparaisons entre les différentes études difficiles. Cependant, elles permettent tout de même une comparaison des bactéries composant le microbiote dominant (25-32, 90, 273, 304-306). De plus, un catalogue des gènes présents dans le microbiote porcin a été réalisé pour ouvrir la porte à des analyses métagénomiques plus puissantes en offrant une référence plus précise des gènes présents dans celui-ci. Cette analyse a permis d'identifier 7,685,872 gènes dont 6,695,170 sont uniques au porc, 970,178 sont partagés avec l'humain, 4,968 avec la souris et 15,556 entre l'humain, la souris et le porc (307).

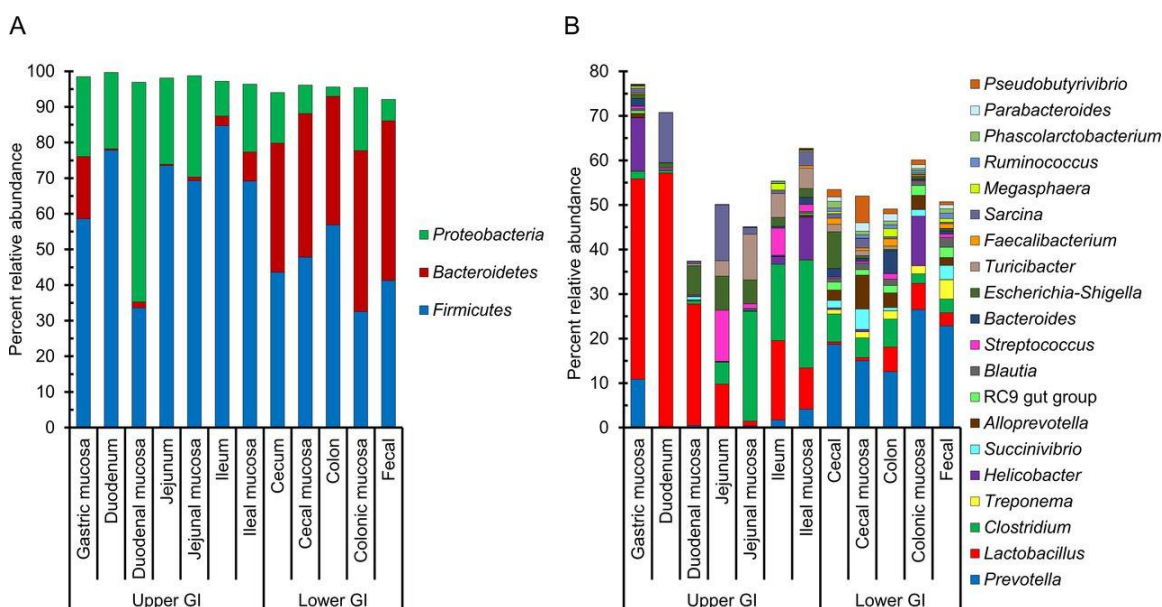


FIG 4 Abondance relative des trois plus importants phyla (A) et des 20 plus abondants genres (B) à différents segments dans le tractus gastro-intestinal du porc (25).

Le microbiote porcin est aussi composé d'ADN viral et contient au moins 32 familles différentes de virus dont la majorité est composée de *Picornaviridae*, *Astroviridae*, *Paroviridae*, *Coronaviridae*, *Circoviridae* et *Calciviridae* (308). Ceux-ci sont présents dans les porcs d'élevage de tout type, qu'ils soient malades, sains, jeunes ou vieux. Ils représentent le cœur du virome porcin (140, 308-311). En ciblant particulièrement les virus à ARN de porcs américains, cette section du virome contient (en

ordre de prévalence) : *Mamastrovirus*, *Enterovirus*, *Sapelovirus*, *Posavirus*, *Alphacoronavirus* (virus de la DEP), *Kobuvirus*, *Sapovirus*, *Teschovirus*, *Pasivirus* et *Deltacoronavirus* qui font tous partie des familles *Picornaviridae*, *Coronaviridae*, *Astroviridae*, *Caliciviridae* (312). Ainsi, le microbiote dominant est similaire pour différents porcs, mais il varie selon divers facteurs.

La région du globe et les rations utilisées dans ces régions sont un de ces facteurs. Par exemple, *Xylanibacter*⁶, *Lachnospiraceae incertae sedis* et *Prevotella* sont présent, en majorité, dans le microbiote fécal de porcs coréens. Ces microorganismes sont identifiés dans les porcs de Corée, mais pas dans la majorité des articles sur le microbiote porcin (25, 28). Les porcs vietnamiens sont porteurs d'un microbiote fécal composé principalement de *Clostridium* sensu stricto, de *Clostridium* XI ainsi que de *Turibacter*. Ces bactéries sont aussi présentes, à de plus faibles concentrations, dans le microbiote porcin dominant (25, 33). De plus, les microbiotes du système digestif de porcs d'Irlande, d'Angleterre et d'Autriche ont été comparés. Ces animaux ont été nourris avec les mêmes diètes, ils avaient la même génétique et toutes les femelles ont été inséminées avec le sperme d'un même animal. Ils présentent tous une différence significative, principalement dans leur microbiote à faible teneur relative. Cela indique que la localisation géographique affecte la teneur et le type de microorganismes constituant le microbiote (305). Inversement, le microbiote fécal de porcs sauvages, de Duroc et de Red River hog en liberté ou en captivité ont été comparés par Ushida et coll. (314). Dans leurs résultats, les porcs de cette étude ont un microbiote dominé par des *Clostridium*s. Cependant, les porcs en captivité sont porteurs de teneur importante de lactobacilles et d'*Escherichia* alors que les porcs en liberté présentent des niveaux variés et importants en eubactéries et en *Ruminococcus*. Les auteurs ont attribué cette différence à la nature de l'alimentation en céréale et des modes d'élevage des porcs qui ont favorisé les lactobacilles et les *Escherichia* (314). La même tendance est observée pour le virome porcin. Les porcs sauvages américains présentent peu de virus à ARN, seulement quatre, à savoir : *Sapelovirus*, *Kobuvirus*, *Pestivirus* et Murine/Canine Pneumonia virus, mais ils sont porteurs de 16 virus à ADN, principalement des *Circoviridae*, *Anelloviridae* et quelques *Parvoviridae*. Ce qui diffère beaucoup des

⁶ Un microorganisme originaire des résidus de plants de riz. Il est présent dans le microbiote lorsque les rations animales en contiennent (313). Ueki A, Akasaka H, Suzuki D, Hattori S, Ueki K. 2006. *Xylanibacter oryzae* gen. nov., sp. nov., a novel strictly anaerobic, Gram-negative, xylanolytic bacterium isolated from rice-plant residue in flooded rice-field soil in Japan. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 56:2215-2221..

viromes de porcs d'élevage dont la diversité des virus à ARN est beaucoup plus importante que celle des virus à ADN (315).

Un autre des facteurs influençant la composition du microbiote du système digestif porcin est l'efficacité alimentaire. Par exemple, les porcs classés selon leur RFI⁷ (*residual feed intake*) ont un microbiote gastro-intestinal différent. Les porcs avec un RFI élevé ont un microbiote ayant une teneur plus élevée en *Bactéroïdes* et *Clostridium* ainsi qu'une teneur plus faible en *Rhodococcus* et *Erysipelotrichaceae* que les porcs avec un RFI faible (316). Les phyla influencés par l'efficacité alimentaire sont les *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, SHA.109, *Deferribacteres*, *Lentisphaerae*, *Euryarchaeota*, candidate division TM7 et *Planctomycetes* (316). Sauf pour les *Firmicutes* et *Verrucomicrobia*, une abondance relative plus importante de ces phyla est associée significativement à un RFI plus faible (305). De plus, l'efficacité alimentaire affecte la diversité des microorganismes dans l'ensemble du système digestif. Les indices de diversité alpha⁸ de population microbienne sont plus élevés dans l'iléon, le cæcum et le colon des porcs ayant un meilleur taux de conversion alimentaire (30, 305). Ceci s'explique, notamment, par l'abondance de certaines voies métaboliques plus importante chez les porcs à haute efficacité alimentaire que pour les porcs à efficacité (30, 317). La faiblesse de l'identification de ces voies métaboliques est qu'elle est basée sur l'utilisation de l'algorithme PICRUSt. Ce genre d'analyses a donc été repris par Quan et coll. (318) à l'aide de séquençage de génome entier. Ces derniers ont pu identifier un ensemble de gènes associés à des fonctions significativement différentes selon le niveau d'efficacité alimentaire. Il est aussi possible d'induire une meilleure efficacité alimentaire en supplémentant l'alimentation des porcelets avec un extrait de microbiote de porc adulte ayant une haute efficacité alimentaire, ce qui permet de changer significativement le microbiote porcin sur toute la vie du porc (190).

Les aliments peuvent être dans certains cas supplémentés avec des antibiotiques pouvant influencer significativement le microbiote (176, 319, 320). Ils affectent différemment le microbiote porcin selon leur mode d'action (176). En effet, dans les études de Looft et coll. (270, 319), lorsqu'un mélange de chlortetracycline, sulfamethazine et pénicilline (ASP250) est utilisé, celui-ci constitue le second

⁷ Le RFI est un indice d'efficacité alimentaire, basé sur la courbe de croissance prévue de l'animal. Pour un âge et un poids précis, un cochon devrait consommer un poids théorique modèle de nourriture. S'il en consomme moins, son efficacité alimentaire est négative, mais s'il en consomme plus, son efficacité alimentaire est positive. Plus le RFI est négatif, plus l'animal est efficace.

⁸ Mesure de la diversité des espèces dans un échantillon ou un milieu donné. Différentes méthodes de calcul existent. Plus les valeurs de diversité alpha sont élevées et plus la population microbienne dans l'échantillon est diversifiée.

facteur influençant la composition du microbiote, après la localisation dans le système digestif. L'utilisation d'ASP250 réduit la prévalence en *Streptococcus*, *Treponema*, *Turicibacter*, *Helicobacter* et *Parasporobacterium*, mais augmente la prévalence en *Escherichia*, *Anaeroplasma*, *Salsuginibacillus*, *Lachnobacterium* et *Paraprevotella*. Les antibiotiques abaissent aussi la diversité bactérienne en réduisant la présence des bactéries de faible prévalence. Également, ils affectent les profils de fonctions par l'augmentation de la présence d'*Escherichia* dans les porcs médicamenteux, en abaissant la fréquence relative de la fonction responsable de la protéine associée à la sporulation, en augmentant la fonction des acides aminés aromatiques, etc. (270, 319). Le carbadoxe, un antibiotique, maintenant interdit au Canada, affecte le microbiote de façon similaire, son utilisation favorise les *Bacteroidetes* ainsi que les *Spirochaetae* au détriment de la diversité bactérienne en réduisant la présence des espèces à faible prévalence (321). De plus, l'utilisation d'antibiotiques dans l'alimentation animale influence positivement la proportion de prophages présents dans les fèces de porcs (321). Malheureusement, les phages dans les porcs alimentés en antibiotiques présentent une teneur significativement plus importante en gènes de résistances aux antibiotiques variés (270, 321, 322). Ces concentrations plus élevées de gènes de résistance sont problématiques, car des transferts horizontaux de gènes de résistances aux antibiotiques entre les phages et leurs bactéries associées ont été documentés in vivo (323, 324).

Le microbiote de porcs adultes est aussi dépendant des populations colonisant le tractus intestinal des porcelets. Celles-ci changent énormément lors du sevrage. Le microbiote du porcelet en allaitement est plus diversifié et composé principalement des phyla *Bacteroidetes* (44.14 %), *Firmicutes* (41.01 %) et *Spirochaetes* (9.87 %). Suite au sevrage, cette diversité diminue et les *Bacteroidetes* (63.14 %) et *Firmicutes* (34.27 %) prennent le dessus dans les fèces (280). Ces changements sont principalement associés au développement des capacités des porcelets à digérer des aliments végétaux solides plutôt que du lait (280, 325). Ce qui a aussi été rapporté par Chen et coll. (304) qui a observé une disparition du phylum *Fusobacteria* et une diminution significative des phyla *Proteobacteria* au profit des *Bacteroidetes* et des *Firmicutes* lors du passage du lait maternel aux aliments solides. Ce changement des communautés bactériennes affecte toutes les différentes sections du système digestif qui le subissent toutes à des degrés différents. Le changement de microbiote, principalement du passage des genres *Bacteroides* aux *Prevotella* et une stabilisation des *Lactobacillus*, a été observé entre 7 et 27 jours suivant le sevrage dans le colon, le jéjunum proximal et distal pour la muqueuse et le digesta, et continue tout au long de la croissance de l'animal

(31). Les porcelets ont une grande diversité microbienne dans leur système digestif ce qu'ils perdent successivement avec l'âge. Les phyla *Bactéroidetes* et les *Firmicutes* restent présents tout au long de la vie de l'animal. Ils prennent de plus en plus de place dans le microbiote porcin à mesure que les porcs sont alimentés en céréales et restent dans un environnement stable (28). L'âge semble aussi affecter le virome porcin. Dans une étude, des porcelets de 12 jours d'âge ont un virome composé principalement de *Picornaviridae*, *Siphoviridae* et *Microviridae* puis, les *Picornaviridae* disparaissent et sont remplacés par les *Microviridae*, *Siphoviridae* et *Parvoviridae* à 54 jours soit 26 jours après le sevrage qui est réalisé à 28 jours d'âge. Le virome est par ailleurs beaucoup plus stable chez la truie adulte. Dans un laps de temps de 42 jours, soit entre 28 jours précédant la mise bas et 12 jours après la naissance des porcelets, le virome varie très peu. Il est composé principalement de *Siphoviridae*, *Microviridae*, de PigSCV, *Podoviridae*, *Myoviridae* et *circoviridae* (311).

La génétique est un autre facteur affectant le microbiote porcin (26, 325, 326). Des porcs de race Landrace et Jinhua ont été comparés par Xiao et coll. (26). Ceux-ci recevaient la même diète, dans un environnement et condition contrôlée. Les seuls paramètres différents entre les populations étaient la race et la composition du microbiote de la mère. Cependant, leur microbiote était significativement différent dans plusieurs sections du système digestif. Les indices de diversité microbiologiques sont plus faibles dans les porcs Landrace dus à une importante prévalence en *Lactobacillus* et *Escherichia* alors que ceux-ci ne sont pas aussi dominants chez les porcs Jinhua, lesquels ont une variété beaucoup plus importante de microorganismes à faible prévalence. Ces variations sont aussi observées dans le microbiote fécal des races commerciales comme Landrace, Duroc et Yorkshire (326). Celles-ci ont un microbiote dominant très similaire composé principalement de *Clostridia* et de *Bacteroidia*, mais elles ont toutes un microbiote significativement différent où les bactéries moins abondantes varient énormément entre les races (326). En effet, *Catenibacterium*, *Blautia*, *Dialister* et *Sphaerochaeta* varient largement selon les races. *Catenibacterium* est présent seulement chez les porcs Duroc. *Blautia* a une forte prévalence chez les porcs Duroc, mais peu chez les Landrace et les Yorkshire. *Dialister* est présent seulement chez les porcs Yorkshire. Par contre, *Sphaerochaeta* est très prévalent chez les porcs Landrace, peu prévalent chez les Yorkshire et absent des Durocs (326). Ces différences entre les races suggèrent l'impact de la génétique sur la population microbienne colonisatrice du tractus intestinal tout au long de la vie adulte de l'animal (26, 327). Plus précisément, des variations du génome porcin ont été ciblées comme exerçant une

influence sur l'abondance relative en microorganismes dans le microbiote fécal de porcs croisés F1 (Duroc X ibérique). Les genres bactériens *Akkermansia*, CF231 (un membre des *Paraprevotellaceae*), *Phascolarctobacterium*, *Prevotella*, SMB53 (un proche parent de *Clostridium glycolicum*) et *Streptococcus* sont significativement associés au polymorphisme des nucléotides de certains gènes. La modulation de l'expression de ces gènes affecte significativement la teneur fécale de ces genres bactériens (273).

1.4.2.2 Cavité buccale et système respiratoire

La tête du porc est une zone posant un risque important de contamination par la salive et le mucus qui peuvent disséminer, sur la viande, des quantités importantes d'entérobactéries sans que cela soit aisément détectable (91). Cette contamination provient d'un écosystème microbien présent dans les amygdales et la salive qui est composée principalement des phyla *Proteobacteria*, *Firmicute*, *Fusobacteria* et *Bacteroidetes*. Ces phyla sont composées en majorité des genres *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Streptococcus*, *Clostridium* sensu stricto, *Petostreptococcus*, *Fusobacterium*, *Escherichia*, *Shigella*, *Actinobacillus* et *Pasteurella* dans les tissus profonds et en surface (34, 90, 328-330). Les bactéries de la tête contaminent la viande porcine dans un rayon relativement proche de la tête, ce qui selon les microorganismes peut entraîner des altérations des viandes résultantes (voir Tableau 3 pour la liste des microorganismes causant des altérations). Plus l'échantillon est proche de la tête et plus celui-ci ressemble au microbiote des amygdales (90). Les amygdales sont aussi un réservoir de virus. Leur virome est composé principalement des familles : *Adenoviridae*, *Picornaviridae*, *Retroviridae* et *Parvoviridae*, majoritairement des *Mastadenovirus*, *Pasivirus*, *Teschovirus*, *Retrovirus* et *Parovirus*. Les *Teschovirus* et *Pasivirus* sont presque exclusivement présents dans les porcs exprimant des symptômes respiratoires (331).

Le microbiote du système respiratoire porcin adulte (nez, tractus respiratoire et poumons), est composé principalement des phyla *Proteobacteria*, *Firmicutes* et *Bacteroidetes* et des genres *Streptococcus*, *Actinobacillus*, *Moraxella*, et *Pseudomonas* (34, 35). Alors que l'oropharynx de porcelets est composé principalement des phyla *Firmicutes*, *Proteobacteria* et *Bacteroidetes* et des genres *Streptococcus*, *Lactobacillus* et *Actinobacillus* (36). Le microbiote des amygdales ne présente pas de différence significative lors d'un traitement antibiotique, mais le microbiote du système respiratoire en présente (34). Il est influencé lors d'un traitement à l'oxytétracycline qui réduit significativement la diversité bactérienne dans le système respiratoire au profit des *Actinobacillus* à

court terme et des *Pseudomonas* à moyen terme (34). Inversement, l'arrêt d'utilisation d'antibiotiques permet l'amélioration de la diversité des espèces bactériennes. L'arrêt favorise l'abondance relative de commensaux tels que *Prevotella* et *Mycoplasma* et réduit l'abondance relative de *Moraxella*, *Haemophilus*, *Bergeyella* et *Klebsiella* au profit d'une panoplie de microorganismes à faible abondance relative. L'arrêt favorise la diversité microbienne, mais ne permet pas, à plus long terme, de stabiliser le microbiote, car celui-ci est toujours composé, principalement, de *Bacteroides*, *Bergeyella*, *Moraxella*, *Haemophilus* et *Prevotella*. La diversité est tout de même plus importante que sous antimicrobiens et l'abondance relative des bactéries dominantes est réduite (332). De plus, une haute diversité microbienne aide à prévenir l'apparition de maladie respiratoire comme la maladie de Glasser (333).

Le microbiote respiratoire peut aussi être influencé par des maladies. La communauté bactérienne de porc présentant des problématiques respiratoires est souvent constituée de *Mycoplasma hyopneumoniae* (95 % dans les porcs présentant des lésions et 47 % dans les porcs sans lésion apparente; (334). Les autres bactéries des poumons des porcs présentant des lésions incluent : *Mycoplasma flocculare*, *Weeksella virosa*, *M. hyorhinis* et *Flavobacterium johnsoniae*, et ceux des porcs sans lésion apparente comprennent: *C. botulinum*, *Mucilaginibacter paludis*, *Chryseobacterium gleum* F. *johnsoniae*, *Chitonophaga pinensis* et *Sphingobacterium spiritivorum*. Même si la diversité bactérienne des porcs avec lésions est faible, toutes les espèces bactériennes identifiées par 16S sont tout de même présentes dans de faibles pourcentages, indiquant une plasticité du microbiote des poumons et une potentielle capacité à retourner à une diversité « normale », une fois l'infection contrôlée (334). De plus, le microbiote respiratoire des porcs sains est plus diversifié que celui des porcs malades. Les poumons présentant des lésions importantes sont contaminés presque entièrement par les phyla *Tenericute* (*Mycoplasma* et *Ureaplasma*) aux dépens des *Proteobacteria* et des *Firmicutes* (35). Le microbiote respiratoire de porcs affecté par le SRRP est aussi contaminés par *Haemophilus* et *Mycoplasma*, et présente une diversité beaucoup plus faible que celle de porcs sains (335). Ce qui suggère que les lésions respiratoires pourraient être causées par différents microorganismes tels que *Mycoplasma*, *Haemophilus parasuis*, ainsi que par le SRRP lui-même (35, 333-335)

La salive est aussi un réservoir de microorganismes. Ce microbiote est connu chez l'humain (336-338) et commence à être étudié chez le porc. En effet, le microbiote de la salive de porcs

vietnamiens est composé principalement de bactéries commensales qui peuvent causer des altérations des viandes telles que : *Streptococcus*, *Moraxella*, *Actinobacillus*, et *Rothia* et ce dans l'ensemble des animaux, jeunes, vieux, mâles et femelles. Le genre le plus abondant dans la salive est *Streptococcus*, principalement *S. suis* (33, 339). Ces microorganismes sont très différents de ceux retrouvés dans les matières fécales, le vagin et l'environnement (mangeoire et distributeur d'eau) des mêmes animaux (33). Les fèces présentent une abondance relative importante en *Clostridium*, *Lactobacillus* et *Turicibacter*. Ces microorganismes ne se retrouvent presque pas dans la salive. De plus, l'environnement est composé de peu de bactéries présentes dans la salive. Elles s'apparentent plutôt à une variété de bactéries environnementales incluant : *Weissella*, *Meiothermus*, *Sphingomonas* et *Chryseobacterium*. Le microbiote de la salive présente une forte diversité et une faible interchangeabilité d'OTU avec les autres types d'échantillons. Cela indique qu'il présente une haute plasticité et est donc très modulable même s'il est constitué principalement par quatre genres bactériens (33).

1.4.3 Populations microbiennes à l'abattoir

1.4.3.1 Microbiote des carcasses

Après l'abattage, la viande porcine est colonisée principalement par des bactéries d'altération psychrophiles. Il est connu que la carcasse de porc, au fil de sa transformation, se contamine avec des microorganismes d'altération (129, 141, 142, 340). Cependant, ce n'est que récemment que le microbiote retrouvé en surfaces des carcasses a été évalué dans son entièreté par les méthodes de séquençage de nouvelle génération (142). Les principaux phyla retrouvés en surface des viandes porcines se résument à : *Proteobacteria* (49.5 %), *Firmicutes* (28.5 %) et *Bacteroidetes* (12.8 %). La composition de ces phyla bactériens est principalement des *Aeromonas*, *Pseudomonas* et *Brochotrix* (ig. 5; (39). Ces mêmes populations bactériennes sont aussi rapportées par Zwirzitz et coll. (40) qui observent une présence importante des genres *Pseudomonas* et *Campylobacter* sur les carcasses, principalement, sur le flanc et le dos de l'animal et en quantité plus faible sur les muscles des porcs se confirmant les zones à risques identifiées par Gill and Jones (129). Zwirzitz et coll. (98), ont donc repris cette analyse avec du séquençage du gène 16S. Ils ont identifié, à l'arrivée des porcs à l'abattoir, après désensibilisation, un microbiote principalement composé de *Curvibacter*, *Bacillus* et *Ochrobactrum* en surface des carcasses et d'*Helicobacter*, *Bacillus*, et *Microbacterium* dans la zone anale. Cette communauté bactérienne en surface des carcasses change complètement après l'étape d'échaudage et de brulure des soies. Elle est remplacée par les *Anoxybacillus*, *Chryseobacterium*, et

Moraxella. Ce changement se produit lors de la destruction par la chaleur des microorganismes en surface des carcasses. Les carcasses se recontaminent ensuite à l'étape d'épilation des soies restantes lorsqu'elles passent dans les brosses caoutchouc (96, 141). Par la suite, la population microbienne reste relativement stable tout au long du processus d'éviscération où les *Anoxybacillus* sont largement majoritaires dans le microbiote de la surface des carcasses. À la sortie de l'abattoir les genres *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Psychro-bacter*, *Chryseobacterium*, *Staphylococcus*, *Brochothrix*, *Moraxella* et *Flavobacterium* sont prévalents en surface des carcasses (341). Zwirzitz et coll. (98) ont aussi inféré l'origine génétique des microorganismes identifiés sur les carcasses. Ils ont déterminé que plus de 60 % des agents microbiens retrouvés sur la carcasse ne faisaient pas partie du microbiote porcin et par conséquent, auraient été transférés pendant le processus d'abattage.

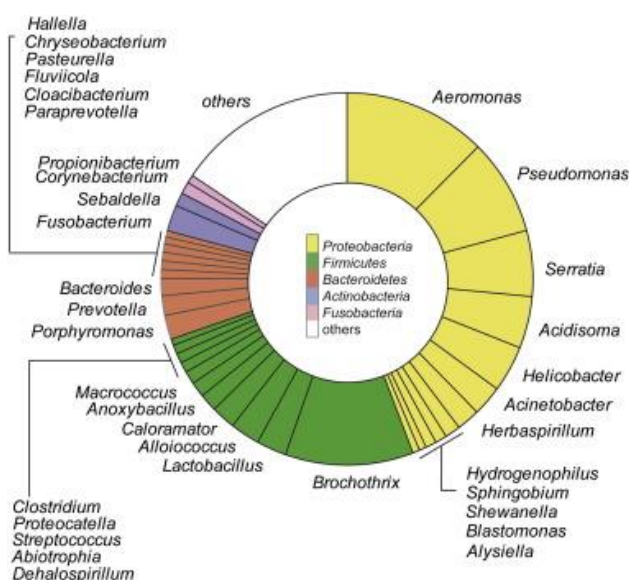


FIG 5 Abondance relative des microorganismes présents en surface des viandes (les microorganismes de moins de 0,5 % d'abondance relative sont groupés dans la catégorie others; (39).

1.4.3.2 Microbiote de l'environnement des abattoirs porcins

L'environnement des abattoirs est une des zones à risque de contamination croisée due à la nature des activités réalisées sur place. L'environnement et l'équipement peuvent être contaminés par des microorganismes problématiques comme *Salmonella* spp. (38, 126), *Listeria* spp. et *L. monocytogenes* (110), *Bacillus* spp. et *B. cereus* (342) et *Staphylococcus* spp. et *S. aureus* (342). Ces microorganismes ne représentent pas l'entièreté de ceux présents dans l'environnement de

l'abattoir, mais plutôt, une infime proportion de ceux-ci. Le microbiote de l'abattoir est principalement composé de bactéries d'altération (Tableau 3 pour la liste détaillée) et commensales, variant dépendamment de la section de la chaîne qui est inspectée. Par exemple, les équipements et l'environnement d'éviscération (appareil retirant les poils, l'appareil de coupe du cou, la scie d'ouverture des carcasses, daleau collecteur des viscères et la plateforme où les viscères sont retirés) sont principalement contaminés par des *Acinetobacter*, *Enhydrobacter*, *Moraxella* et *Psychrobacter* (38). La chaîne d'abattage est aussi contaminée par des bactéries des genres *Escherichia*, *Campylobacter*, *Lactobacillus* et *Pseudomonas*. Ces microorganismes, variant en concentration, se retrouvent principalement sur l'équipement de désensibilisation (en anglais *stunning chute*) et après l'étape d'échaudage et de brulure des soies à la flamme (40). Dans un abattoir autrichien, l'équipement est aussi porteur d'une communauté bactérienne très variable. Celle-ci est composée d'*Anoxybacillus*, *Bacillus*, *Luteimonas*, *Microbacterium*, *Ochrobactrum* et *Xanthomonadaceae*. Ce microbiote se retrouve sur les pièces de viande, mais ces microorganismes représentent seulement une partie des sources de contaminations (98). Les zones contaminées⁹ sont celles où les animaux sont douchés, la surface de la zone de désensibilisation, la surface des animaux après leur insensibilisation, la surface des animaux au moment de retirer les soies et les surfaces de l'environnement. Toutes ces zones ont une contamination d'environ 7 log d'UFC/100 cm² d'AMT alors que pour le reste de l'abattoir, cela est autour de 5 Log d'UFC/100 cm², à l'exception des zones moins à risque d'être contaminées⁹, en particulier celle de vente, qui se retrouve sous le seuil de détection (281)

1.4.4 Population microbienne des produits finis de viande

1.4.4.1 Microbiote de la viande et des produits transformés crus du détail

La population microbienne en surface de la viande de porc crue est composée principalement de bactéries d'altération telles que : *Pseudomonas*, *Brochotrix*, *Carnobacterium*, *Psychrobacter*, *Streptococcus*, *Acinetobacter*, *Mannheimia succiniproducens* et *Lactobacillus*. Ils se retrouvent sur

⁹ Dans les usines alimentaires, pour éviter des contaminations croisées certaines zones sont considérées comme « propres » et « sales ». La zone sale est celle où les activités sont à haut risque de relâcher des microorganismes. Inversement les zones propres sont celles où les activités relâchent peu de microorganismes et où les produits sont sensibles aux contaminations. On y distingue les activités et le personnel pour éviter qu'une personne apporte des contaminants d'une zone sale à une zone propre. Par exemple dans un abattoir la section d'éviscération est considérée comme sale, un employé ne peut donc pas partir de cette zone et aller vers la section d'emballage. Inversement, un employé peut partir de l'emballage vers l'éviscération, mais il ne peut pas y retourner sans se désinfecter les mains et son équipement (gants couteaux, tabliers, etc.). Le gradient de propreté d'un abattoir est résumé à la figure 2.

les pièces de viande de petites boucheries et de boucheries de grandes surfaces. Ces microorganismes varient d'une pièce de viande à l'autre et leur contamination ne semble pas liée à la taille des boucheries, mais plutôt à l'équipement l'hygiène de l'équipement utilisé pour transformer et découper les pièces de viande (148). Cette variation proviendrait des différentes pièces de la carcasse, car la contamination des carcasses n'est pas nécessairement uniforme, le flanc, les pattes avant, les épaules, le cou et le dos sont des zones présentant des contaminations en coliformes et *E. coli* en surface de la carcasse alors que le reste de la carcasse est moins problématique pour cette contamination (10, 129).

De plus, la population bactérienne retrouvée en surface des pièces de viande peut être modulée par son emballage. Les emballages sous vide avec atmosphère modifiée et perméable à l'air vont tous, au fil de la durée de vie des produits de viande, favoriser certaines populations microbiennes. Dans des conditions aérobies, ce sont les *Pseudomonas* qui prévalent. Ils représentent de 50 à 90 % des microorganismes. Ils sont remplacés par des entérobactéries lors de conditions déficientes de réfrigération, autour de 10 °C (150, 343, 344). Dans les emballages sous vide, les bactéries lactiques (majoritairement des *Lactobacillus*¹⁰ et quelques *Leuconostoc*¹⁰ et *Carnobacterium*¹⁰) constituent la communauté bactérienne prévalente en surfaces des produits sous vide, mais il est possible de noter la présence de *Pseudomonas* et de *Brochothrix* en faible concentration (343, 344). La conservation sous atmosphère modifiée (généralement de 20-30 % de CO₂ et 70-80 % d'O₂) est variable, mais généralement ce sont les bactéries lactiques (principalement des *Leuconostoc*, des *Brochothrix* et parfois des *Pseudomonas* ou encore des entérobactéries; (149, 150, 343, 344) qui prévalent. Par exemple, les membres de l'écosystème microbien de la viande hachée coréenne emballée dans des conditions aérobies sont composés de : *Pseudomonas* (31,1 %), *Carnobacterium* (23.0 %), et *Yersinia* (13.9 %) suivi de *Photobacterium*, *Shewanella*, *Arthrobacter*, *Lactobacillus*, *Rahnella*, *Buttiauxella*, *Lactococcus*, et *Brochothrix*. La présence de ces bactéries est variable entre les échantillons, suffisamment, pour pouvoir observer une signature propre à l'abattoir de provenance (152). Le microbiote des viandes de porc hachées belges est composé majoritairement de : *Brochothrix thermosphacta*, *Lactobacillus algidus*, *Photobacterium kishitani*, *Photobacterium*

¹⁰ Ces bactéries sont généralement considérées comme bénéfiques, car elles protègent les viandes contre les flores pathogènes (voir tableau 2 pour la liste des plus communes) en abaissant le pH en surface des viandes. Cependant en haute concentration les acides lactiques produits par ces bactéries peuvent causer des défauts de saveur, de couleur et d'odeur.

phosphoreum, *Pseudomonas psychrophila*, et *Pseudomonas* spp. sous emballage perméable à l'air. Conservées sous atmosphère modifiée (30 % CO₂ et 70 % O₂), on note la prévalence d'*Acinetobacter* spp., *Brochothrix thermosphacta*, *Lactobacillus algidus*, *Lactococcus piscium*, *Leuconostoc inhae*, *Leuconostoc gelidum*, *Leuconostoc* sp., *Photobacterium kishitanii* et *Ph. phosphoreum* (150).

1.4.4.2 Usine de transformation alimentaire

Les usines de transformation alimentaire de viandes sont contaminées par une communauté bactérienne se retrouvant sur l'équipement, dans l'air et, ultimement, sur les aliments produits sur place. Généralement, ces usines présentent une contamination environnementale variable et cela, selon l'équipement et la zone échantillonnée (144). À son arrivée à l'usine, la viande est contaminée par des *Pseudomonas*, *Brochothrix*, *Carnobacterium*, *Arthrobacter* ainsi que des *Lactobacillus* (144, 148, 158). L'équipement de la section de réception est contaminé de manière significative, par *Psychrobacter* et *Rhodococcus*. Une fois mélangées, les saucisses et leur mêlée sont principalement porteuses de *Lactobacillus*. Comparativement, l'équipement de préparation des saucisses est l'hôte d'un microbiote varié où les *Actinomycetales* représentent le tiers du microbiote (144). Il est à noter que la répartition des microorganismes problématiques a aussi fait l'objet d'évaluation. Le cas de bactérie pathogène *Yersinia* et d'altération, *Brochothrix* et *Leuconostoc* a été estimé. Dans l'ensemble, *Yersinia* se retrouve principalement sur l'équipement et les surfaces des usines alors que *Brochothrix* est sur les viandes crues et *Leuconostoc* sur les produits finis (144). Cependant, la plus importante proportion en *Leuconostoc* (3,3 %) se retrouve sur les surfaces après les procédures de nettoyage et de désinfection. Alors qu'au cours de la production, ceux-ci représentent moins d'un pour cent d'abondance relative (144).

Après le nettoyage et la désinfection, la microflore retrouvée dans les usines de transformation alimentaire, toutes productions confondues, est composée principalement de *Pseudomonas*, *Microbacterium*, *Stenotrophomonas*, *Staphylococcus*, et *Streptococcus*. Cette communauté bactérienne est très variable d'usine en usine (60 % des isolats sont uniques d'un site à l'autre). Dans les usines de transformation de viande, celle-ci est principalement constituée de bactéries commensales et d'altération comme *Carnobacterium*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Rothia* et *Stenotrophomonas*, à de faibles concentrations (155). L'étape de nettoyage et de désinfection a un effet variable sur différents microorganismes (156). Le nettoyage d'un biofilm modèle composé de

Acinetobacter johnsonii, *Corynebacterium* spp., *C. sputi*, *Epilithonimonas* spp., *Kocuria* spp., *Kocuria rhizophila*, *Microbacterium* spp., *Micrococcus* spp., *Pseudomonas* spp., (*P. putida* group), *Pseudomonas* spp. (*P. fluorescens* subgroup), *Pseudomonas* spp. (*P. mandelii* subgroup), *Psychrobacter* spp., *Rhodococcus erythropolis*, *Rhodococcus fascians*, *Sphingomonas* spp., et *L. monocytogenes* a été étudié par Fagerlund et coll. (156). Un premier agent chloré alcalin puis un désinfectant à base d'ammonium quaternaire ou d'acide peracétique ont été utilisés. Tous les désinfectants ont réduit, en moyenne de 4 log d'UFC les microorganismes sauf pour *Corynebacterium* et *Micrococcus* qui ont seulement été réduit respectivement de 1 et 2 unité logarithmique. De plus, l'acide peracétique a un effet significativement plus important comparativement à l'ammonium quaternaire lorsqu'il est appliqué à un biofilm pur de *L. monocytogenes*, alors que l'inverse se produit lorsque la désinfection est appliquée au biofilm d'espèces multiples (156). Même si certains microorganismes d'altération sont capables de mieux survivre aux procédures de nettoyages et assainissement, ces procédures permettent de contrôler efficacement les microorganismes pathogènes comme *Salmonella*, *L. monocytogenes* tout en éliminant les microorganismes indésirables comme les entérobactéries (97, 155, 156, 345).

De plus, l'équipement de découpe pour le porc (couteaux, planche à découper, mains des travailleurs), chez le détaillant est contaminé principalement par *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Brochothrix*, *Psychrobacter*, et *Acinetobacter* (146, 148). Bien que ces microorganismes soient principalement retrouvés sur les équipements, leur prévalence varie d'une boucherie à une autre. Par exemple, un échantillon provenant d'un détaillant présentait une abondance relative de 84 % en *Pseudomonas* alors que la moyenne était de 20 %. De plus, les mains sont également une source importante de *Brochothrix* dans l'environnement des boucheries. Il est intéressant de noter qu'il n'y a pas de différence significative entre les boucheries de grandes surfaces et celles des petits commerces. Principalement, les auteurs attribuent cela à la large variation entre les différents établissements de même taille (148). Cependant, il existe une différence significative lorsqu'on cible certains microorganismes comme *Listeria*. Luchansky et coll. (346) ont comparé la présence de *Listeria* spp. et *L. monocytogenes* dans différents produits incluant les viandes préparées et les saucisses. Dans leur étude, ils arrivent à la conclusion selon laquelle les petites épiceries et boucheries sont significativement plus souvent contaminées avec *Listeria* spp., tous échantillons confondus, mais pas plus en *L. monocytogenes*. Les mêmes conclusions sont tirées lorsque les viandes sont précisément ciblées. Ce risque est faible. Seulement 2,33 % et 0,25 % de tous les

échantillons prélevés étaient respectivement positifs à *Listeria spp.* ainsi qu'à *L. monocytogenes*¹¹. La présence de *Salmonella spp.* est similaire, car 1,39 % des viandes hachées sont positives. Il n'existe pas de différence significative entre les sites de leur production (161). Lorsque les entérobactéries sont ciblées, il y a une différence entre les sites de vente au détail. Tout type de viande confondu (coupe, pièces et hachées), les viandes de boucherie sont significativement plus contaminées en entérobactéries que celle des supermarchés (347).

Finalement, l'air représente une source non négligeable d'aérosols pouvant se déposer sur les pièces de viande. Les usines de transformation de viandes peuvent contenir de 800 à 3500 UFC/m³ de microorganismes totaux dans l'air et de 200 à 10 000 UFC/m³ de levures et moisissures (103, 348). L'air est contaminé principalement par les *Staphylococcus*, *Microbacterium*, *Bacillus* et *Micrococcus*. Cette contamination est largement affectée par la teneur en humidité de l'air puisque la majorité des microorganismes dans cet environnement sont des bactéries à Gram négatifs et que celles-ci sont plus sensibles au dessèchement que les bactéries à Gram positifs (348).

1.5. Conclusion

En résumé, le microbiome de la chaîne de valeur du porc commence à être évalué en profondeur grâce aux technologies de séquençage. Une majeure partie des microorganismes présentés dans la section 1.4 sont commensaux et ont donc un faible impact sur la salubrité de la chaîne de valeur du porc et sur la qualité des viandes. Cependant, certains d'entre eux sont négatifs et peuvent entraîner des pathogénies (voir Tableau 1 et 2) ou des altérations s'ils se retrouvent sur les viandes porcines (voir Tableau 3). Ces populations microbiennes sont très variables d'une section à l'autre de la chaîne de valeur. Les microorganismes originaires des animaux ont été estimé avoir une origine écologique d'environ 30 % de la contamination sur la viande alors qu'un peu plus de 60 % des microbes retrouvés sur la viande ne sont pas associés à l'animal, mais plutôt à une contamination environnementale (98, 147, 155). Il existe donc une opportunité de comparer l'impact des populations microbiennes composant le microbiote des animaux sur le reste de la chaîne de valeur du porc. Une collecte aléatoire d'échantillons dans des fermes, des abattoirs et des produits du

¹¹ Les normes permises de *Listeria spp.*, *L. monocytogenes* et *Salmonella* dans les viandes crues prêtes à consommer (tartare, carpaccio, etc.) est nulle, aucune détection n'est permise. Pour les viandes crues qui seront cuites, aucune norme n'est appliquée. Cependant, un maximum de 10 % de carcasses positives à *Salmonella* est permis pour l'exportation. Pour plus détail voir : <https://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/Publications/recueil.pdf> et <https://inspection.canada.ca/exportation-d-aliments-de-plantes-ou-d-animaux/exportations-d-aliments/exigences/exigences-d-exportation-pour-les-produits-de-viande/annexe-u/fra/1371663720505/1371663913885>

détail, sans lien direct, ne permettrait pas une analyse de la population microbienne et son impact sur la chaîne de valeur, mais seulement une évaluation générale du microbiote prévalant dans chacun de ces environnements. Une expérience faisant le suivi direct des mêmes animaux entre toutes les différentes étapes de la transformation ne semble pas avoir été faite dans la littérature. Les études se concentrent plutôt sur un environnement très spécifique ou une section de la chaîne et sont sensibles à une diversité de facteurs (localisation/climat, ration alimentaire, race porcine, âge de l'animal, etc.). Donc, elles sont difficiles à comparer entre elles.

L'objectif de ce projet de maîtrise est de caractériser le microbiote des différentes étapes de la transformation de la viande de porc pour des animaux provenant de deux fermes différentes et dont le statut sanitaire est différent selon le suivi fait par les vétérinaires s'occupant de ces élevages. Cette étude permettra de générer des connaissances plus approfondies sur les risques microbiologiques associés à des animaux provenant d'élevages de porc différent pour déterminer, spécifiquement, leur impact sur la viande et les produits transformés. L'étude a suivi des porcs sur toute la chaîne de transformation, de la ferme à la pièce de viande, afin d'évaluer et de contrôler les facteurs autres que la ferme d'origine. L'hypothèse de recherche est que le microbiote de porcs provenant de deux fermes avec des statuts sanitaires différents, ainsi que les microorganismes de leur environnement, influencent la composition microbienne de la chaîne de valeur, la contamination des usines et la qualité microbiologique des viandes.

Chapter 2: Farm contribution to the swine value chain microbiome

Laforge Pascal¹², Vincent Antony T.¹, Duchaine Caroline³, Pouliot Eric⁴, Fournaise Sylvain⁴,
Saucier Linda¹²

¹Département de sciences animales, ²Institut sur la nutrition et les aliments fonctionnels,

³Département de biochimie, microbiologie et bio-informatique, Université Laval, Québec, Qc,
Canada, G1V 0A6, ⁴Olymel S.E.C./L.P., Boucherville, Qc, Canada, J4B 5Y1

2.1 Résumé

Une meilleure compréhension de la composition microbienne de la chaîne de valeur du porc est essentielle afin d'élaborer de nouvelles stratégies pour optimiser la qualité microbiologique des produits. Aucune étude à ce jour n'a suivi les mêmes animaux de la ferme jusqu'à la viande, les échantillons étant plutôt prélevés aléatoirement sur différents sites. Cette étude consiste à évaluer comment le microbiote de porcs provenant de deux fermes avec des statuts sanitaires différents, ainsi que les microorganismes de leur environnement, influencent la composition microbienne de la chaîne de valeur, la contamination des usines et la qualité microbiologique des viandes. Les dénombrements d'aérobies mésophiles totaux et d'entérobactéries provenant d'échantillons prélevés à la fin des procédures de nettoyage et de désinfection se situent à ou autour de la limite de détection, ce qui indique qu'elles sont efficaces. Les dénombrements des échantillons individuels prélevés en abattoir ne varient pas significativement en fonction des fermes analysées. Cependant, lorsque les échantillons sont regroupés, le dénombrement moyen d'entérobactéries associés à la ferme avec un statut sanitaire inférieur est plus souvent supérieur comparativement à l'autre ferme (test de la somme des rangs de Wilcoxon; $p < 0,05$). *Acinetobacter*, *Clostridium*, *Moraxella* et *Rothia* étaient les genres les plus abondants de la chaîne de valeur du porc. L'algorithme LEfSe ($p < 0.05$, LDA 1.0) a permis d'identifier un plus grand nombre de marqueurs pour la ferme présentant un statut sanitaire inférieur. De même, les indices de diversité alpha sont significativement plus élevés dans l'air et la moulée. Ainsi, ces résultats suggèrent que l'écosystème microbien de la chaîne de valeur du porc varie avec la ferme d'origine et l'impact du statut sanitaire des animaux mérite d'être étudié à plus grande échelle.

2.2 Abstract

A thorough understanding of the microbial ecology of the swine value chain is essential to develop new strategies to optimize the microbiological quality of pork products. To our knowledge, no study to date has been performed following farm animals to the meat obtained from these animals. The objective of this study is to evaluate how the microbiota of pigs, originating from two farms with different sanitary status, and their environment influence the microbial composition of the value chain, the contamination of the slaughterhouse and meat microbiological quality. The total mesophilic aerobes and *Enterobacteriaceae* counts from samples collected at the end of the cleaning and disinfection procedures are at or around the detection limit indicating that they are effective. The counts of individual samples taken at the slaughterhouse do not vary significantly between the farms analyzed. However, when samples are grouped together, mean *Enterobacteriaceae* counts associated with the farm with a lower sanitary status are more often above the other one (Wilcoxon rank sum test; $p < 0.05$). *Acinetobacter*, *Clostridium*, *Moraxella* and *Rothia* are the most abundant genera across the swine value chain. The LEfSe analysis ($p < 0.05$, LDA 1.0) identified more microbiological markers associated with the farm identified with a lower sanitary status and Alpha diversity indices reveal significantly higher diversity in air and feed samples. These results suggest that the microbial ecosystem of the pork value chain varies with the farm of origin and the impact of the farm sanitary status deserves to be studied on a larger scale.

2.3 Importance

Pork meat, due to its nutrient and water content, is a food product that support microbial growth following contamination during the slaughter and transformation process. Around 20% of meat is lost or spoiled throughout the value chain. These contaminations lead to greater risks of foodborne infection. To address this challenge, every sector of the meat industry is looking for new ways to improve food safety and reduce economic losses associated with microbial contamination and spoilage. This work fits in this vision by generating precise knowledge of the swine value chain microbiome. It will bring new knowledge to improve risk management programs (HACCP and others) and to pinpoint processes that are significantly affecting the product microbial quality. These data indicate that the impact of the sanitary status of the farm on the value chain should be addressed further.

Keywords: sanitary status, swine value chain, food safety, 16S rRNA gene, microbial ecology, bacteria, meat,

2.4 Introduction

Pork is a major part of the world meat consumption and up until 2015, it was the world most consumed meat (1). This popular meat, like all muscles of healthy animals, with the exception of lymph nodes, harbours almost no microorganisms (5). Yet, meat and meat products are the food category most often identified as causing food borne illnesses (6, 7). This is explained by the perishable nature of meat, which is rich in nutrients supporting microbial growth (8, 9). As such, contamination of swine carcasses, and resulting meat cuts, at any point after slaughter can lead to spoilage or pathogen growth throughout the shelf life of the product. Microorganisms from the animals (digestive tract, skin, respiratory tract, saliva, etc.) can contaminate the meat (10). Hence, pork quality and the safety must come from a combination of effective biosecurity measure, herd health management at the farm, hygienic slaughter and cutting practices combined with risk management measures throughout the value chain (HACCP plans and similar measures). Safety is an everlasting concern for the swine producers and processors who must find new ways to precisely pinpoint interventions that can improve pork microbial quality. Since interventions with chemicals and other means during the processing are challenged by consumer opinions, processors must work closely with their suppliers to reduce the impact of the microbial load brought in everyday by live animals in the slaughterhouse.

The sanitary status or health status of a farm, a thorough follow up by veterinarians of current and historical diseases and sanitary conditions of the farm, is a contributing factor to the final product microbial quality (11). Notably, it has been identified as one of many factors influencing swine gut microbiota (12). Proper health management and other sanitary measures, including on-farm biosecurity, have reduced the risk of infection from major swine pathogens such as pathogenic serovars of *Mycoplasma hyopneumoniae* (enzootic pneumonia) and *Actinobacillus pleuropneumoniae* (pleuropneumonia) in the early 2000 (13). Sanitary status with respect to specific pathogens such as *Clostridium perfringens*, *Salmonella enterica* and *Yersinia enterocolitica* have been linked with carcass contamination (14). While modern pig farms generally have a good sanitary status, it does vary nonetheless from farm to farm to different degrees (15). By enhancing the sanitary conditions at the farm, animal health and behavior are improved (16). To properly evaluate

the impact of the sanitary status of farms on the microbiome of the value chain, precise knowledge of microbial populations and its variations from farm to meat cuts must be obtained. So far, the actual information available is limited to studies where samples were taken randomly and sporadically within the value chain.

Culturomic analysis is widely used in routine evaluation of microbial populations in slaughterhouses (17). These techniques allow a quantitative evaluation of the microbial populations, but an incomplete one, since only viable and cultivable bacteria can be accounted for, and therefore underestimate the actual microbial diversity (18, 19) since no media can accurately support the growth of all microbes. To further the analysis, new molecular biology techniques have been developed and include whole genome or specific gene amplicons sequencing (5S, 8S, ITS, 16S). The microbiome of various environments was characterized (human guts (20), earth microbiome (21), etc.) using these powerful techniques. Due to its lower cost and relative ease of use compared to other genomic methods, many 16S rRNA amplicon sequencing studies have emerged, focusing on key areas of the swine value chain. The microbial ecosystem found in the air of the housing building (19, 22-24), the swine gut microbiota throughout its constituting sections (12, 25-32, 336), the respiratory tract, mouth and saliva microbes (33-36), the slaughterhouse environment (37, 38), the carcass (37, 39, 40) have all been addressed in specific studies by the use of molecular methods. Swine gut microbiota is by far the most studied of these environments enough so that the concept of a “core” microbiota (bacteria present in over 90% of samples) was put forward by Holman et al. (25) in which they identified the genera *Clostridium*, *Blautia*, *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Ruminococcus*, *Roseburia*, RC9 « gut group » and *Subdoligranulum* as members of that swine gut core microbiota.

To our knowledge, no study bridges all these environments in one unified study following the same animals from farm to meat cut. The previous studies relayed on experimental designs based on random sampling at different sites along the value chain. By selecting two commercial swine farms of different sanitary status, we sought to characterize the microbiota of the animals and their environment and follow how the passage of these animals coming from different farms modulated the microbiota during carcass dressing (slaughter, evisceration) and splitting into retail cuts. This descriptive study generates a more precise knowledge of the farm and animal microbiota, and of the efficacy with which meat processing plants mitigate the impact of these microbes on the resulting carcass and retail cuts.

2.4 Material and methods

2.4.1 Selected farms.

Two commercial farms were selected for this study by the veterinarians based on their sanitary status. Sanitary status was determined according to the gastrointestinal health of animals and the medical history of these farms. With these parameters, two farms, one with a higher (farm-H) and one with a lower sanitary status (farm-L), were selected. Both were finishing farms of similar size housing 1600 and 1200 animals, respectively. The same animals (female (Yorkshire X Landrace) X Duroc male) were fed with the same commercial diet and followed the same 4-phase finishing nutrition program. The only difference in the diet was a change from pellets to mash feed for farm-L 22 days before the first sampling due to an episode of salmonellosis. At a slaughter weight of 115 ± 7 kg, animals from both farms were sent to the same federally inspected plant and were the first animals to be slaughtered on the same weekday to avoid contamination from other animals. They were sent once a week over a 5-week period for farm-L and 4-week for farm-H when slaughter weight was reached; expedition 2, 3 and 4 were followed for farm-L and 1, 2 and 3 for farm-H. Samples were collected at the farm 3 days before the expedition. Farm-L animals were sent in from July to August and farm-H animals were sent from October to November. Animals had 18 hours of fasting before slaughter. Animal care and handling procedures were approved by Université Laval's Animal Use and Care Committee (2019-329), which strictly adheres to the Guidelines of the Canadian Council on Animal Care (CCAC, 2009).

2.4.2 Slaughter and carcass splitting.

Animals were stoned by CO₂ in groups of five pigs. After dressing, the carcasses were blast chilled for 90 minutes and then cooled overnight (24 h 4°C) before carcass splitting into retail cuts the next day (Fig. 6). Inspection data for each carcass (carcass demerit, condemnation, full stomach at slaughter and bloated viscera) were obtained for statistical analysis.

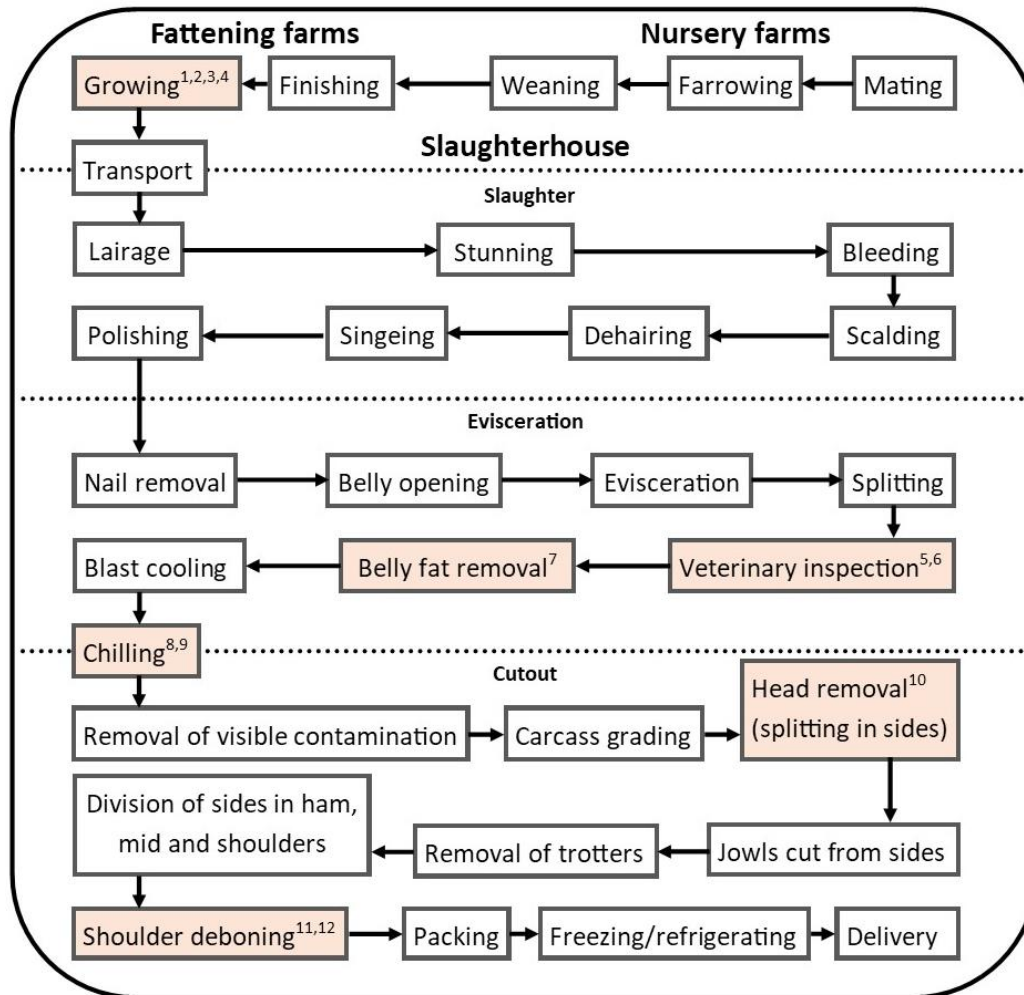


FIG 6 Flow chart of the location of various samples taken throughout the pork value chain at the selected farms and meat plant investigated. Sample locations are highlighted in orange. Samples were collected from Air=Ar (1), Feces=Fc (2), Saliva=Sa (3), Feed=Fe (4), Drain at evisceration=Dev (5), Blood collection gutter=Gev (6), Conveyor at evisceration=Cev (7), Dressed carcasses (after blast chilling)=Dc (8), Cold carcasses (after overnight refrigeration)=Cc (9), Drain at cut-out=Dcu (10), Conveyor at cut-out=Ccu (11), Shoulder=S (12).

2.4.3 Sampling and sample processing.

Multiple samples were collected along the value chain (Fig. 6). At the farms, air (Ar), feces (Fc), saliva (Sa), and feed (Fe) samples were collected from 16 preselected pens. Collected samples were kept on ice until reaching the laboratory. Air samples were collected using the SASS 3100 dry air sampler (Research International, Monroe, Washington, USA) on Standard electret filter cartridge (welded). A volume of 10 m³ was collected at 300 ml/min for 33 min three times throughout the day (8:00, 11:00 and 14:00). The apparatus was placed on a 1 m high table in the middle of the alley of

the room where the sampled animals stood. These filters samples were then preserved at -20°C until the extractions were performed using the SASS 3010 particle extractor (Research International, Monroe, Washington, USA) and a recovery buffer (138 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 0.05 % Triton X-100, < 0,1 % NaN₃ 10 mM Na₃PO₄, pH 7,4). Extracted particles solutions were pooled in equal volume by sampling dates (three collected times of one sampling day) and then centrifuged at 14 000 x g for 20 min at 4°C (Sorvall legend XTR centrifuge, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA). Excess supernatant was removed, and cells were stored at -80°C until DNA extraction. Feces samples were collected with the PERFORMAbiome•GUT | PB-200 sampling kit using the manufacturer instructions (DNAgenotek, Ottawa, Ontario, Canada). Fresh feces, within 5 minutes of defecation, from 16 random animals, one per pen, were collected per sampling day. Additionally, remaining feces samples were collected in sterile 15 ml Falcon tubes. Animals selected were identified with Livestock marking spray (Raidex, Dettingen an der Erms, Baden-Wuerttemberg, Germany) to avoid sampling the same animal twice. A 500 µl aliquot of each PB-200 tube was pooled in sterile conditions by sampling dates (16 pig feces pooled in one sample). Fresh samples and pooled samples were then stored at -80°C until DNA extraction. Saliva was collected using the P-151 kit (DNAgenotek, Ottawa, Ontario, Canada). The swab was inserted in the mouth for about 5 seconds. Swabs were put back in the tubes and inverted 10 times for mixing with the stabilizing reagent. Saliva of 16 random animals in the same 16 pens were sampled per sampling day. An aliquot of 250 µl of each P-151 tube were pooled by sampling day and then stored at -80°C until DNA extraction. Feed was sampled directly from eight feeders with sterile spoons and stored in sterile 4-oz Whirlpack bags (Nasco, Wisconsin, USA). Each feeder serves 2 pens. The samples were then pooled by mixing 2.5 g of feed from each feeder and then stored at -20°C until DNA extraction.

Each processing day, the animals were the first to be slaughtered and the carcasses the first to be split into retail cuts on a clean processing line right after clearance from the pre-operational procedures to properly assess the contamination coming from the animals of the selected farms. Environmental samples were therefore collected before and after the passage of the animals of the selected farms. Sampling sites were identified in collaboration with the plant quality control team to select representative sites according to their HACCP plan. Liquid samples were collected aseptically using sterile transfer pipette (Polyethylene Transfer Pipettes, VWR international, Wayne, USA) and surface samples were obtained using a sterile sponge (Whirl-Pak® Speci-Sponge® Environmental Surface Sampling Bags, Nasco Sampling/Whirl-Pak, Madison, USA) humidified with 10 ml of sterile

2% buffered peptone water (Peptone Water, phosphate-buffered, Milipore sigma, Canada, Oakville, Canada), a 10 X 10 cm sterile template (3M cattle template, USDA100, 3 M Canada, London, Canada), and a pair of sterile gloves (Sterile Cleanroom Nitrile Gloves, Uline Canada, Milton, Canada). At slaughter, a central drain under the viscera conveyer (Dev; 150 ml), a gutter post-evisceration (Gev; 300 cm²) and conveyor before the first carcass shower (Cev; 300 cm²) were sampled. A 100 cm² surface from the belly, jowl, and hind leg near the anus (300 cm² in total) was sampled from 25 carcasses after blast chilling (Dc) according to the Guidelines for *Escherichia coli* Testing for Process Control Verification in Cattle and Swine Slaughter Establishments (FSIS-GD-1996-0001, 2005, FDA). Adjacent carcasses to the ones sampled after blast chilling were sampled the next day after an overnight refrigeration (Cc; at 4°C) just before the cutting line starts. In the carcass splitting section, samples were collected at a central drain (Dcu; 150 ml) and at the end of the conveyor (Ccu; 300 cm²) where the 25 shoulders were randomly selected (Fig. 6). A total of 450 cm² was sampled from the shoulder surface and the inside section (S) where the shoulder bone was removed.

All the surface samples (sponges) and liquid from the drains were kept on ice until they were processed. Upon arrival at the laboratory, 10 ml of 2 % buffered peptone water was added to the sponges. Whirl-Pak® bags were then put in a stomacher bag and homogenized using a Stomacher 400C (Seward Laboratory Systems Inc., London, UK) for 2 min, at 230 RPM. Sponges were hand pressed to recover a maximum liquid. An aliquot of 2 ml from each set of carcasses and shoulder samples was pooled and thoroughly mixed. Samples were kept at 4°C for microbial enumeration within 24h. Individual and extra material was directly frozen at -80°C until DNA extraction. Pooling was deemed necessary for some samples, notably for individual shoulder or carcasses samples, to obtain enough DNA for downstream application.

2.4.4 Microbial analysis.

Microbial enumeration was performed on the slaughterhouse samples (gutters, conveyors, drains, carcasses, and shoulders); for the carcasses and shoulders the pooled samples were used. Ten-fold serial dilutions were carried out in 0.1% peptone water for enumeration on appropriate agar plates. Total aerobic Mesophilic counts (349) were performed on plate count agar (Difco Laboratories Inc.; 35°C for 48h). *Enterobacteriaceae* counts (350) were performed on Violet Red Bile Glucose agar (Difco Laboratories Inc.; 35°C for 24h). Measurements were performed in duplicate. The number of

animals sent to the slaughterhouse varied between sampling weeks. Basic statistical weighting (351) was used to weight results of samples collected after animal passage to a lot size of 300 animals. This population size was selected for easier comparison with future studies where this parameter will be controlled. All bacterial counts were then transformed to a log value of colony forming units per 300 cm² or 300 ml prior to statistical analysis (352). Detection level was used in the statistical analysis when no colony was detected. It was calculated as the value obtained when only one colony is detected on one of the two duplicate plates.

2.4.5 Short-Chain Fatty acids analysis.

Short-chain fatty acids (SCFA; acetic, propionic, butyric, isobutyric and isovaleric) concentration was quantified in the 16 individual pig feces of each sampling (96 total samples) by gas chromatography coupled to a flame ionization detector (GC-FID). Feces samples were collected and kept at -80°C until SCFA extraction and measurement by gas chromatography. Sample preparation involved weighting of two aliquots of 500 mg of frozen feces for each animal. The aliquots were 10-fold dissolved in water and fecal suspensions were homogenized 2 min with a Bead Ruptor 12 (Omni international, Kennesaw, GA, USA), then centrifuged at 5500 g for 30 min at 4°C. The supernatant was collected and spiked with a solution containing an internal standard (4-methylvaleric acid for a final concentration of 1 mM) and H₃PO₄ 10% to obtain a pH around 2. A volume of methyl tert-butyl ether equivalent to the volume of diluted sample was added to extract SCFAs by vortexing 2 min. Samples were then centrifuged 10 min at 18 000 g at 4° C and organic phases were transferred to a glass vial.

SCFA analysis was performed on a GC-FID system (Shimadzu, Kyoto, Japan), consisting of a GC 2010 Plus gas chromatograph equipped with an AOC-20s auto-sampler, an AOC-20i auto-injector and a flame ionisation detector. The system was controlled by GC Solution software. One microliter of organic phase was injected in a split mode into a Nukol capillary GC column (30 m × 0.25 mm id, 0.25 µm film thickness, Supelco analytical) and hydrogen was used as carrier gas. The injector and detector were set at 250 °C. The oven temperature was initially programmed at 60 °C, then increased to 200 °C at 12° C/min, hold 2 min. SCFA were quantified using a 5-points calibration curve prepared with a mix of standards (acetic acid, propionic acid, butyric acid, isobutyric acid, valeric acid and isovaleric acid) extracted following the same procedure as samples.

2.4.6 DNA-extraction and 16S rRNA gene sequencing.

Frozen pooled samples were thawed overnight at 4°C. Liquid samples from surface sampling were centrifuged using the appropriate rotor (Sorvall legend, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) at 24 000 x g for 10 min for the 50 ml samples and 14 000 x g for 20 min for 10 ml samples at 4°C. The supernatant was removed from the cell pellets which were then directly used for DNA extraction. Feed was hydrated in 2% buffered peptone water in a 9:1 water to feed ratio for 30 min at 4°C in filtered stomacher bags. The hydrated pellets were homogenized for 2 min at 230 rpm. A total volume of 2.5 ml was recovered and centrifuged at 14 000g for 10 min. The pelleted cells were used for DNA extraction.

The DNeasy PowerSoil Kit (QIAGEN, Toronto, Canada) was used for the air, feed, conveyor, gutter, and carcasses whereas the QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (QIAGEN) was used for feces, the DNeasy PowerWater Kit (QIAGEN) for the liquid collected from the drain and the QIAamp BiOstic Bacteremia DNA Kit (QIAGEN) was used for the shoulder samples using the manufacturer protocols. For the saliva, the MasterPure Complete DNA and RNA Purification Kit (Lucigen, Teddington, UK) was used according to the sample collection kit extraction protocol (DNA purification protocol using Epicentre® MasterPure™ Complete DNA and RNA Purification Kit, DNAGenotek, Ottawa, Canada). Extracted DNA samples were then quantified using a Nanodrop (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA).

2.4.7 Amplification of the 16S RNA gene.

Library preparation and sequencing were performed at the *Plateforme d'analyses génomiques* (Institute of Integrative Biology and Systems, Université Laval, Quebec City, Canada). Briefly, amplification of the 16S V3-V4 region was performed using the sequence specific primers in a long oligo PCR approach. The following generic oligonucleotide sequences were used for amplification: Bakt_341F-long

AATGATACGGCGACCGAGATCTACAC[index1]TCGTCCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGA
CAGCCTACGGGNGGCWGCAG and Bakt_805R-long
CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT[index2]GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG
GACTACHVGGGTATCTAATCC (353).

The PCR reactions were carried out in a total volume of 50 µL that contains 1 X Q5 buffer (NEB, Ipswich, MA, USA), 0.25 µM of each primer, 200 µM of each dNTPs, 1 U of Q5 High-Fidelity DNA

polymerase (NEB, Ipswich, MA, USA) and 25ng of extracted samples DNA. The PCR started with an initial denaturation at 98°C for 30 s followed by 10 cycles of denaturation at 98°C for 10 s, annealing at 55°C for 10 s, extension at 72°C for 30 s. An additional 25 cycles were as followed, denaturation at 98°C for 10 s, annealing at 65°C for 10 s, extension at 72°C for 30 s followed by a final extension step at 72°C for 2 min. The PCR reactions were purified using the Axygen PCR cleanup kit (Axygen, New-York, USA). Quality of the purified PCR product was checked on a DNA7500 BioAnalyzer chip (Agilent, Santa Clara, USA) and quantified using a Nanodrop 1000 (Thermo Fisher Scientific). Barcoded Amplicons were pooled in equimolar concentration and sequenced on an Illumina Miseq (paired end 300 bp with two index reads). Insufficient reads quantity for downstream analysis was obtained from samples collected before animal slaughter due to low DNA quantity. These samples were discarded from further bioinformatic analysis.

2.4.8 Sequence processing.

The first step in reads processing consisted in inspecting the quality plots generated by FastQC (version 0.11.5; 354). The generation of the amplicon sequence variant (ASV; 355) table was done using the DADA2 (356) package (version 1.22.0) workflow in R (version 4.1.1). For the filtration steps, the first 17 nucleotides of the forward and the first 21 of reverse reads were trimmed to remove primers. Forward and reverse reads were trimmed at a length of 290 and 230 nucleotides, respectively. Sequences containing ambiguous nucleotides (N) were discarded. According to Prodan et al. (357) findings, the expected error filter was not used to avoid induce bias towards bacteria with a error prone genome. The steps of dereplication, sample inference, chimera identification and merging of the paired-end reads were performed using the default parameters, with one exception, samples were pooled at the sample inference step. Taxonomic assignment was done using SILVA rRNA database (release 138.1; 358) with the naive Bayesian classifier method (the assignTaxonomy command of the DADA2 package). Species were then added with the Add species function. A phylogenetic tree was then built by first performing a multiple alignment using the DECIPHER R package (version 2.22.0; 359). Then a neighbor-joining tree was built and fit on a GTR+G+I maximum likelihood tree using the neighbor-joining tree as a starting point with the phangorn R package (version 2.8.1; 360). Counts, taxa, study metadata and phylogenetic tree were then combined into a phyloseq (version 1.38.0; 361) object. Contaminants were removed using blank samples and the prevalence method (threshold of 0.5; any ASV more prevalent in the negative controls than the positive were removed) of the decontam R package (version 1.14.0; 362). Data

was filtered by removing any non-bacterial ASV (Kingdom Eukaryota and Archaea, Order Chloroplast and Family Mitochondria), then any ASV without phylum identification was removed, any low prevalence phylum was manually removed (less than 5 ASV per phylum) and finally low prevalence ASV was removed (present in less than 5% of samples). Filtered ASV were searched against the NCBI nr/nt 16S curated database (Bioproject 33175 or 33317; excluding archaea; downloaded the 14-01-2022) in GenBank using BLASTN (version 2.12.0; 363). When the query ASV had more than 97% identity with sequences in the GenBank database, the same genus level identification as the SILVA database and a clearly defined species taxonomy (no ambiguous same percentage identity yet different species identification; those were left as NA) was manually reassigned to that ASV. The same procedure was performed for genus reassignment at a 90% identity threshold and Family consensus. The ASV counts were normalized into relative abundance for the Heatmap visualisation using the *ampvis2* R package (version 2.7.13; 364). The visualization was performed on data grouped at phylum and genus level. The top 15 phyla and 30 genera were visualized. The remaining taxa were grouped in the “Remaining taxa” row. A similar heatmap graph was produced using a subset of specific high impact families. The high impact families selected were *Campylobacteraceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillaceae* and *Staphylococcaceae*.

2.4.9 Statistical analysis.

Normality was verified through a Shapiro-Wilk test. A Student T test was used to compare each sample type between farms for both TAM and *Enterobacteriaceae* counts. The same test was applied between samples collected before and after the passage of animals without considering the farm to determine if animal's passage through the value chain significantly contaminate it. A Wilcoxon test was also performed between the two farms regardless of sample type instead of a Student T test due to non-normality of the data after grouping the different types of samples in one group for each farm. For regulation purposes (365) microbial quality is determined by a three-class sampling plan where a specific microbial concentration threshold is used to determine the end of shelf life. Samples with cell counts closer to that threshold limit represents a greater microbial food safety risk as defined by the Microbiological Risk Assessment Guidance for Food (366, 367) Test on grouped samples was performed for samples collected before and after the passage of animals. The carcass inspection data collected for each expedition (demerit, condemnation, full stomach, and bloated viscera) were compared between farm through a Student T test and a Student T test was used to compare volatile fatty acids in the feces.

The 16S rRNA gene sequences were categorized based on farm, sample type (all the 12 different sample types collected), sampling location (farm, evisceration and cut-out) and expedition weeks (expedition 1, 2 and 3). Differential abundance analysis was performed for the genera and families composing the microbiota subset of *Campylobacteraceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillaceae* and *Staphylococcaceae* families between farms with the ANCOMBC R package (version 1.4.0; 368). A zero cut of 1 (no genera excluded), 1000 iteration, a conservative variance estimate, FDR adjustment of p values, structural zeros and negative lower bound zeros were parameters used to help control false discovery rate and increase robustness of analysis.

Alpha diversity (within sample) was calculated on non-normalized data with phyloseq (version 1.30.0). The species richness was evaluated with the Observed and Chao1 index and evenness with the Shannon and Simpson index. A Student T-test was used to compare each sample type between farms. To evaluate difference between sample type diversity, a Tukey HSD test was performed between all the samples using the agricolae R package (version 1.3-5).

Beta diversity (between samples) was calculated on the normalized ASV counts using the unweighted and weighted UniFrac distances (369) and the Bray-Curtis dissimilarities (370) with the phyloseq R package (version 1.38.0). Data was normalized by performing the Hellinger transformation (371) using the decostand function of the vegan R package (version 2.5-7). Principal coordinate analysis (PCoA) was used to visualize the distances using ampvis2 (version 2.7.13). Permutational analysis of multivariate dispersions (PERMDISP) was used to test the homogeneity of dispersion for each metadata category using the betadisper function of the vegan R package. Since heterogeneity of dispersion was confirmed, analysis of similarities (ANOSIM) was done as it is not affected by dispersion of data. It was performed using the anosim function of the vegan R package with 9,999 permutations to analyze the unweighted and weighted UniFrac distances and the Bray-Curtis similarities for farm, sample type, sampling location and expedition weeks.

Linear discriminant analysis effect size (LEfSe) method was performed on non-normalized data (raw ASV counts) using the microbiome analyst platform (372). Genera that had a higher relative abundance across the value chain in one of the farm groups were identified by LEfSe using the Kruskal-Wallis test, and the size effect of each of these genera was calculated using linear discriminant analysis (373). A linear discriminant analysis (LDA) score ($\log_{10}$) of 1.0 was the cut-off for the identification of biomarkers. LEfSe was also applied between farm specifically to the feces

samples to identify bacteria that could be linked to volatile fatty acid production. A LDA score cut-off of 2 was used for the feces analysis.

Microbial source tracking was achieved with the software SourceTracker (version 1.0.1) and the default parameters (374). A rarefaction value of 1000 reads and an alpha 1 and 2 of 0.001 were used as per the default parameters. Samples collected along the value chain were assigned as source and the shoulder samples were assigned as sinks to infer the source of contaminants on the meat cut ready for commercialization. In order to quantify how many ASV were shared between the animal microbiota (Fc and Sa), the resulting carcasses samples (Dc and Cc) and the final product (S), a Venn diagram of these 5 different samples was plotted using the venn R package (version 1.10). A p value cut-off of 0.05 for significant difference was used for all statistical tests.

2.5 Results

2.5.1 Microbial counts from the slaughterhouse environment.

At the beginning of each processing days (before the passage of the animals), most of the samples collected in the plant had microbial counts (TAM and EB) around or below detection level for all sampling weeks no matter the farm (Fig. 7; ≤ 2.48 log CFU/300 ml or cm²). The only exception was the drain at evisceration which had a TAM mean of 5.17 ± 1.58 and 2.96 ± 0.24 log CFU/300 ml and an EB mean of 3.93 ± 1.35 and 2.88 ± 0.70 log CFU/300 ml for farm-L and farm-H status farm, respectively. When comparing between farms, no significant difference ($p < 0.05$) was detected for any of the sample microbial counts (Fig. 7). There was only a marginal difference for the cold carcasses TAM counts ($p = 0.067$), where farm-L had a mean of 4.96 ± 0.24 log CFU/300 cm² and farm-H a mean of 4.48 ± 0.23 log CFU/300 cm². When looking at carcass and meat samples (Dc, Cc and S), TAM counts were on a downward trend reducing as the meat samples were taken further down the processing lines going from a mean of 4.78 to 4.48 to 3.08 log CFU/300 cm² for farm-L, and 4.96 to 4.76 to 3.38 log CFU/300 cm² for farm-H. Yet, EB do not follow this trend and go upward on shoulder samples after overnight refrigeration from a mean of 1.59 to 1.33 to 2.52 log CFU/300 cm², for farm-L and 1.71 to 1.43 to 1.97 log CFU/300 cm² for farm H. The difference between the two farms were not significant, but Fig. 7 suggest that counts were more often numerically superior for farm-L compared to farm-H. To determine if this visual observation was statistically significant, samples were grouped regardless of sample type for every sample collected after the passage of the animals which were

then compared between farms. Another group was formed for every sample collected before the beginning of the processing day, as they were not influenced by farm. These were compared against one another to evaluate if the preoperational cleanliness of the slaughterhouse varied between farms. Grouped data was not normally distributed. as such, a Wilcoxon rank sum test was performed (Table 4) and yielded no significant difference ($p < 0.05$) between farms which confirm that preoperational cleanliness was similar throughout the experiment. Only EB were more important after the passage of the animals and showed a significantly different between the two farms (Wilcoxon rank sum test; $p = 0.025$).

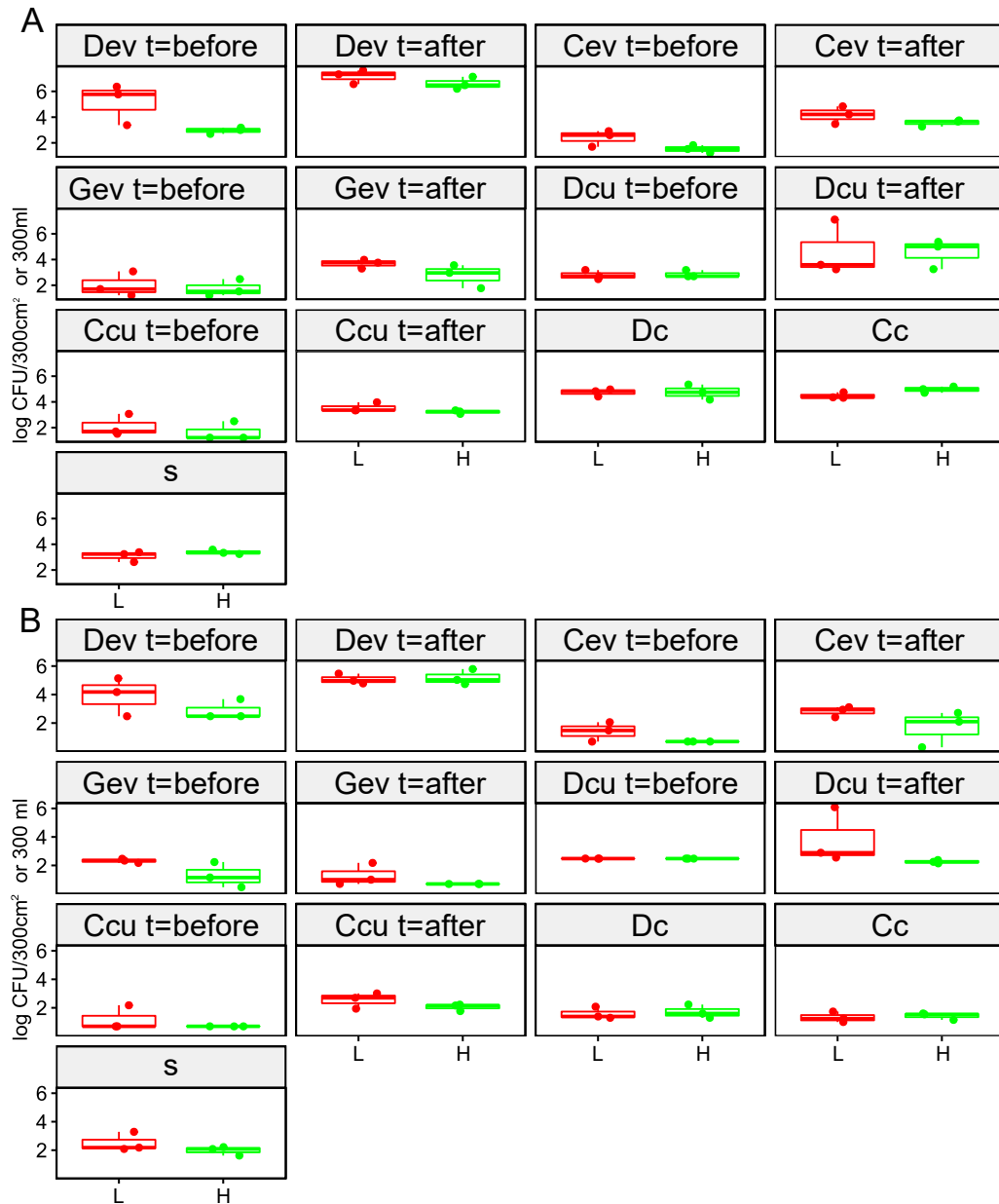


FIG 7 Total aerobic mesophilic (A) and *Enterobacteriaceae* (B) counts in log CFU/300 cm² or 300 ml for samples taken from farms with the lower (L; red) or the higher (H; green) sanitary status. Samples were collected from Air=Ar, Feces=Fc, Saliva=Sa, Feed=Fe, Drain at evisceration=Dev, Blood collection gutter=Gev, Conveyor at evisceration=Cev, Dressed carcasses (after blast chilling)=Dc, Cold carcasses (after overnight refrigeration)=Cc, Drain at cut-out=Dcu, Conveyor at cut-out=Ccu, Shoulder=S. At t=0 means on the clean production line and t=after means after the passage of the last animal from the studied farm. The detection level for drain samples was ≤ 2.48 log CFU/300 ml for TAM and EB. For the other samples, it was ≤ 1.22 log CFU/300 cm² for TAM and ≤ 0.70 log CFU/300 cm² for EB.

TABLE 4 Total aerobic mesophilic and *Enterobacteriaceae* counts regardless of sample types (CFU/300cm² or 300 ml $\pm$ SEM).

	Preoperational cleanliness ^a			Farm ^b		
	Summer	Fall	<i>p</i> value ^c	Lower	Higher	<i>p</i> value ^c
Total aerobic mesophilic	2.89 $\pm$ 0.378	2.15 $\pm$ 0.199	0.134	4.44 $\pm$ 0.284	4.23 $\pm$ 0.264	0.606
<i>Enterobacteriaceae</i>	2.29 $\pm$ 0.415	1.95 $\pm$ 0.473	0.350	2.76 $\pm$ 0.273	2.20 $\pm$ 0.266	0.025

^a Samples collected at the end the of preoperational procedures just before the passage of the first animal.

^b Samples collected just after the passage of the animals under study; this includes carcass/shoulder samples.

^c *p* value calculated by a Wilcoxon Rank sum (W) test is deemed significant at a value of 0.05.

As expected, after the passage of the animals, the environmental samples gained a significant amount of CFU (Fig. 8). For TAM counts, the increase was significant ($p < 0.05$) for every samples. For EB counts, the blood collection gutter (Gev; $p = 0.08$) and the drain at cut-out (Dcu; $p = 0.4$) were not significantly different ($p < 0.05$) from the sample collected on a clean processing line. The gutter was mainly collecting blood and the drain was fed with very hot water.

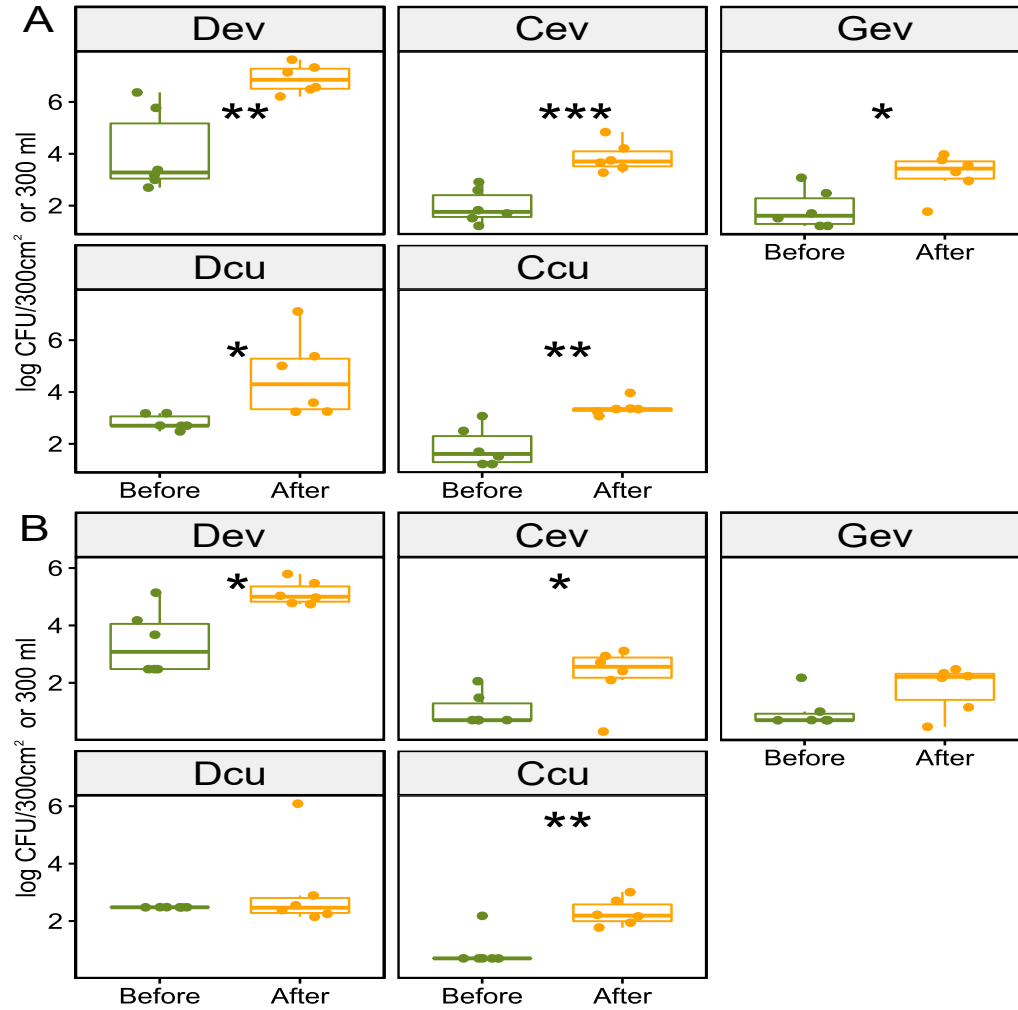


FIG 8 Total aerobic (A) and Enterobacteriaceae (B) counts of environmental samples in log CFU/300 cm² or 300 ml before and after the passage of animals under study; results from both farms were pooled. Significant difference between the samples is highlighted with *: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$ according to a Student T test. Samples were collected from Drain at evisceration=Dev, Blood collection gutter=Gev, Conveyor at evisceration=Cev, Drain at cut-out=Dcu, Conveyor at cut-out=Ccu.

2.5.2 Carcass inspection data

Various non microbiological data were collected by inspectors to assess carcass weight and any potential defect. Of these data, frequency of demerit (abscess, lymphadenitis, bruises, etc.) and condemned carcasses (dead animal at reception, large and widespread abscesses, peritonitis, icterus, etc.), stomach size (in terms of feed withdrawal efficacy) and bloated viscera were obtained (data not shown). No significant difference was observed for any of the inspection data collected when compared with a student T test ($p < 0.05$) between the animal coming from farms with a different sanitary status.

2.5.3 Volatile fatty acids

Volatile fatty acids were measured in the feces from each of the sampled animals of both the lower and higher sanitary status farms. Acetic, propionic, isobutyric, butyric, isovaleric and valeric acid concentration were measured for each of the individual animals and compared between farms (Table 5). Acetic acid had the highest concentration but yielded no significant difference between farms. The second most abundant volatile fatty acid was propionic acid which had a significantly ($p < 0.05$) higher mean in feces from farm-L then the ones from farm-H. Not far behind, is butyric acid who had a higher concentration in lower sanitary status samples. Valeric acid was also significantly higher in lower sanitary status farms whereas isovaleric and isobutyric acids had no significant difference. These results are supported by LEfSe analysis ($p < 0.05$, LDA score cutoff of 2) where the presence of higher abundance of specific genera known to produce volatile fatty acids were identified amongst the feces microbiota from animals originating from farm-L (Fig. S1).

TABLE 5 Mean volatile fatty acids concentration ($\mu\text{g/g} \pm \text{SEM}$) in feces of swine coming from different sanitary status farms.

	Farm-L	Farm-H	<i>p</i> value ^a
Acetic acid	3755.77 $\pm$ 83.75	3889.18 $\pm$ 130.82	0.3859
Propionic acid	2295.37 $\pm$ 70.69	1923.44 $\pm$ 78.84	0.0006
Isobutyric acid	239.48 $\pm$ 8.99	255.89 $\pm$ 12.15	0.2738
Butyric acid	2111.15 $\pm$ 81.40	1205.69 $\pm$ 64.37	<0.0001
Isovaleric acid	436.80 $\pm$ 18.93	468.02 $\pm$ 25.78	0.3252
Valeric acid	375.83 $\pm$ 18.28	307.49 $\pm$ 17.12	0.0071

^a *p* value calculated by a student T test is deemed significant at a value of 0.05.

2.5.4 Analysis of the swine value chain microbiome using 16S rRNA gene amplicon sequencing.

A total of 2 796 651 filtered reads (38 842 reads on average per sample) were analyzed. From these reads, 17 phyla and 1684 genera were identified (Fig. 9 and 10). The main phyla identified were *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidota*, *Actinobacteriota* and *Fusobacteriota* (Fig. 9). *Proteobacteria* were detected in every sample (between 0.2-90.7%), mostly in the slaughterhouse samples and marginally in air and feces samples (<2.5%). *Firmicutes* were identified in all samples (between 4.8-94%) mostly in air, saliva and feces samples and in a low percentage on dressed and cold carcasses (<10%). *Bacteroidota* were found across all samples (between 0.7-37.5%). They were a major component of the microbiota of feces and shoulder samples and are almost absent from air and the feed of the farm-L (<2%). *Actinobacteriota* are mainly found on dressed and cold carcasses (between 18-30%) and sporadically (<15%) across all the value chain. *Fusobacteriota* are found mainly on environmental surface samples (Gev, Cev, and Ccu; between 7-22%) and shoulder samples (S; lower sanitary status 17.2% and higher 14.9%). One point to note is that filtration and removal of order *Chloroplast* and the family *Mitochondria* both belonging to the *Cyanobacteria* phylum meant removing more than 87.3% and 98.8% of reads in the feed samples of farm-L and H, respectively. This resulted in an average of 7958 and 692 reads in feed samples of farm-L and H, respectively. While this is not quantitative, a difference of over ten times more reads could point towards a higher bacterial contamination of the feed collected at the lower sanitary status farm.

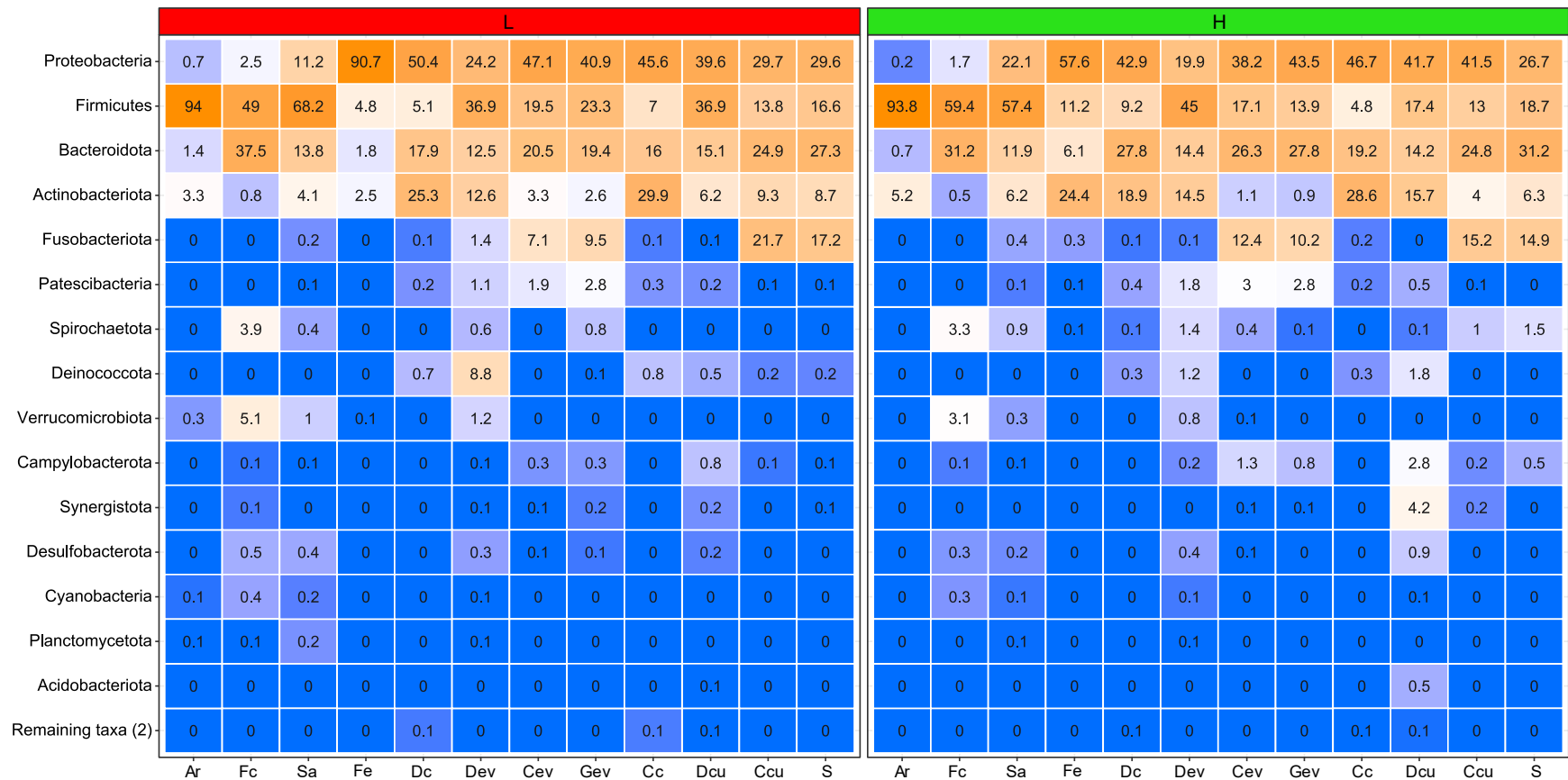


FIG 9 Top 15 phyla were identified in relative abundance (%) in each of the different sample types for both farms using the SILVA data base. Color gradient ranges from blue=0 % to orange= 100%. Samples were collected from Air=Ar, Feces=Fc, Saliva=Sa, Feed=Fe, Dressed carcasses (after blast chilling)=Dc, Drain at evisceration=Dev, Conveyor at evisceration=Cev, Blood collection gutter=Gev, Cold carcasses (after overnight refrigeration)=Cc, Drain at cut-out=Dcu, Conveyor at cut-out=Ccu, Shoulder=S. Low sanitary status=L (red), High sanitary Status=H (green).

Looking at the genera level, there was only one genus, *Streptococcus*, found across all samples, other ones were more abundant in specific samples (Fig. 10). The most abundant genus across all samples was *Acinetobacter*. These bacteria were found mostly on the surface of dressed and cold carcasses (between 19-27% of relative abundance), but could be detected with a lower abundance across all slaughterhouse samples. They shared with *Rothia* and *Moraxella* most of the abundance on dressed and cold carcasses. *Rothia* were identified almost exclusively on carcasses (between 14-25%) and in the saliva. *Moraxella* followed a similar dissemination pattern where they were highest on carcasses, but instead of being mostly confined to such an environment, they could also be found in saliva and on the surfaces at the evisceration (between 4-9%). Another high abundance genus was *Clostridium* (*Clostridium_sensu_stricto_1*) which was present in high abundance in air samples (20.5 and 60.2% for farm-L and H, respectively) and in lower abundance in saliva (<11.5%). Another indicative group of genera were the *Fusobacterium*, *Porphyromonas* and *Bacteroides*. They were mainly recovered on surfaces (Cev, Gev and Ccu) and the shoulder. They varied on the shoulder conveyor (Ccu) and the shoulder samples depending on the farm sanitary status where *Fusobacterium* and *Bacteroides* had a higher relative abundance for the lower sanitary status and *Porphyromonas* for the higher sanitary status samples. *Streptococcus* was the only genus found across the whole value chain although in low abundance (<5.8%) and which further differentiated genus from the farm-L air samples (20.8%) compared to H air samples (3.6%). *Pseudomonas* was also an interesting genus as its distribution varied heavily from samples to samples. In the feed (Fe), it was more abundant for the lower status farm (16.0 and 4.6% for farm-L and H, respectively), but on the shoulder conveyor, it was the opposite (3.7 and 15.4% for farm-L and H, respectively). Another genus differentiating the sanitary status of the farm was *Anoxybacillus*. This genus had a relative abundance of 28.5% in the farm-L samples and 1.2% in the farm-H samples collected in the drain of the cut-out section. The *Anoxybacillus* high mean relative abundance in farm L was caused by a sporadic contamination of one sample which was consistent with the abnormally high plate counts for TAM and EB in the same contaminated sample (Fig. 7; Dcu; t=after).

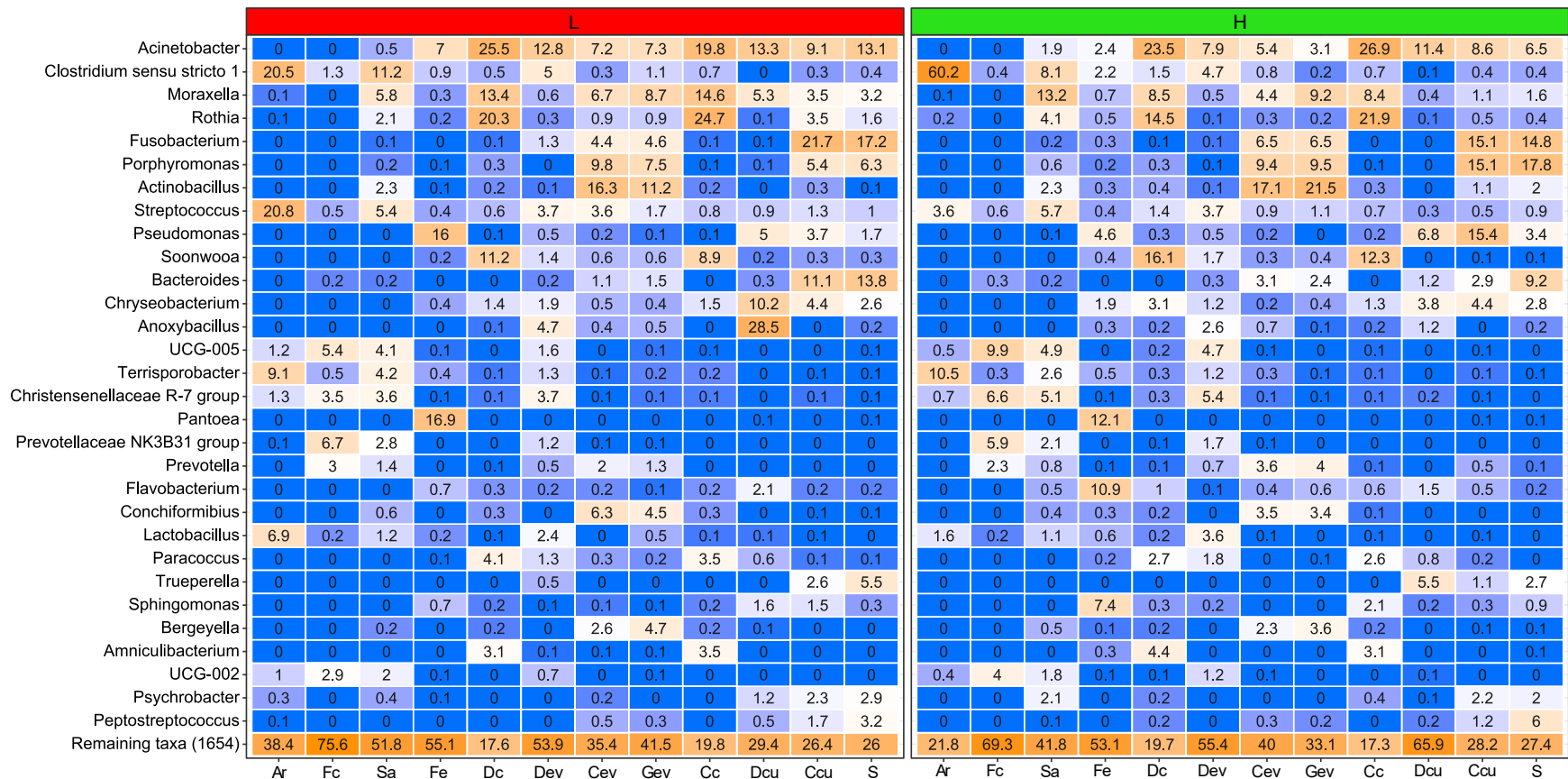


FIG 10 Top 30 identified genera in relative abundance (%) in each of the different sample types for both farms using the SILVA data base. Color gradient ranges from blue=0 % to orange= 100%. Samples were collected from Air=Ar, Feces=Fc, Saliva=Sa, Feed=Fe, Dressed carcasses (after blast chilling)=Dc, Drain at evisceration=Dev, Conveyor at evisceration=Cev, Blood collection gutter=Gev, Cold carcasses (after overnight refrigeration)=Cc, Drain at cut-out=Dcu, Conveyor at cut-out=Ccu, Shoulder=S. Low sanitary status=L (red), High sanitary Status=H (green).

Certain bacterial families are of high importance in the pork value chain from a meat safety point of view for their capacity to spoil meat or for their beneficial effect on meat shelf life. Five of those families, namely *Campylobacteraceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillaceae* and *Staphylococcaceae* were subset off the main data and the relative abundance of the genera inside this subsample are presented in Fig. 11 (*Listeriaceae* were looked for, but were not detected in this study). Differential abundance analysis between farms was performed using the *analysis of compositions of microbiomes with bias correction* methodology (ANCOM-BC) on the raw read counts of each families and the genus composing them. None of the families were differentially abundant. *Campylobacteraceae* were found mostly in feces, on evisceration conveyor and gutter, and shoulder samples. *Carnobacteriaceae* were mostly detected at cut-out, but are found across the value chain, with traces in feces and feed. *Enterobacteriaceae* were uncovered in all samples, but only in traces in air samples. *Lactobacillaceae* were identified in highest abundance in air, feces, saliva, the evisceration drain and on carcasse surfaces. *Staphylococcaceae* were found across the value chain, but only in trace amounts in the feces and the drain at evisceration. The same analysis was performed at the genus level. *Allicoccus*, *Atlantibacter*, *Companilactobacillus*, *Corticoccus*, *Cronobacter*, *Mamalicoccus*, *Serratia*, *Salinicoccus*, *Salmonella*, and *Weisella* ($p < 0.001$) were significantly more abundant in the farm L samples. The only genera more abundant in the farm H samples was *Lacticigenium* ($p < 0.001$; Fig. S2).

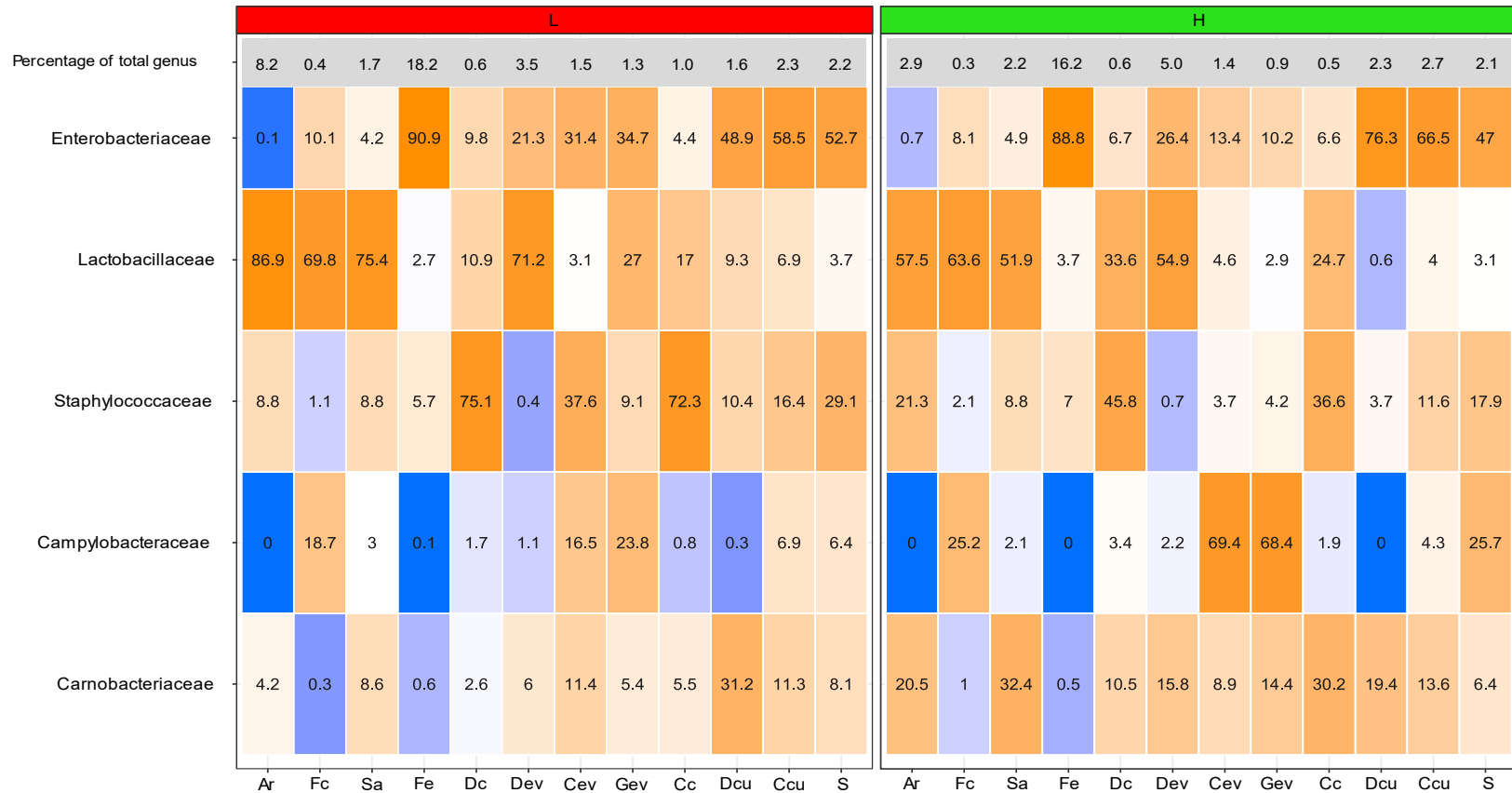


FIG 11 Campylobacteraceae, Carnobacteriaceae, Enterobacteriaceae, Lactobacillaceae and Staphylococcaceae in relative abundance (%) amongst themselves calculated for each of the different sample types for both farms. The top row indicates the percentage these five families represent in the total microbiota. Color gradient ranges from blue=0 % to orange= 100%. Samples were collected from Air=Ar, Feces=Fc, Saliva=Sa, Feed=Fe, Dressed carcasses (after blast chilling)=Dc, Drain at evisceration=Dev, Conveyor at evisceration=Cev, Blood collection gutter=Gev, Cold carcasses (after overnight refrigeration)=Cc, Drain at cut-out=Dcu, Conveyor at cut-out=Ccu, Shoulder=S. Low sanitary status=L (red), High sanitary Status=H (green).

The alpha diversity indexes confirm what could be observed in Fig. 9 and 10. There was a significant difference ($p<0.05$) between farms for air, where farm-L had a more diverse and even microbiota than for the samples coming from the higher sanitary status farm (Fig. 12; Observed, Shannon, Simpson). Feed from farm-L had a higher Observed index (simple counts of species), but it was inversed for Shannon and Simpson indexes. This indicate that there were fewer total species in the farm-H samples, but that they are significantly more evenly distributed than for the farm-L samples. A tendency ($p=0.08$) was obtained on the shoulder samples where farm-L had a higher total count of species compared to the farm-H. A Tukey HSD test ($p<0.05$) was realized between all the samples regardless of sanitary status (Fig. 12) in order to evaluate diversity variation in the slaughterhouse. A clear downward trend was observed as animals progress through the value chain. Saliva and evisceration drain had the highest number of taxa, while feed samples had the lowest for the Observed index. When accounting for rare non-observed taxa (Chao1), evisceration drain remained the sample with the highest diversity with saliva as a close second and feed the lowest. In both Observed and Chao1 indexes, meat samples (Dc, Cc and S) had a lower diversity akin to air samples which for observed species goes down as samples progress along the value chain, while for Chao1 diversity was similar between carcasses but goes down sharply for the shoulder samples. Shannon diversity was not significantly different between feces, saliva, and environmental samples at the slaughterhouse (Fc, Sa, Dev, Gev, Cev and Dcu; letter a) as they had the highest diversity. The mean group included feed, dressed and cold carcasses, shoulder conveyor and shoulder (Fe, Dc, Cc Ccu and S). The lowest Shannon diversity was for the air samples. Simpson diversity had only one sample who is different from the rest, the air samples indicating a clear prevalence of a few taxa, namely the *Clostridium* in farm H and the *Clostridium* and *Streptococcus* in farm L (Fig. 10)

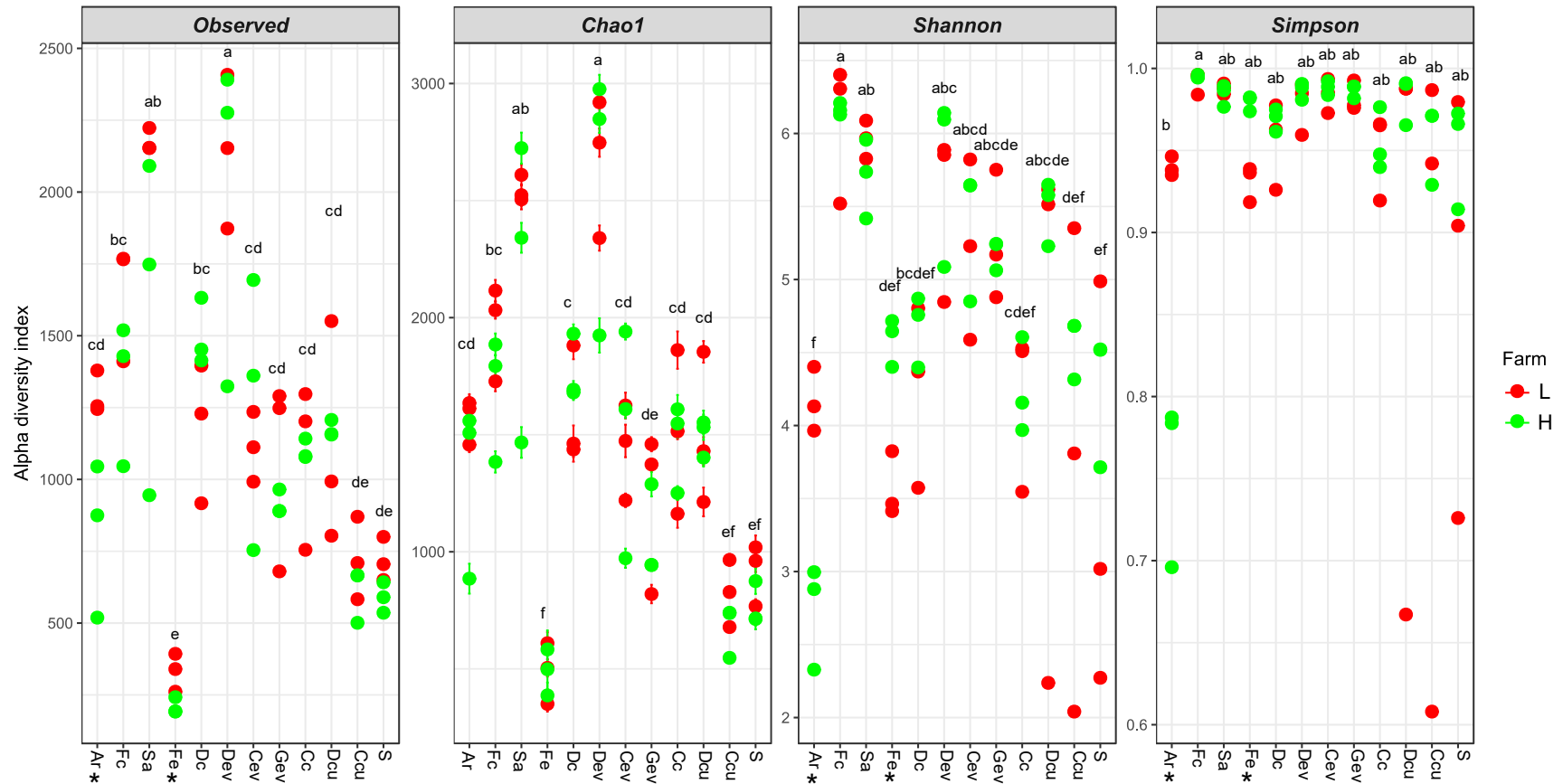


FIG 12 Alpha diversity indexes for richness (Observed, Chao1) and both richness and evenness (Shannon, Simpson). Significantly different sanitary status according to a Student T test ($p < 0.05$) are identified with * at the bottom of the graph. Significantly different samples are identified with different letters are significantly different according to a Tukey HSD test ($p < 0.05$). Samples were collected from Air=Ar, Feces=Fc, Saliva=Sa, Feed=Fe, Dressed carcasses (after blast chilling)=Dc, Drain at evisceration=Dev, Conveyor at evisceration=Cev, Blood collection gutter=Gev, Cold carcasses (after overnight refrigeration)=Cc, Drain at cut-out=Dcu, Conveyor at cut-out=Ccu, Shoulder=S. Low sanitary status=L (red), High sanitary Status=H (green).

Beta diversity analysis was conducted to visualize the differences between sample diversity and to identify which factor explains the structure of the swine value chain microbiota (Table 6). To do so, unweighted and weighted UniFrac distances and Bray-Curtis dissimilarities were visualized using a principal coordinate analysis (Fig. 13) and a ANOSIM test ($p < 0.05$) on the distance matrices. Both the UniFrac and the Bray-Curtis were selected due to the different information they provide. The UniFrac distances are calculated based on phylogenetic distances between the species composing the different samples and then weighted based on the abundance of the different species (weighted) or on a presence/absence value (unweighted). The Bray-Curtis distance is the difference between one sample and the other samples based on the relative abundance of each species in each sample. The ANOSIM test was selected instead of the more commonly used PERMANOVA because the heterogeneity of dispersion was significant when tested using PERMDISP test ($p < 0.05$). ANOSIM tests for similarities between factors and therefore is not affected by dispersion. Across all distance measures, sample type and localization (farm vs evisceration vs cut-out samples) were significant ($p < 0.0001$) while, farm and lot (expedition week 1, 2 and 3) were not. Sample type had the highest R value indicating that it explained the largest amount of the samples microbiotas variations. Each sample had a unique microbiota, they then regrouped themselves based on their localization. This secondary grouping is defined by the unique microbiota at the farm, the evisceration, and the cut-out. In all distance metrics, samples were mostly distributed along the principal coordinate 1 (PCo1) according to their localization, indicating that a distinct microbiota exists at the farm which is replaced and uniformized as samples progress along the value chain. The only exceptions were the drain at evisceration (Dev) and the feed (Fe) samples. The Dev samples were split between both farm and slaughterhouse (evisceration and cut-out) samples and the Fe sample had a closer microbiota to the slaughterhouse samples than the farm samples. Principal coordinate 2 (PCo2) and principal coordinate 3 (PCo3) seems mostly linked to dissimilarities between the different samples. When considering only abundance (A and B), the PCo2 microbiota were mostly influenced by the dissimilarities between surface samples at evisceration (Cev and Gev), which is maximal toward drain at cut-out. For the PCo3 dissimilarities between carcasses (Dc and Cc) and the rest of the slaughterhouse samples were apparent. When only considering phylogeny (C and D), the PCo2 microbiota were mostly influenced by a dissimilarity between feed and the other slaughterhouse samples. For the PCo3 dissimilarities between the drain at cut-out and the rest of the value chain samples were expressed. When both abundance and phylogeny is considered (E and F), the PCo2

samples were distributed mostly along their similarities to air or surface samples at evisceration (Cev and Gev). For the PCo3 lesser variation are presented (axis is narrower) as such minor difference between feces and air were presented.

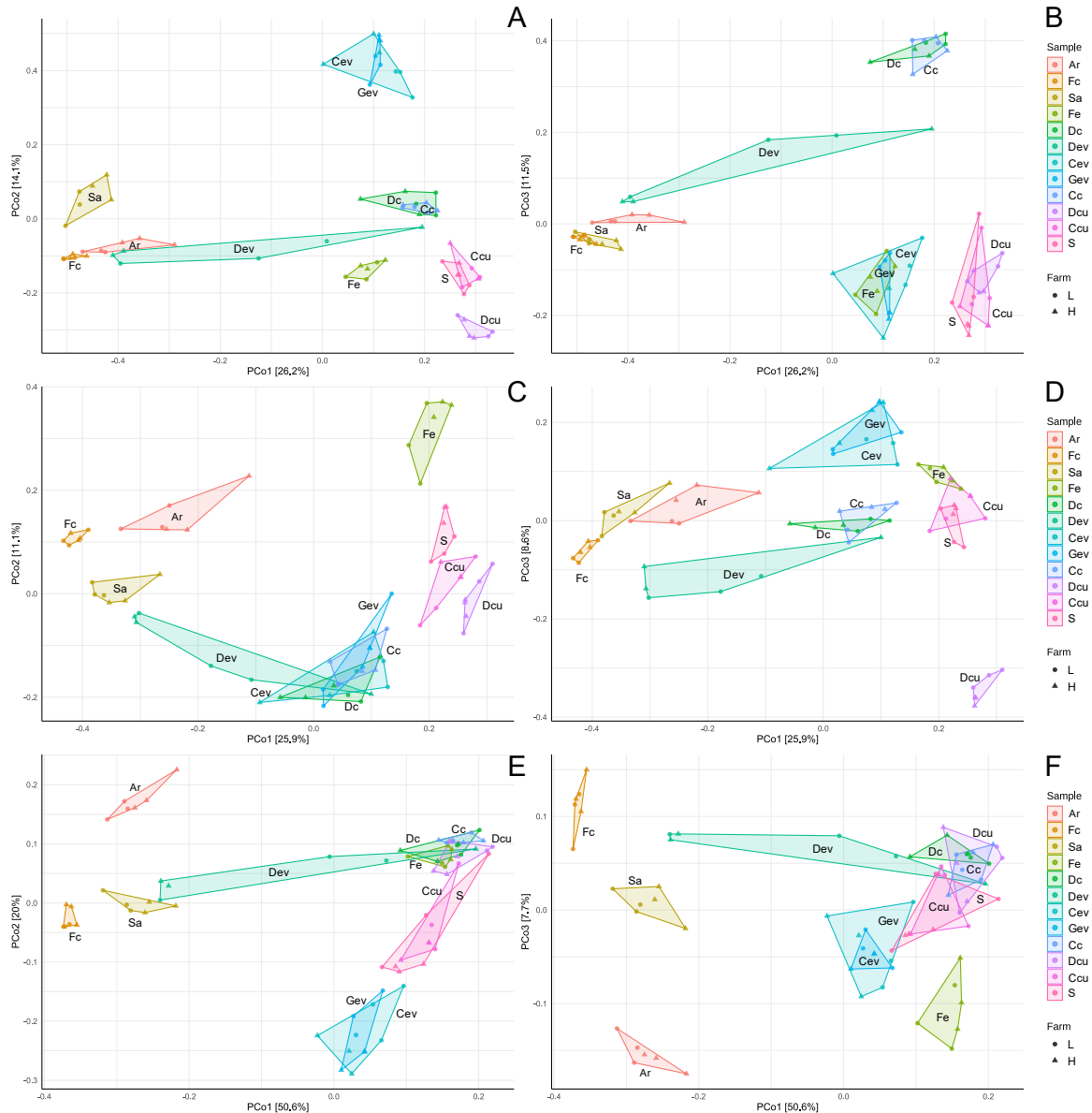


FIG 13 Principal-coordinate analysis plots of Bray-Curtis dissimilarities (A, B), unweighted UniFrac distances (C, D), and weighted UniFrac distances (E, F) classified by sample types. The right side (A, C, E) are the axis 1 and 2 and the left side (B, D, F) are axis 1 and 3. Samples were collected from Air=Ar, Feces=Fc, Saliva=Sa, Feed=Fe, Dressed carcasses (after blast chilling)=Dc, Drain at evisceration=Dev, Conveyor at evisceration=Cev, Blood collection gutter=Gev, Cold carcasses (after overnight refrigeration)=Cc, Drain at cut-out=Dcu, Conveyor at cut-out=Ccu, Shoulder=S.

TABLE 6 Factors associated with the microbiome community structure of the swine value chain as measured using ANOSIM of the weighted and unweighted UniFrac distances and Bray-Curtis dissimilarities.

Parameter	Value					
	Weighed UniFrac		Unweighed UniFrac		Bray-Curtis	
	R	p value ^a	R	p value ^a	R	p value ^a
Sample type	0.871	0.0001	0.859	0.0001	0.896	0.0001
Localization ^b	0.449	0.0001	0.494	0.0001	0.589	0.0001
Farm	-0.012	0.6998	0.015	0.1653	0.015	0.1717
Expeditions ^c	-0.037	0.9999	-0.031	0.9948	-0.035	0.9978

^a Significant at a level of 0.05

^b Farm, vs Evisceration vs Cut-out samples

^c Expedition weeks 1, 2 and 3

Across all samples, no genera were associated significantly with either farm under standard LEfSe parameters ($p < 0.05$ and linear discriminant analysis score cut-off of 2). When the severity of the LDA score cutoff was lowered to 1, 12 genera are associated with either farm (Fig. 14). The genera *Flavobacterium* and *Eubacterium_saphenum_group* were associated to farm-H. Whereas *Anaevibrio*, *Mageeibacillus*, *Micrococcus*, *Megasphaera*, *Akkermansia*, *Selenomonas*, *Ewingella*, *Deinococcus*, *Bifidobacterium* and *Mitsuokella* were associated to farm-L. These genera represented a small percentage (<4.5%) of the total relative abundance with one notable exception, feed (8.3% for farm-L and 10.9% for farm-H; Fig. S3). Of the genera identified, only *Anaevibrio*, *Mageeibacillus*, *Micrococcus*, *Megasphaera*, *Akkermansia* and *Flavobacterium* were over the threshold of 1.5 LDA score. None of the genera identified here were over a LDA score of 2 indicating that while the Kuskal Wallis test list these bacteria as significantly more abundant in one of the classes, these genera had a low relevancy as biomarkers of the farms. Inversely this means that bacteria having a high impact on the value chain were not differently affected by the farm factor which is in line with the results of the ANOSIM analysis (Table 6)

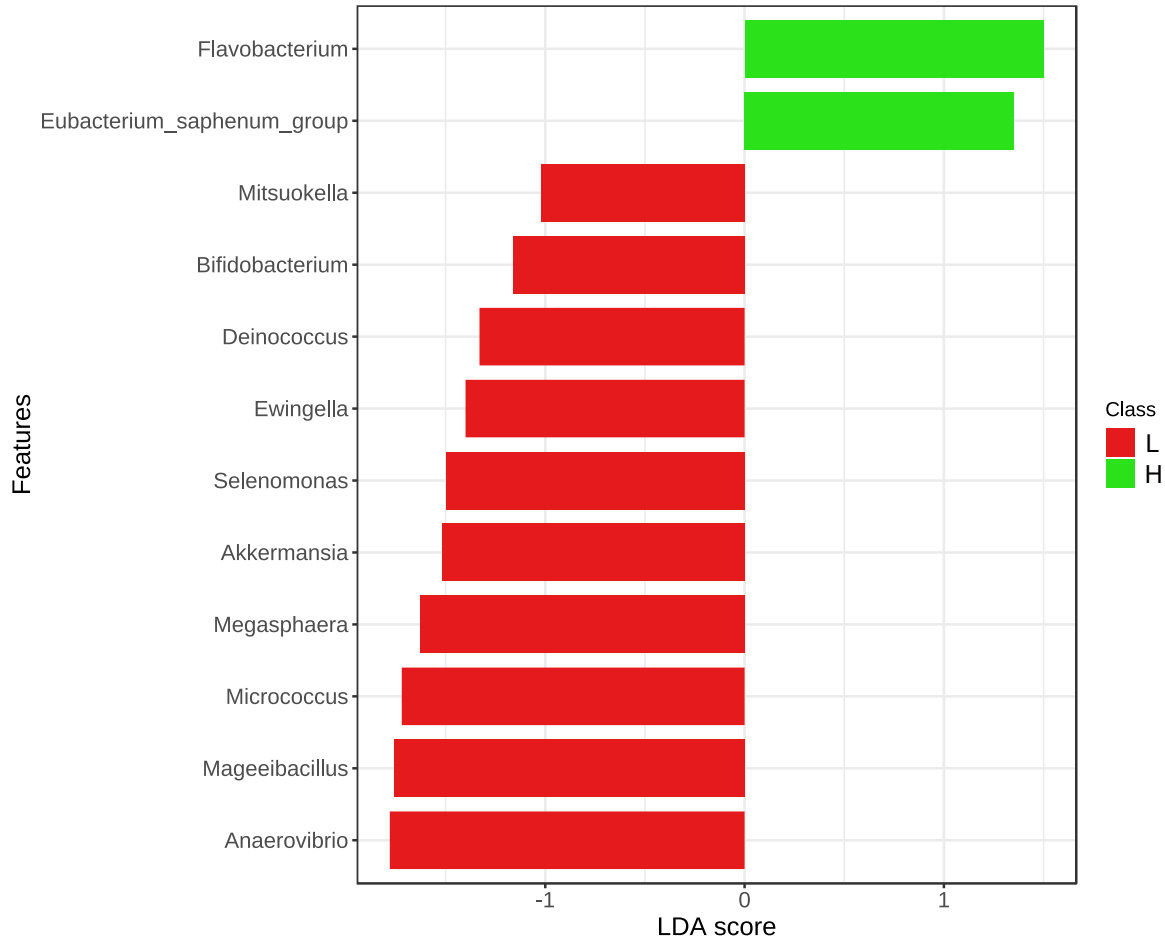


FIG 14 Differentially abundant genera for both farms (lower (L) and the higher (H) sanitary status) across all samples as assessed using linear discriminant analysis (LDA) with effect size (LEfSe) measurements. Only those genera with an LDA score (log₁₀) of >1.0 are displayed.

Source tracking was performed in order to infer the ecological source of the microbiota on the shoulders. This analysis was performed to evaluate the efficiency of the slaughterhouse procedures to control contamination of carcasses/meat samples. As Fig. 15 shows most of the microorganisms detected on the shoulder originate from the cold carcass (Cc; 79.57%). The farm sample (Ar, Fc, Sa and Fe) represent a total of 3.52% and environmental samples (Dev, Cev, Gev, Dcu and Ccu) 9.39%. When looking specifically at the animal microbiota (Fc and Sa) and its persistence on carcasses (Dc and Cc) and shoulder, 208 ASV are shared between those samples (Fig. S4). These ASV represent an average of 39.48% of the relative abundance on shoulders. Yet, they are mostly swayed, but a few ASV (2; *Fusobacterium*, 14; *Bacteroides* and 15; *Peptostreptococcus*, Table S1) which by themselves represent 21.15% of the relative abundance on shoulders on average. These microorganisms were most likely not introduced on shoulder by feces or saliva as they can be found

in high relative abundance in the environment of the value chain, while they are, but traces ($\leq 0.3\%$) in the feces, the saliva and the carcasses (Fig. 10, Fc, Sa, Dc, Cc) which the source tracker analysis agrees with.

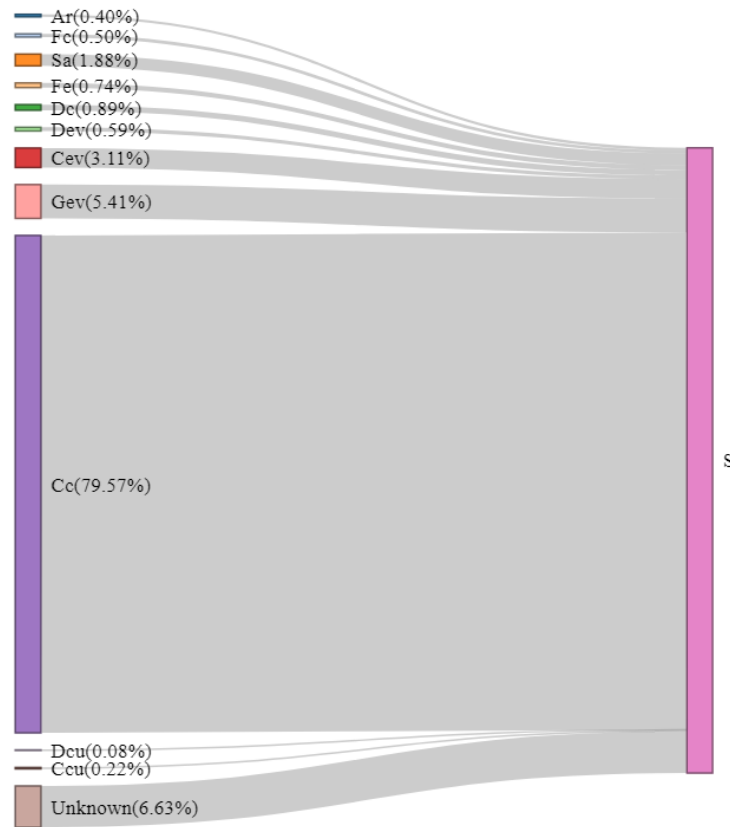


FIG 15 Flow diagram of the source of microorganisms on the shoulder samples. The proportion (%) that each source present on the shoulders is indicated in parenthesis. Samples were collected from Air=Ar, Feces=Fc, Saliva=Sa, Feed=Fe, Dressed carcasses (after blast chilling)=Dc, Drain at evisceration=Dev, Conveyor at evisceration=Cev, Blood collection gutter=Gev, Cold carcasses (after overnight refrigeration)=Cc, Drain at cut-out=Dcu, Conveyor at cut-out=Ccu, Shoulder=S.

2.6 Discussion

In this study, microbiota variation, in samples from farms to meat cuts, was compared between two different farms across the value chain. Bacteria were quantified with routine plate counts (total aerobic mesophilic and *Enterobacteriaceae*; Fig. 7 and 8). Samples collected before the passage of animals except for the drain at evisceration, had lower TAM and EB counts than the 2 to 6 log of CFU/cm² of TAM and not detected to 5 log of CFU/ ml of EB reported in the literature (38, 155, 375). This suggests that the pre-operational procedures at the slaughterhouse were effective and that the selected samples were from clean sections of the slaughterhouse. Both statistical analyses (T-test and Wilcoxon) of TAM and EB counts prior to the passage of animals, did not show any difference between both sampling moments (summer vs fall), demonstrating that pre-operational cleanliness was not a contamination contributing factor to discriminate the two farms, and did not influence contamination results after the passage of the animals. Moreover, DNA extraction and sequencing of these pre-operational samples, resulted in the recovery of very low concentration of DNA, and after sequencing, the quantities of reads were not in sufficient amount for a proper analysis. A much greater surface than 100 cm² would have to be sampled to obtain the required quantity of DNA.

Carcass and drain samples collected after the passage of the animals had similar numbers of TAM and EB compared to the 5 to 6 log of CFU/ml of TAM and 2 to 4 log of CFU/ ml of EB for drain samples and the 2 to 4 log of CFU/cm² of TAM and 1 to 3 log of CFU/cm² of EB for carcass samples reported in the literature (37, 106, 128, 376). The only exception were environmental surface samples that had lower TAM and EB compared to the 4 to 8 log of CFU/cm² of TAM and the 4 to 5 log of CFU/cm² of EB reported in the literature (37, 38, 375). Total aerobic mesophilic, *Enterobacteriaceae* and coliform counts increases on processing equipment over time (375). The results of this study point in the same direction when comparing sample before and after the passage of animals. As such, the low counts of surface samples could be explained by the relatively small lot sizes, where, with a speed line of 500 animals per hour, all the animals under study in all slaughter days were done in less than an hour. A bigger lot size could have contaminated the environment to the same level as what was reported in the literature. Comparison of TAM and EB counts between both farms were not significant on a per sample type basis suggesting that the process leads to similar microbial load no matter the farm. However, regulations based on a three-class sampling plan, where a threshold limit defines the end of shelf life, would consider a lot with superior numerical counts to be less favorable

in terms of food safety (366, 367). Hence, when samples are regrouped and analyzed with a Wilcoxon rank sum test ($p < 0.05$), it indicated that *Enterobacteriaceae* counts for samples originating from animals coming from farm-L were above those from farm-H more often. These results suggest that slaughter of animals originating from different farms leaves a similar number of bacteria, with respect to the aerobic mesophilic counts, but that when looking at specific subgroup of bacteria like, *Enterobacteriaceae*, different prevalence can be detected.

Twelve different sample types were collected across the value chain and analyzed with Illumina 16S amplicon sequencing. Sequencing of these samples revealed the microbial populations of the swine value chain for two different farms that the veterinarians in charge considered of differing sanitary status. On the one hand, LEfSe analysis (Fig. 14) associated 10 genera to farm-L; they were found across the value chain. On the other hand, the two genera associated with farm-H were mostly detected at the slaughterhouse (Fig. S3). The differentiating genera detected mainly at the farm (*Anaerovibrio*, *Megasphaera*, *Akkermansia*, *Selenomonas*, *Mitsuokella*, *Ewingella* and *Bifidobacterium*) are part of the commensal microbiota of swine while genera detected mainly at the slaughterhouse (*Mageeibacillus* and *Eubacterium saphenum* group) are mostly harmless environmental bacteria. However, some of those genera (notably *Micrococcus*, *Deinococcus* (formerly a micrococcus) and *Flavobacterium*) may have negative impacts with respect to meat safety and spoilage, because they include pathogens (*Micrococcus* and *Flavobacterium*) or in the case of *Deinococcus*, because it can survive extreme conditions (151, 377-383). Differentiating bacteria present mostly at the farm could be explained by different farm hygiene conditions which impact swine gut microbiota (384), feed contamination (385) and air microbes profile (386). The difference in air is likely explained by a broken ventilation in the housing building of the farm-H (said building was hit by lightning which fried the electrical panel, ventilation was working again by the end of the samplings). Conversely, variation in relative abundance of bacteria present at the slaughterhouse could be caused by a sporadic contamination, or the growth of a bacteria not detected at the farm, especially since pre-operational procedures were not a significant factor. Sporadic contamination does happen across the value chain (see Fig. 7; Dcu t=after and *Anoxybacillus* Fig. 10), but there could also be undetected bacteria at the farm that were favored by the condition of the slaughterhouse allowing them to grow and be detected. *Ewingella* and *Eubacterium saphenum* groups are good examples of genera identified in very specific parts of the

value chain by the LEfSe algorithm. Further investigations are required to identify other factor(s) influencing the slaughterhouse microbiota variations.

The LEfSe analysis differentiate bacteria associated significantly with each farm, but this analysis is nonspecific. As such we looked specifically for five bacterial families in this study, due to their high importance to the meat industry (45, 146, 227). The expected pork pathogens, namely *Campylobacter*, *Escherichia/Shigella*, *Salmonella* and opportunistic pathogen *Staphylococcus* (45) were detected across the value chain for both farms (Fig. S2). *Salmonella* was the only pathogen detected in a significantly higher abundance ($p < 0.05$) for farm-L. While significantly different, *Salmonella* was only identified in traces amounts (0.036% of the total abundance in feed for farm-L and 0.0045% of the total abundance on the conveyor at evisceration). It was found only in the feed of the farm-L and at the evisceration for both farms. This result is interesting as it ties in with the history of the farm-L that had a salmonellosis outbreak a month prior to sampling. *Escherichia/Shigella*, were detected at the farm mainly in saliva and feces at the farm and in environmental samples at evisceration (Dev, Cev and Gev). The same *Escherichia/Shigella* ASV detected in the saliva and feces were also found in the slaughterhouse environment (ASV168; Table S1). Only traces of *Escherichia/Shigella* are detected on carcasses and the resulting shoulder meat cuts, indicating that the processes at the slaughterhouse are efficient in reducing carcass contamination. However, *Campylobacter*, does not appear to be controlled with the same efficacy, since it is detected in animal samples and on the shoulder samples. However, the data revealed that the ASVs detected on shoulder samples were not the same as the ones from feces, saliva and drains (Dev and Dcu; Table S1). Instead, the ASV detected on shoulders were the same as the surface samples (Cev Gev and Ccu) suggesting that there is a contamination of *Campylobacter* ASVs from the slaughterhouse surface samples on to the shoulders. *Staphylococcus* are well-known members of the swine skin and nasal microbiota (45, 387-389). It is of no surprise that they were mainly detected in these samples. Furthermore, bacteria with a reported beneficial effect on meat preservation (344), like *Lactobacillus* and *Carnobacterium*, were also detected. *Lactobacillus* is present in higher relative abundance than any of the previously mentioned pathogens, mainly at the farm. Similarly to *Escherichia/Shigella*, this desirable bacteria persist throughout the value chain, the same *Lactobacillus* ASVs detected in air, feces and saliva are found in the drain at evisceration, on the dressed and cold carcasses, and on shoulders. *Carnobacterium* were detected almost exclusively at cut-out which indicates that these bacteria are residents of the slaughterhouse. These bacteria are almost absent on carcasses, but

can be detected in high amounts on shoulders. Interestingly, this genus along with many *Enterobacteriaceae* (Fig. S2; *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Buttilauxella*, *Lelliottia* and *Kluyvera*), replaced *Lactobacillus*, *Moraxella* and *Staphylococcus* on shoulder samples. This could explain why *Enterobacteriaceae* counts went up on shoulders instead of following the general downward trend of the total aerobic mesophilic counts after carcass breakdown.

The alpha diversity was measured across the value chain and showed significant difference between farms in air and feed samples (Fig. 12). In our samples taken from the air, farm-L had a mean of 1293 ± 75 unique ASV and a mean Shannon diversity of 4.17 ± 0.22 whereas farm-H had a mean of 813 ± 268 unique ASV and a mean Shannon diversity of 2.73 ± 0.36 (Fig. 12). This is higher than the 120 to 250 unique ASV and comparable or higher depending on the farm than the 3.2 to 3.5 Shannon diversity reported in air of swine housing buildings (23, 24). High alpha diversity in the air of swine confinement building has been linked to higher risks of detecting antibiotic resistance genes and pig opportunistic pathogens (22, 24). In this case, the high observed ASV counts compared to literature is caused by the difference in the analysis pipeline. In this study pooling of samples was done which helps detected rare ASV, but this measure has the side effect of inflating observed/ChaO1 alpha diversity. The alpha diversity of feed, to our knowledge, has not been reported in literature, but the significant difference between mash and pelleted feed are not novel. Since pelleted feed required a heat treatment to form the pellet (49, 288), it is not surprising that their microbial content varies compared to the mash feed. Indeed, mash feed is known to harbor higher bacterial counts than traditional hot pelleted feed (49, 292, 293). Mash feed is known to induce higher levels of short-chain fatty acids (SCFA; including lactic acid) in feces which in turn improve hematological profile of pigs and reduce ulceration, diarrhea levels, and *Salmonella* and *E. coli* shedding, but the tradeoff is a lessened growth and feed efficiency (289-293). For that reason, mash feed has been used to control diarrhea, as it was the case for the animals coming from farm-L. Hence, SCFA were measured in feces and the results obtained were similar to the ones reported in the literature (Table 5). Our result showed that the mash feed favored well known SCFA producing bacteria (Fig. S1; *Selenomonas*, *Anaerovibrio*, *Roseburia*, *Akkermansia* and *Clostridium*; (390-395). Our hypothesis is that these bacteria in turn generated a high concentration of SCFA in the digestive tract of affected swine. These SCFA may have helped stabilized the microbiota in feces of animals coming from farm-L resulting in a similar alpha diversity to the feces of farm-H as the producer and his veterinarian were

working at stabilizing the diarrhea prior to slaughter. This result confirms previous ones that using mash feed to control diarrhea is an effective method to modulate gut microbiota positively (289-293).

A principal coordinate analysis of the entire value chain reveals a significant effect of sample types and localizations. In figure 13, the microbiota of farm samples was different between each other (Sa, Fc, Ar), as such they were grouped in a loose fashion, on the left of every graph, apart from the remaining slaughterhouse samples. Feed is the only exception to this trend. Since most of the reads were filtered as they were of non-bacterial nature the small proportion of bacteria actually present in feed was highlighted. Those bacteria were more similar to those found at the slaughterhouse than at the farm. This could mean that bacteria able to resist the treatments used to produce the feed and the ones found at the slaughterhouse are closely related. Inversely, it could also be explained by the nature of feed contamination at the farm being of similar nature to the one happening in the slaughterhouse. As samples progresses along the value chain, differences between samples reduced, as evisceration samples are grouped closer together, and cut-out ones are tightly clustered, this is most evident when both phylogeny and abundance are considered (Fig. 13; E and F). Only the evisceration drain does not follow this trend, since some of the individual samples are similar to the air, saliva and feces samples and other ones are more analogous to the slaughterhouse samples. Certain samples may represent historical information by measuring microbial accumulation over time (396). The drain sample is one of them, and can harbor, more or less, farm microbes depending on the microbiota of animals slaughtered between the samplings. The drain at evisceration samples had a high microbiota variation, but the other samples were not as variable between expeditions as such the effect is not significant (Table 6). This result indicates that microbiota of animals sent to the slaughterhouse was homogeneous between the different sampling weeks.

The reduction in dissimilarity between samples from farm (Ar, Fc, Sa, Fe) to evisceration (Dc, Dev, Cev, Gev) to cut-out (Cc, Dcu, Ccu, S) samples, that can be observed in figure 13 is similar to the alpha diversity (Fig. 12; Observed, Chao1 and Shannon). Alpha diversity of these samples showed a decreasing trend along the value chain. This suggests that samples are becoming more uniform, the most evident case being carcasses and shoulder (DC, Cc and S). This progressive uniformization is partially explained by the heat treatment (scalding and singeing), and the subsequent dehairing and polishing steps (Fig. 6). These steps of the slaughter section remove a large portion of the skin microbiota which could be normalized further by the spreading of resident bacteria from the

slaughterhouse onto the carcasses (37, 96, 127, 352). In the literature, diversity goes down from arrival of animals at the slaughterhouse to singeing, then back up at the polishing step, and then it keeps going down until expedition. This indicates that polishing is a critical step in replacing the animal microbiota on the surface of the carcasses with resident bacteria from the slaughterhouse (37). Therefore, carcasses associated with farm-L or H end up closely related. The difference is further reduced by the refrigeration period (24 h at 4°C). This should favor the development of a more psychrophilic microbiota (37). This impact of the low temperature is not evident on carcasses, but on shoulders, some cold tolerant bacteria end up being detected as the whole cut-out section was kept below or around 10°C at all time (Fig. 10; *Pseudomonas*, *Psychrobacter*; (397, 398). Gill et al. identified, in multiple studies (91, 96, 97, 352), the impact of carcass breakdown. These steps of the value chain introduce multiple bacteria from the equipment and the manipulators on the resulting meat cuts further replacing any bacteria from the farm. Indeed, the source tracker analysis showed that only 12.92% of the microbiota on the shoulder samples were originating from farm or environmental samples (Fig. 15). Venn diagram showed that while the source of the microbiota on the shoulder was not originating from feces or saliva, the same ASV can be detected on the shoulder. Indicating that a common microbiota can be detected across the value chain (Fig. S4). All the slaughter, evisceration, and cut-out processes do not individually remove or replace all the farm microbes, but much like hurdle technologies, a combination of all these processes, reduce the impact of farm microbiota to the extent that only traces of the bacteria detected at the farm were present on the shoulder samples.

2.7 Conclusion

Evaluation of the microbiota within the pork value chain with both plate counts and 16S rRNA gene sequencing revealed the microbiota difference between two farms of differing sanitary status. Differentiation of the two farms was maximal with the samples taken at the farm and lessened as animals processed throughout the value chain. *Enterobacteriaceae* counts at the slaughterhouse were numerically superior more often when the animals came from farm-L and suggests contamination risks are greater if a specific threshold concentration is used to determine end of shelf life as it is the case with a three-class sampling plan. Sequencing of the 16S rRNA gene revealed the disparity, diversity and composition of bacteria associated with each farm. At the farm, most of the differentiating bacteria may be linked to volatile fatty acid production due to the difference in feed form. At the slaughterhouse, these bacteria are mostly absent, as such both farms yields very little compositional difference. The farm microbes were largely controlled by in-house operational procedures, to the extent that less than 4% of bacteria on the shoulders were inferred to be farm contaminants. The microbiota from both farms value chain is mainly differentiated by environment (air, feed, and slaughterhouse environmental samples) than the animals microbiota (Saliva, feces and carcasses). This study suggests that there might be a benefit to improve herd sanitary status to reduce the abundance of problematic enterobacteria like, *Salmonella* across the value chain. However, a broader study, including multiple farms of different sanitary status, should be undertaken to pinpoint the impact and the magnitude of the herd sanitary status on the commercial product knowing that many factors such as season, feed form and composition, housing conditions, preslaughter management etc. are also contributing factors.

2.8 Acknowledgement

This research is part of the Canadian Food Innovation Network (CFIN) science cluster and funded in part by the Government of Canada under the Canadian Agricultural Partnership's AgriScience Program, a federal, provincial, territorial initiative and by the *Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ)* as part of the *Chaire de recherche MAPAQ sur la qualité et la salubrité de la viande et des produits de viande transformée (Musculo)*. Sollio Cooperative Group was also a partner in this project. The authors thank the Institute of Nutrition and Functional Foods and the Institute of Integrative Biology and Systems for their technical assistance.

Conclusion générale

Le porc est une viande populaire dont l'importance pour l'économie canadienne est non négligeable. Les productions animales sont à risque de maladies et de contaminations microbiennes à toutes les étapes de leur chaîne de valeur. Chez le porc, lesdites contaminations peuvent entraîner des pertes de cheptel, l'altération des viandes et potentiellement des toxi-infections alimentaires chez le consommateur. Cependant, une diversité de mesures chimiques, physiques, microbiologiques, préventives et correctives permettent de contrôler ces microorganismes. Dans un contexte de réductions de l'utilisation des antibiotiques et de remaniement réglementaire récent au Canada, de nouvelles connaissances sont nécessaires pour pousser plus loin la salubrité des aliments et réduire le gaspillage alimentaire. Les technologies de séquençage de nouvelle génération commencent à être appliquées dans différentes sections de la chaîne de valeur du porc. Ce projet a permis, grâce au séquençage de l'amplicon du gène 16S, d'apporter de nouvelles connaissances du microbiome de la chaîne de valeur du porc en suivant, de la ferme à la pièce de viande, les mêmes animaux. Le but étant de répondre à l'hypothèse de recherche qui consistait à valider si le microbiote de porcs provenant de deux fermes avec des statuts sanitaires différents, ainsi que les microorganismes de leur environnement, influencent la composition microbienne de la chaîne de valeur, la contamination des usines et la qualité microbiologique des viandes.

Pour répondre à l'hypothèse de recherche, des échantillons ont été prélevés sur deux fermes lors de trois expéditions d'un même lot de production, puis à l'abattoir, et ce jusqu'à la pièce de viande (épaule). L'expérience a révélé que les animaux provenant de fermes différentes ont un microbiote différent, principalement à cause de la différence entre la forme de leur moulée, mais que celui-ci devient plus homogène au fur et à mesure que les animaux, la carcasse et ultimement la viande progressent tout au long de la chaîne de valeur. Le séquençage de l'amplicon du gène 16S a permis de caractériser le microbiote de la chaîne de valeur et de déterminer que dans tous les échantillons analysés, *Acinetobacter*, *Clostridium*, *Moraxella* et *Rothia* sont les genres qui prévalent. Ces analyses ont permis d'identifier deux facteurs significatifs affectant le microbiome de la chaîne de valeur, le type d'échantillon et l'endroit où ils ont été prélevés. De plus, la diversité alpha était significativement plus élevée dans l'air et dans la moulée de la ferme identifiée avec un statut sanitaire inférieur. L'analyse LEfSe a aussi permis d'identifier 12 biomarqueurs associés aux fermes dont la majorité est associée à la ferme dont le statut sanitaire a été identifié par les vétérinaires

comme étant plus faible. De plus, l'analyse *Sourcetracker* a permis d'inférer que le microbiome de la ferme a contribué seulement à 3.52 % des microorganismes présents sur l'épaule. À l'abattoir, les dénombrements microbiens ont permis de confirmer que les activités d'abattage et de découpe contaminent significativement l'environnement des abattoirs. Les dénombrements sur des milieux de culture ont permis de constater que la contamination des usines après les procédures préopératoires était autour ou sous le seuil de détection, ce qui indique que les procédures de nettoyage et de désinfection sont efficaces. De plus, l'usine, les carcasses et les pièces de viande sont significativement plus contaminées par des *Enterobacteriaceae* après l'abattage et la découpe de porc provenant de la ferme dont le statut sanitaire était inférieur. Ces résultats suggèrent que le microbiome est différent entre les deux fermes, mais que l'impact de celles-ci est largement contrôlé par les procédures en abattoir, où les carcasses et les pièces de viande ont un microbiote plus similaire en usine que celui à la ferme. L'impact du microbiome de la ferme sur la chaîne de valeur est complexe et varie selon un ensemble de paramètres qui méritent d'être étudié en profondeur par des méthodes moléculaires puissantes.

Ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives de recherche. Cette étude descriptive a permis de caractériser le microbiome de la chaîne de valeur du porc avec deux fermes dont le statut sanitaire était différent. Des différences ont été observées entre ces deux fermes. Il serait pertinent de poursuivre les travaux avec une étude à plus grande échelle avec suffisamment de fermes avec des statuts sanitaires différents pour en évaluer l'impact sur la contamination de l'usine et des produits. De plus, cette étude s'est concentrée uniquement sur le microbiote bactérien à l'aide de l'amplicon du gène 16S. En utilisant le séquençage de génomes entiers, on pourrait identifier l'entière population microbienne (archée, mycètes, virus, etc.) et évaluer d'autre dynamique microbienne sous-estimée dans cette étude. Le séquençage de génomes entiers permettrait aussi d'établir si le statut sanitaire joue un rôle sur la présence de gènes de résistances aux antibiotiques à travers la chaîne de valeur. Par ailleurs, la pièce de viande sélectionnée dans cette étude fut échantillonnée tout de suite après sa découpe. Cependant, le microbiote en surface de ces pièces de viande change avec l'entreposage réfrigéré. Il serait intéressant de déterminer s'il est possible de discerner un impact de la contamination initiale tout au long de cette durée de vie. Ainsi, cette étude a apporté un éclairage nouveau en suivant les mêmes porcs de la ferme à la pièce de viande. Une approche expérimentale similaire permettra d'évaluer l'impact de différents facteurs sur le microbiome de

l'abattoir et de la viande tels que la saison, les aliments pour le bétail (forme et composition), les conditions d'hébergement, la gestion préabattage, etc.

Bibliographie

1. Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE). 2021. « Consommation de viande » (indicateur). https://www.oecd-ilibrary.org/fr/agriculture-and-food/meat-consumption/indicator/french_edbce270-fr. Données extraite le 2021-01-07
2. Agriculture et Agroalimentaire Canada. 2018. Rapports de revenus et dépenses agricoles pour le marché des viandes rouges. <http://www.agr.gc.ca/fra/industrie-marches-et-commerce/reenseignements-sur-les-secteurs-canadiens-de-lagroalimentaire/viande-rouge-et-betail/information-sur-le-marche-des-viandes-rouges/revenues-et-depenses-agricoles/?id=1415860000018>. Consulté le 2019-03-08.
3. Canada S. 2020. Tableau 32-10-0126-01 Porcs, moutons et agneaux, production dans les fermes et production de viande. https://www150.statcan.gc.ca/t1/tbl1/fr/tv.action?pid=3210012601&request_locale=fr. Accessed 2021-01-14.
4. Agriculture et Agroalimentaire Canada. 2019. Exportations de viande rouge par pays. <http://www.agr.gc.ca/fra/industrie-marches-et-commerce/reenseignements-sur-les-secteurs-canadiens-de-lagroalimentaire/viande-rouge-et-betail/information-sur-le-marche-des-viandes-rouges/exportations/exportations-de-viande-rouge-par-pays/?id=1419965032803>. Consulté le 2019-03-15.
5. Huffman RD. 2002. Current and future technologies for the decontamination of carcasses and fresh meat. *Meat Science*. 62:285-294.
6. Painter JA, Hoekstra RM, Ayers T, Tauxe RV, Braden CR, Angulo FJ, Griffin PM. 2013. Attribution of foodborne illnesses, hospitalizations, and deaths to food commodities by using outbreak data, United States, 1998-2008. *Emerging infectious diseases*. 19:407-415.
7. Ramsay D, Delisle M-F. 2017. Bilan annuel 2014-2015 - Toxi-infections alimentaires. Québec. https://www.mapaq.gouv.gc.ca/fr/Publications/Bilan_Toxi-infection_2014-2015_Accessible.pdf. Consulté le 2019-05-08
8. Remenant B, Jaffrès E, Dousset X, Pilet M-F, Zagorec M. 2015. Bacterial spoilers of food: Behavior, fitness and functional properties. *Food Microbiology* 45:45-53.
9. Zagorec M, Champomier-Vergès M-C. 2017. Chapter 6 - Meat Microbiology and Spoilage, p 187-203. In Toldra F (ed), *Lawrie's Meat Science* (8th Edition). 730 p. Woodhead Publishing. Duxford, United Kingdom
10. Zweifel C, Stephan R. 2014. Chapter 16 - Microbial Contamination During Slaughter, p 423-438. In Thimjos Ninios JL, Hannu Korkeala and Maria Fredriksson-Ahomaa (ed), *Meat Inspection and Control in the Slaughterhouse* (1st Edition). 700 p. John Wiley & Sons. Hoboken, United States.
11. Hurd HS, Brudvig J, Dickson J, Mirceta J, Polovinski M, Matthews N, Griffith R. 2008. Swine Health Impact on Carcass Contamination and Human Foodborne Risk. *Public Health Reports* 123:343-351.
12. Vigors S, O' Doherty JV, Sweeney T. 2020. Colonic microbiome profiles for improved feed efficiency can be identified despite major effects of farm of origin and contemporary group in pigs. *Animal* 14:2472-2480.
13. Stärk K, Miserez R, Siegmann S, Ochs H, Infanger P, Schmidt J. 2008. A successful national control programme for enzootic respiratory diseases in pigs in Switzerland. *Revue scientifique et technique* 26:595-606.
14. Fosse J, Oudot N, Laroche M, Rossero A, SEEGER S, H., Magras C. 2008. Infection of pigs batches by five bacterial food-borne zoonotic hazards: variability on farm and at slaughter. *Epidémiologie et Santé Animale*:57-71.
15. Cameron RDA. 2000. A review of the industrialisation of pig production worldwide with particular reference to the Asian region. Food and Agriculture Organization of the United Nations

16. Meer Yvd, Gerrits WJJ, Jansman AJM, Kemp B, Bolhuis JE. 2017. A link between damaging behaviour in pigs, sanitary conditions, and dietary protein and amino acid supply. *PLOS ONE* 12:e0174688.
17. Zweifel C, Baltzer D, Stephan R. 2005. Microbiological contamination of cattle and pig carcasses at five abattoirs determined by swab sampling in accordance with EU Decision 2001/471/EC. *Meat Science* 69:559-566.
18. Amann RI, Ludwig W, Schleifer KH. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Reviews* 59:143.
19. Nehme B, Létourneau V, Forster RJ, Veillette M, Duchaine C. 2008. Culture-independent approach of the bacterial bioaerosol diversity in the standard swine confinement buildings, and assessment of the seasonal effect. 10:665-675
20. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, Fernandes GR, Tap J, Bruls T, Batto J-M, Bertalan M, Borruel N, Casellas F, Fernandez L, Gautier L, Hansen T, Hattori M, Hayashi T, Kleerebezem M, Kurokawa K, Leclerc M, Levenez F, Manichanh C, Nielsen HB, Nielsen T, Pons N, Poulain J, Qin J, Sicheritz-Ponten T, Tims S, Torrents D, Ugarte E, Zoetendal EG, Wang J, Guarner F, Pedersen O, de Vos WM, Brunak S, Doré J, Antolín M, Artiguenave F, Blottiere HM, Almeida M, Brechot C, Cara C, Chervaux C, Cultrone A, Delorme C, Denariáz G, Dervyn R, et al. 2011. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 473:174-180.
21. Thompson LR, Sanders JG, McDonald D, Amir A, Ladau J, Locey KJ, Prill RJ, Tripathi A, Gibbons SM, Ackermann G, Navas-Molina JA, Janssen S, Kopylova E, Vázquez-Baeza Y, González A, Morton JT, Mirarab S, Zech Xu Z, Jiang L, Haroon MF, Kanbar J, Zhu Q, Jin Song S, Kosciolk T, Bokulich NA, Lefler J, Brislawn CJ, Humphrey G, Owens SM, Hampton-Marcell J, Berg-Lyons D, McKenzie V, Fierer N, Fuhrman JA, Clauset A, Stevens RL, Shade A, Pollard KS, Goodwin KD, Jansson JK, Gilbert JA, Knight R, Rivera JLA, Al-Moosawi L, Alverdy J, Amato KR, Andras J, Angenent LT, Antonopoulos DA, Apprill A, et al. 2017. A communal catalogue reveals Earth's multiscale microbial diversity. *Nature* 551:457-463.
22. Kumari P, Woo C, Yamamoto N, Choi H-L. 2016. Variations in abundance, diversity and community composition of airborne fungi in swine houses across seasons. *Scientific Reports* 6:37929.
23. Kraemer JG, Aebi S, Oppliger A, Hilty M. 2019. The Indoor-Air Microbiota of Pig Farms Drives the Composition of the Pig Farmers' Nasal Microbiota in a Season-Dependent and Farm-Specific Manner. *Applied and environmental microbiology* 85:e03038-18.
24. Yan H, Li Y, Zhang Y, Zhang H, Guo Z, Liu J. 2021. Deciphering of microbial diversity and antibiotic resistome of bioaerosols in swine confinement buildings. *Science of The Total Environment* 781:147056.
25. Holman D, W Brunelle B, Trachsel J, Allen H. 2017. Meta-analysis To Define a Core Microbiota in the Swine Gut. *mSystems* 2: e00004-17.
26. Xiao Y, Kong F, Xiang Y, Zhou W, Wang J, Yang H, Zhang G, Zhao J. 2018. Comparative biogeography of the gut microbiome between Jinhua and Landrace pigs. *Scientific reports* 8:5985-5985.
27. Kim HB, Isaacson RE. 2015. The pig gut microbial diversity: Understanding the pig gut microbial ecology through the next generation high throughput sequencing. *Veterinary Microbiology* 177:242-251.
28. Kim J, Nguyen SG, Guevarra RB, Lee I, Unno T. 2015. Analysis of swine fecal microbiota at various growth stages. *Archives of Microbiology* 197:753-759.
29. Zhao W, Wang Y, Liu S, Huang J, Zhai Z, He C, Ding J, Wang J, Wang H, Fan W, Zhao J, Meng H. 2015. The Dynamic Distribution of Porcine Microbiota across Different Ages and Gastrointestinal Tract Segments. *PLOS ONE* 10:e0117441.
30. Quan J, Cai G, Ye J, Yang M, Ding R, Wang X, Zheng E, Fu D, Li S, Zhou S, Liu D, Yang J, Wu Z. 2018. A global comparison of the microbiome compositions of three gut locations in commercial pigs with extreme feed conversion ratios. *Scientific Reports* 8:4536.

31. Adhikari B, Kim SW, Kwon YM. 2019. Characterization of Microbiota Associated with Digesta and Mucosa in Different Regions of Gastrointestinal Tract of Nursery Pigs. *International Journal of Molecular Sciences* 20:1630.
32. Crespo-Piazuelo D, Estellé J, Revilla M, Criado-Mesas L, Ramayo-Caldas Y, Óvilo C, Fernández AI, Ballester M, Folch JM. 2018. Characterization of bacterial microbiota compositions along the intestinal tract in pigs and their interactions and functions. *Scientific Reports* 8:12727.
33. Murase K, Watanabe T, Arai S, Kim H, Tohya M, Ishida-Kuroki K, Võ TH, Nguyễn TPB, Nakagawa I, Osawa R, Nguyễn NH, Sekizaki T. 2019. Characterization of pig saliva as the major natural habitat of *Streptococcus suis* by analyzing oral, fecal, vaginal, and environmental microbiota. *PLOS ONE* 14:e0215983
34. Mou KT, Allen HK, Alt DP, Trachsel J, Hau SJ, Coetzee JF, Holman DB, Kellner S, Loving CL, Brockmeier SL. 2019. Shifts in the nasal microbiota of swine in response to different dosing regimens of oxytetracycline administration. *Veterinary Microbiology* 237:108386.
35. Huang T, Zhang M, Tong X, Chen J, Yan G, Fang S, Guo Y, Yang B, Xiao S, Chen C, Huang L, Ai H. 2019. Microbial communities in swine lungs and their association with lung lesions. *Microbial Biotechnology* 12:289-304..
36. Wang Q, Cai R, Huang A, Wang X, Qu W, Shi L, Li C, Yan H. 2018. Comparison of Oropharyngeal Microbiota in Healthy Piglets and Piglets With Respiratory Disease. *Frontiers in microbiology* 9:3218-3218.
37. Zwirzitz B, Wetzels SU, Dixon ED, Stessl B, Zaiser A, Rabanser I, Thalguter S, Pinior B, Roch F-F, Strachan C, Zanghellini J, Dzieciol M, Wagner M, Selberherr E. 2020. The sources and transmission routes of microbial populations throughout a meat processing facility. *npj Biofilms and Microbiomes* 6:26.
38. Bridier A, Le Grandois P, Moreau M-H, Prénom C, Le Roux A, Feurer C, Soumet C. 2019. Impact of cleaning and disinfection procedures on microbial ecology and *Salmonella* antimicrobial resistance in a pig slaughterhouse. *Scientific Reports* 9:12947.
39. Mann E, Wetzels SU, Pinior B, Metzler-Zebeli BU, Wagner M, Schmitz-Esser S. 2016. Psychrophile spoilers dominate the bacterial microbiome in musculature samples of slaughter pigs. *Meat Sci* 117:36-40.
40. Zwirzitz B, Wetzels SU, Rabanser I, Thalguter S, Dzieciol M, Wagner M, Mann E. 2019. Culture-Independent Evaluation of Bacterial Contamination Patterns on Pig Carcasses at a Commercial Slaughter Facility. *Journal of Food Protection* 82:1677-1682.
41. United States Department of Agriculture (USDA). 2021. Swine Stocks - Selected Countries Summary. Foreign Agricultural Service, <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/downloads>. Consulté le 2021-07-29
42. Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW. 2012. *Diseases of Swine* (10th edition). 1008 p. John Wiley & Sons. Hoboken, United States.
43. Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Zhang J. 2019. *Diseases of Swine* (11th edition). 1108 p. John Wiley & Sons. Hoboken, United States.
44. Schubnell F, von Ah S, Graage R, Sydler T, Sidler X, Hadorn D, Basso W. 2016. Occurrence, clinical involvement and zoonotic potential of endoparasites infecting Swiss pigs. *Parasitology International* 65:618-624.
45. Baer AA, Miller MJ, Dilger AC. 2013. Pathogens of Interest to the Pork Industry: A Review of Research on Interventions to Assure Food Safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 12:183-217.
46. Filippitzi ME, Brinch Kruse A, Postma M, Sarrazin S, Maes D, Alban L, Nielsen LR, Dewulf J. 2018. Review of transmission routes of 24 infectious diseases preventable by biosecurity measures and comparison of the implementation of these measures in pig herds in six European countries. *Transboundary and Emerging Diseases* 65:381-398.

47. Sirje Jalakas TEaMR. 2014. Chapter 2 - From Farm to Slaughterhouse, p 5-17. In Thimjos Ninios JL, Hannu Korkeala and Maria Fredriksson-Ahomaa (ed), Meat Inspection and Control in the Slaughterhouse (1st Edition). John Wiley & Sons. 700 p. Hoboken, United States.
48. Desrosiers R. 2011. Transmission of swine pathogens: different means, different needs. *Animal Health Research Reviews* 12:1-13.
49. Paramithiotis S, Pappa AM, Drosinos EH, Zoiopoulos PE. 2009. Microbiological, physico-chemical and safety parameters of cereal-based animal diets. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods* 1:170-178.
50. Kukier E, Goldsztejn M, Grenda T, Kwiatek K, Wasyl D, Hoszowski A. 2012. Microbiological Quality of Compound Feed Used in Poland. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*. 56:349.
51. Gordon RK, Kotowski IK, Coulson KF, Link D, MacKenzie A, Bowling-Heyward J. 2019. The Role of Non-animal Origin Feed Ingredients in Transmission of Viral Pathogens of Swine: A Review of Scientific Literature. *Frontiers in Veterinary Science* 6: 273.
52. Mikkelsen LL, Naughton PJ, Hedemann MS, Jensen BB. 2004. Effects of Physical Properties of Feed on Microbial Ecology and Survival of *Salmonella enterica* Serovar *Typhimurium* in the Pig Gastrointestinal Tract. *Applied and Environmental Microbiology* 70:3485.
53. Pasma T, Furness MC, Alves D, Aubry P. 2016. Outbreak investigation of porcine epidemic diarrhea in swine in Ontario. *La revue veterinaire canadienne* 57:84-89.
54. Davies PR, Scott Hurd H, Funk JA, Fedorka-Cray PJ, Jones FT. 2004. The Role of Contaminated Feed in the Epidemiology and Control of *Salmonella enterica* in Pork Production. *Foodborne Pathogens and Disease* 1:202-215.
55. Davies RH, Wales AD. 2013. *Salmonella* contamination of cereal ingredients for animal feeds. *Veterinary Microbiology* 166:543-549.
56. Vlachou S, Zoiopoulos PE, Drosinos EH. 2004. Assessment of some hygienic parameters of animal feeds in Greece. *Animal Feed Science and Technology* 117:331-337.
57. Andres VM, Davies RH. 2015. Biosecurity Measures to Control *Salmonella* and Other Infectious Agents in Pig Farms: A Review. 14:317-335.
58. Pitkin A, Deen J, Dee S. 2009. Further assessment of fomites and personnel as vehicles for the mechanical transport and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Canadian journal of veterinary research = Revue canadienne de recherche veterinaire* 73:298-302.
59. Dee SA, Deen J, Otake S, Pijoan C. 2004. An experimental model to evaluate the role of transport vehicles as a source of transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus to susceptible pigs. *Revue canadienne de recherche veterinaire* 68:128-133.
60. Chen W, Yan M, Yang L, Ding B, He B, Wang Y, Liu X, Liu C, Zhu H, You B, Huang S, Zhang J, Mu F, Xiang Z, Feng X, Wen J, Fang J, Yu J, Yang H, Wang J. 2005. SARS-associated coronavirus transmitted from human to pig. *Emerging infectious diseases* 11:446-448.
61. Barber DA, Bahnson PB, Isaacson R, Jones CJ, Weigel RM. 2002. Distribution of *Salmonella* in Swine Production Ecosystems. *Journal of Food Protection* 65:1861-1868.
62. Nathues C, Grüning P, Fruth A, Verspohl J, Blaha T, Kreienbrock L, Merle R. 2013. *Campylobacter* spp., *Yersinia enterocolitica*, and *Salmonella enterica* and their simultaneous occurrence in German Fattening Pig Herds and Their Environment. *Journal of Food Protection* 76:1704-1711.
63. Amass S, Halbur P, Byrne B, Schneider J, Koons C, Cornick N, Ragland D. 2003. Mechanical transmission of enterotoxigenic *Escherichia coli* to weaned pigs by people, and biosecurity procedures that prevented such transmission. *Journal of Swine Health and Production* 11:61-68
64. Bonifait L, Veillette M, Létourneau V, Grenier D, Duchaine C. 2014. Detection of *Streptococcus suis* in Bioaerosols of Swine Confinement Buildings. *Applied and environmental microbiology* 80(11):3296-3304.
65. Pilote J, Létourneau V, Girard M, Duchaine C. 2019. Quantification of airborne dust, endotoxins, human pathogens and antibiotic and metal resistance genes in Eastern Canadian swine confinement buildings. *Aerobiologia* 35:283-296.

66. Létourneau V, Nehmé B, Mériaux A, Massé D, Duchaine C. 2009. Impact of Production Systems on Swine Confinement Buildings Bioaerosols. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene* 7:94-102.
67. Verreault D, Létourneau V, Gendron L, Massé D, Gagnon CA, Duchaine C. 2010. Airborne porcine *circovirus* in Canadian swine confinement buildings. *Veterinary Microbiology* 141:224-230.
68. Otake S, Dee S, Corzo C, Oliveira S, Deen J. 2010. Long-distance airborne transport of infectious PRRSV and *Mycoplasma hyopneumoniae* from a swine population infected with multiple viral variants. *Veterinary Microbiology* 145:198-208.
69. Levantesi C, Bonadonna L, Briancesco R, Grohmann E, Toze S, Tandoi V. 2012. *Salmonella* in surface and drinking water: Occurrence and water-mediated transmission. *Food Research International* 45:587-602.
70. Coleman BL, Louie M, Salvadori MI, McEwen SA, Neumann N, Sibley K, Irwin RJ, Jamieson FB, Daignault D, Majury A, Braithwaite S, Crago B, McGeer AJ. 2013. Contamination of Canadian private drinking water sources with antimicrobial resistant *Escherichia coli*. *Water Research* 47:3026-3036.
71. Geldreich EE. 1996. Pathogenic agents in freshwater resources. *Hydrological Processes* 10:315-333.
72. Nyachoti CM, Patience JF, Seddon IR. 2005. Effect of water source (ground versus surface) and treatment on nursery pig performance. *Canadian Journal of Animal Science* 85:405-407.
73. Greig J, Rajić A, Young I, Mascarenhas M, Waddell L, LeJeune J. 2015. A Scoping Review of the Role of Wildlife in the Transmission of Bacterial Pathogens and Antimicrobial Resistance to the Food Chain. *Zoonoses and Public Health* 62:269-284.
74. Charrier F, Rossi S, Jori F, Maestrini O, Richomme C, Casabianca F, Ducrot C, Jouve J, Pavio N, Le Potier M-F. 2018. Aujeszky's Disease and Hepatitis E Viruses Transmission between Domestic Pigs and Wild Boars in Corsica: Evaluating the Importance of Wild/Domestic Interactions and the Efficacy of Management Measures. *Frontiers in Veterinary Science* 5:1.
75. Guinat C, Gogin A, Blome S, Keil G, Pollin R, Pfeiffer DU, Dixon L. 2016. Transmission routes of African swine fever virus to domestic pigs: current knowledge and future research directions. *The Veterinary record* 178:262-267.
76. Siembieda JL, Kock RA, McCracken TA, Newman SH. 2011. The role of wildlife in transboundary animal diseases. *Animal Health Research Reviews* 12:95-111.
77. Andrés-Barranco S, Vico JP, Garrido V, Samper S, Herrera-León S, de Frutos C, Mainar-Jaime RC. 2014. Role of Wild Bird and Rodents in the Epidemiology of Subclinical Salmonellosis in Finishing Pigs. *Foodborne Pathogens and Disease* 11:689-697.
78. Wang Y-C, Chang Y-C, Chuang H-L, Chiu C-C, Yeh K-S, Chang C-C, Hsuan S-L, Lin W-H, Chen T-H. 2011. Transmission of *Salmonella* between Swine Farms by the Housefly (*Musca domestica*). *Journal of Food Protection* 74:1012-1016.
79. Zurek L, Schal C. 2004. Evaluation of the German cockroach (*Blattella germanica*) as a vector for verotoxigenic *Escherichia coli* F18 in confined swine production. *Veterinary Microbiology* 101:263-267.
80. Cervelin V, Fongaro G, Pastore JB, Engel F, Reimers MA, Viancelli A. 2018. Enterobacteria associated with houseflies (*Musca domestica*) as an infection risk indicator in swine production farms. *Acta Tropica* 185:13-17.
81. Blunt R, McOrist S, McKillen J, McNair I, Jiang T, Mellits K. 2011. House fly vector for porcine *circovirus* 2b on commercial pig farms. *Veterinary Microbiology* 149:452-455.
82. Fischer O, Mátlová L, Dvorská L, Švástová P, Bartl J, Melichárek I, Weston RT, Pavlík I. 2001. Diptera as vectors of mycobacterial infections in cattle and pigs. *Medical and Veterinary Entomology* 15:208-211.
83. Maes D, Van Soom A, Appeltant R, Arsenakis I, Nauwynck H. 2016. Porcine semen as a vector for transmission of viral pathogens. *Theriogenology* 85:27-38.
84. Maes D, Nauwynck H, Rijsselaere T, Mateusen B, Vyt P, de Kruif A, Van Soom A. 2008. Diseases in swine transmitted by artificial insemination: An overview. *Theriogenology* 70:1337-1345.

85. Althouse GC, Rossow K. 2011. The Potential Risk of Infectious Disease Dissemination Via Artificial Insemination in Swine. *Reproduction in Domestic Animals* 46:64-67.
86. Ziemer CJ, Bonner JM, Cole D, Vinjé J, Constantini V, Goyal S, Gramer M, Mackie R, Meng XJ, Myers G, Saif LJ. 2010. Fate and transport of zoonotic, bacterial, viral, and parasitic pathogens during swine manure treatment, storage, and land application¹. *Journal of Animal Science* 88:E84-E94.
87. Bicudo JR, Goyal SM. 2003. Pathogens and manure management systems: A review. *Environmental Technology* 24:115-130.
88. Weesendorp E, Stegeman A, Loeffen WLA. 2008. Survival of classical swine fever virus at various temperatures in faeces and urine derived from experimentally infected pigs. *Veterinary Microbiology* 132:249-259.
89. Gray JT, Fedorka-Cray PJ. 2001. Survival and Infectivity of *Salmonella Choleraesuis* in Swine Feces†. *Journal of Food Protection* 64:945-949.
90. Jakobsen AM, Bahl MI, Buschhardt T, Hansen TB, Al-Soud WA, Brejnrod AD, Sørensen SJ, Nesbakken T, Aabo S. 2019. Bacterial community analysis for investigating bacterial transfer from tonsils to the pig carcass. *International Journal of Food Microbiology* 295:8-18.
91. Gill CO, Sofos JN. 2005. Chapter 11 - Sources of microbial contamination at slaughtering plants, p. 231-243. *Improving the Safety of Fresh Meat* (1st ed). 780 p. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, United Kingdom.
92. Laukkanen R, Martínez PO, Siekkinen K-M, Ranta J, Majjala R, Korkeala H. 2009. Contamination of Carcasses with Human Pathogenic *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 Originates from Pigs Infected on Farms. *Foodborne Pathogens and Disease* 6:681-688.
93. Pesciaroli M, Cucco L, De Luca S, Massacci FR, Maresca C, Medici L, Panicià M, Scoccia E, Staffolani M, Pezzotti G, Magistrali CF. 2017. Association between pigs with high caecal *Salmonella* loads and carcass contamination. *International Journal of Food Microbiology* 242:82-86.
94. Giovannacci I, Queguiner S, Ragimbeau C, Salvat G, Vendeuvre JL, Carlier V, Ermel G. 2001. Tracing of *Salmonella* spp. in two pork slaughter and cutting plants using serotyping and macrorestriction genotyping. *Journal of Applied Microbiology* 90:131-147.
95. Gill CO, Jones T. 1995. The presence of *Aeromonas*, *Listeria* and *Yersinia* in carcass processing equipment at two pig slaughtering plants. *Food Microbiology* 12:135-141.
96. Gill CO, Bryant J. 1993. The presence of *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Campylobacter* in pig carcass dehairing equipment. *Food Microbiology* 10:337-344.
97. Gill CO, Badoni M, McGinnis JC. 1999. Assessment of the adequacy of cleaning of equipment used for breaking beef carcasses. *International Journal of Food Microbiology* 46:1-8.
98. Zwirzitz B, Wetzels SU, Dixon ED, Stessl B, Zaiser A, Rabanser I, Thalgueter S, Pinior B, Roch F-F, Strachan C, Zhangellini J, Dzieciol M, Wagner M, Mann E. 2019. The sources and transmission routes of microbial populations throughout a meat processing facility. *bioRxiv*.
99. Zhao T, Podtburg TC, Zhao P, Schmidt BE, Baker DA, Cords B, Doyle MP. 2006. Control of *Listeria* spp. by Competitive-Exclusion Bacteria in Floor Drains of a Poultry Processing Plant. *Applied and Environmental Microbiology* 72:3314.
100. Swanenburg M, Urlings HAP, Snijders JMA, Keuzenkamp DA, van Knapen F. 2001. *Salmonella* in slaughter pigs: prevalence, serotypes and critical control points during slaughter in two slaughterhouses. *International Journal of Food Microbiology* 70:243-254
101. Berrang ME, Frank JF. 2012. Generation of airborne *Listeria innocua* from model floor drains. *J Food Prot* 75:1328-31.
102. Byrne B, Lyng J, Dunne G, Bolton DJ. 2008. An assessment of the microbial quality of the air within a pork processing plant. *Food Control* 19:915-920.
103. Rahkio TM, Korkeala HJ. 1997. Airborne Bacteria and Carcass Contamination in Slaughterhouses. *Journal of Food Protection* 60:38-42.
104. Burfoot D, Whyte R, Tinker D, Howell M, Hall K, Holah J, Smith D, White R, Baker D, McIntosh J. 2006. Importance of Airborne Contamination during Dressing of Beef and Lamb Carcasses. *Journal of Food Protection* 69:2828-2836.

105. Okraszewska-Lasica W, Bolton DJ, Sheridan JJ, McDowell DA. 2014. Airborne *Salmonella* and *Listeria* associated with Irish commercial beef, sheep and pig plants. *Meat Science* 97:255-261..
106. Laforge P, Saucier L. 2019 Caractérisation des populations microbiennes dans différents drains d'un abattoir porcin.
107. Laukkanen R, Martínez PO, Siekkinen K-M, Ranta J, Majjala R, Korkeala H. 2008. Transmission of *Yersinia pseudotuberculosis* in the Pork Production Chain from Farm to Slaughterhouse. 74:5444-5450.
108. Nesbakken T, Eckner K, Høidal HK, Røtterud O-J. 2003. Occurrence of *Yersinia enterocolitica* and *Campylobacter* spp. in slaughter pigs and consequences for meat inspection, slaughtering, and dressing procedures. *International Journal of Food Microbiology* 80:231-240.
109. Toldrá F. 2017. *Lawrie's Meat Science* (8th Edition). 730 p. Woodhead Publishing. Duxford, United Kingdom
110. Figueroa-López AM, Maldonado-Mendoza IE, López-Cervantes J, Verdugo-Fuentes AA, Ruiz-Vega DA, Cantú-Soto EU. 2019. Prevalence and characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from pork meat and on inert surfaces. *Brazilian Journal of Microbiology* 50:817-824.
111. Gill CO. 2007. Microbiological conditions of meats from large game animals and birds. *Meat Science* 77:149-160.
112. Collins C, Grange J, Lyne P, Falkinham III J. 2004. *Collins and Lyne's Microbiological Methods* (8th Edition). 480 p. Oxford University Press Inc. New York, United states.
113. Van Damme I, Berkvens D, Vanantwerpen G, Baré J, Houf K, Wauters G, De Zutter L. 2015. Contamination of freshly slaughtered pig carcasses with enteropathogenic *Yersinia* spp.: Distribution, quantification and identification of risk factors. *International Journal of Food Microbiology* 204:33-40.
114. Fredriksson-Ahomaa M. 2014. Chapter 13 - Public Health Hazards: A. Biological Hazards, p 277-333, *Meat Inspection and Control in the Slaughterhouse* (1st Edition). 700 p. John Wiley & Sons. Hoboken, United States.
115. Sofos JN. 2008. Challenges to meat safety in the 21st century. *Meat Science* 78:3-13.
116. Grierson S, Heaney J, Cheney T, Morgan D, Wyllie S, Powell L, Smith D, Ijaz S, Steinbach F, Choudhury BJEid. 2015. Prevalence of hepatitis E virus infection in pigs at the time of slaughter, United Kingdom, 2013. 21:1396.
117. Harrison LC, DiCaprio E. 2018. Hepatitis E Virus: An Emerging Foodborne Pathogen. *Frontiers in Sustainable Food Systems* 2.
118. Costa DF, Fowler F, Silveira C, Nóbrega MJ, Nobrega HAJ, Nascimento H, Rizzo LV, Commodaro AG, Belfort R. 2018. Prevalence of *Toxoplasma gondii* DNA in Processed Pork Meat. *Foodborne Pathogens and Disease* 15:734-736.
119. Boxman ILA, Jansen CCC, Hägele G, Zwartkruis-Nahuis A, Tijsma ASL, Vennema H. 2019. Monitoring of pork liver and meat products on the Dutch market for the presence of HEV RNA. *International Journal of Food Microbiology* 296:58-64.
120. Boonyong N, Kaewmongkol S, Khunbutsri D, Satchasataporn K, Meekhanon N. 2019. Contamination of *Streptococcus suis* in pork and edible pig organs in central Thailand. *Veterinary world* 12:165-169.
121. Wilhelm B, Leblanc D, Houde A, Brassard J, Gagné M-J, Plante D, Bellon-Gagnon P, Jones TH, Muehlhauser V, Janecko N, Avery B, Rajić A, McEwen SA. 2014. Survey of Canadian retail pork chops and pork livers for detection of hepatitis E virus, norovirus, and rotavirus using real time RT-PCR. *International Journal of Food Microbiology* 185:33-40.
122. Mor-Mur M, Yuste J. 2009. Emerging Bacterial Pathogens in Meat and Poultry: An Overview. *Food and Bioprocess Technology* 3:24-35.
123. Bank-Wolf BR, König M, Thiel H-J. 2010. Zoonotic aspects of infections with noroviruses and sapoviruses. *Veterinary Microbiology* 140:204-212.
124. Martella V, Bányai K, Matthijnssens J, Buonavoglia C, Ciarlet M. 2010. Zoonotic aspects of rotaviruses. *Veterinary Microbiology* 140:246-255.

125. Gill CO, Landers C. 2004. Proximate sources of bacteria on boneless loins prepared from routinely processed and detained carcasses at a pork packing plant. *International Journal of Food Microbiology* 97:171-178.
126. van Hoek AHAM, de Jonge R, van Overbeek WM, Bouw E, Pielaat A, Smid JH, Malorny B, Junker E, Löfström C, Pedersen K, Aarts HJM, Heres L. 2012. A quantitative approach towards a better understanding of the dynamics of *Salmonella* spp. in a pork slaughter-line. *International Journal of Food Microbiology* 153:45-52.
127. Wheatley P, Giotis ES, McKevitt AI. 2014. Effects of slaughtering operations on carcass contamination in an Irish pork production plant. *Irish Veterinary Journal* 67:1.
128. Gill CO, Badoni M. 2010. Effects of Experience with Swabbing Procedures on the Numbers of Bacteria Recovered from Carcasses by Swabbing with Sponges†. *Journal of Food Protection* 73:747-751.
129. Gill CO, Jones T. 1997. Assessment of the hygienic characteristics of a process for dressing pasteurized pig carcasses. *Food Microbiology* 14:81-91.
130. Center for disease control and prevention (CDC). 2017. Trichinellosis. <https://www.cdc.gov/dpdx/trichinellosis/index.html>. Consulté le 2019-03-31
131. Center for disease control and prevention (CDC) 2018. Toxoplasmosis. <https://www.cdc.gov/parasites/toxoplasmosis/>. Consulté le 2019-03-31.
132. Gisbert Algaba I, Verhaegen B, Jennes M, Rahman M, Coucke W, Cox E, Dorny P, Dierick K, De Craeye S. 2018. Pork as a source of transmission of *Toxoplasma gondii* to humans: a parasite burden study in pig tissues after infection with different strains of *Toxoplasma gondii* as a function of time and different parasite stages. *International Journal for Parasitology* 48:555-560.
133. De Berardinis A, Paludi D, Pennisi L, Vergara A. 2017. *Toxoplasma gondii*, a Foodborne Pathogen in the Swine Production Chain from a European Perspective. *Foodborne Pathogens and Disease* 14:637-648.
134. Pozio E. 2019. *Trichinella* and trichinellosis in Europe. *Veterinarski glasnik* 73:17-17.
135. Franssen F, Gerard C, Cozma-Petruț A, Vieira-Pinto M, Jambrak AR, Rowan N, Paulsen P, Rozycki M, Tysnes K, Rodriguez-Lazaro D, Robertson L. 2019. Inactivation of parasite transmission stages: Efficacy of treatments on food of animal origin. *Trends in Food Science & Technology* 83:114-128.
136. Blagojevic B, Antic D. 2014. Assessment of potential contribution of official meat inspection and abattoir process hygiene to biological safety assurance of final beef and pork carcasses. *Food Control* 36:174-182.
137. Lafrance-Girard C, Arsenault J, Thibodeau A, Opsteegh M, Avery B, Quessy S. 2018. *Toxoplasma gondii* in Retail Beef, Lamb, and Pork in Canada: Prevalence, Quantification, and Risk Factors from a Public Health Perspective. *Foodborne Pathogens and Disease* 15:798-808.
138. Eijck IAJM, Borgsteede FHM. 2005. A Survey of Gastrointestinal Pig Parasites on Free-range, Organic and Conventional Pig Farms in The Netherlands. *Veterinary Research Communications* 29:407-414.
139. Mattison K, Shukla A, Cook A, Pollari F, Friendship R, Kelton D, Bidawid S, Farber JM. 2007. Human noroviruses in swine and cattle. *Emerging infectious diseases* 13:1184-1188.
140. Shan T, Li L, Simmonds P, Wang C, Moeser A, Delwart E. 2011. The Fecal Virome of Pigs on a High-Density Farm. *Journal of Virology* 85:11697.
141. Gill CO, Bryant J. 1992. The contamination of pork with spoilage bacteria during commercial dressing, chilling and cutting of pig carcasses. *International Journal of Food Microbiology* 16:51-62.
142. Doulgeraki AI, Ercolini D, Villani F, Nychas GJ. 2012. Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *Int J Food Microbiol* 157:130-41.
143. Møretrø T, Langsrud S, Heir E. 2013. Bacteria on Meat Abattoir Process Surfaces after Sanitation: Characterisation of Survival Properties of *Listeria monocytogenes* and the Commensal Bacterial Flora. *Advances in Microbiology* 03:255-264
144. Hultman J, Rahkila R, Ali J, Rousu J, Björkroth KJ. 2015. Meat Processing Plant Microbiome and Contamination Patterns of Cold-Tolerant Bacteria Causing Food Safety and Spoilage Risks in the

- Manufacture of Vacuum-Packaged Cooked Sausages. *Applied and Environmental Microbiology* 81:7088.
145. Ulbin-Figlewicz N, Jarmoluk A, Marycz K. 2015. Antimicrobial activity of low-pressure plasma treatment against selected foodborne bacteria and meat microbiota. *Annals of Microbiology* 65:1537-1546.
 146. Møretrø T, Langsrud S. 2017. Residential Bacteria on Surfaces in the Food Industry and Their Implications for Food Safety and Quality. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 16:1022-1041.
 147. De Filippis F, La Storia A, Villani F, Ercolini D. 2013. Exploring the Sources of Bacterial Spoilers in Beefsteaks by Culture-Independent High-Throughput Sequencing. *PLOS ONE* 8:e70222.
 148. Stellato G, La Storia A, De Filippis F, Borriello G, Villani F, Ercolini D. 2016. Overlap of Spoilage-Associated Microbiota between Meat and the Meat Processing Environment in Small-Scale and Large-Scale Retail Distributions. *Appl Environ Microbiol* 82:4045-54.
 149. Raimondi S, Nappi MR, Sirangelo TM, Leonardi A, Amaretti A, Ulrici A, Magnani R, Montanari C, Tabanelli G, Gardini F, Rossi M. 2018. Bacterial community of industrial raw sausage packaged in modified atmosphere throughout the shelf life. *International Journal of Food Microbiology* 280:78-86.
 150. Cauchie E, Delhalle L, Taminiau B, Tahiri A, Korsak N, Burteau S, Fall PA, Farnir F, Baré G, Daube G. 2020. Assessment of Spoilage Bacterial Communities in Food Wrap and Modified Atmospheres-Packed Minced Pork Meat Samples by 16S rDNA Metagenetic Analysis. *Frontiers in Microbiology* 10:3074
 151. Pellisery AJ, Vinayamohan PG, Amalaradjou MAR, Venkitanarayanan K. 2020. Chapter 17 - Spoilage bacteria and meat quality, p 307-334. *In* Biswas AK, Mandal PK (ed), *Meat Quality Analysis* (1st Edition). 458 p. Academic Press. London, United Kingdom.
 152. Baker CA, Kim H-J, Park SH, Ricke SC. 2016. Metagenomic assessment of the microbial diversity in ground pork products from markets in the North Central Region of South Korea AU - Koo, Ok-Kyung. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 51:622-627.
 153. Pothakos V, Stellato G, Ercolini D, Devlieghere F. 2015. Processing Environment and Ingredients Are Both Sources of *Leuconostoc gelidum*, Which Emerges as a Major Spoiler in Ready-To-Eat Meals. *Applied and Environmental Microbiology* 81:3529.
 154. Peruzzy MF, Murru N, Yu Z, Kerkhof PJ, Neola B, Joossens M, Proroga YTR, Houf K. 2019. Assessment of microbial communities on freshly killed wild boar meat by MALDI-TOF MS and 16S rRNA amplicon sequencing. *International Journal of Food Microbiology* 301:51-60.
 155. Maes S, Heyndrickx M, Vackier T, Steenackers H, Verplaetse A, Reu KD. 2019. Identification and Spoilage Potential of the Remaining Dominant Microbiota on Food Contact Surfaces after Cleaning and Disinfection in Different Food Industries. *Journal of Food Protection* 82:262-275.
 156. Fagerlund A, Møretrø T, Heir E, Briandet R, Langsrud S. 2017. Cleaning and Disinfection of Biofilms Composed of *Listeria monocytogenes* and Background Microbiota from Meat Processing Surfaces. *Applied and Environmental Microbiology* 83:e01046-17.
 157. Gill CO, Landers C. 2003. Effects of Spray-Cooling Processes on the Microbiological Conditions of Decontaminated Beef Carcasses. *Journal of Food Protection* 66:1247-1252.
 158. Stellato G, Utter DR, Voorhis A, De Angelis M, Eren AM, Ercolini D. 2017. A Few *Pseudomonas* Oligotypes Dominate in the Meat and Dairy Processing Environment. *Frontiers in Microbiology* 8:264.
 159. Hansen TB, Christensen BB, Aabo S. 2010. *Salmonella* in Pork Cuttings in Supermarkets and Butchers' Shops in Denmark in 2002 and 2006. *Zoonoses and Public Health* 57:23-29.
 160. Zhao C, Ge B, De Villena J, Sudler R, Yeh E, Zhao S, White DG, Wagner D, Meng J. 2001. Prevalence of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, and *Salmonella* Serovars in Retail Chicken, Turkey, Pork, and Beef from the Greater Washington, D.C., Area. *Applied and Environmental Microbiology* 67:5431.
 161. Thomas WE, Chance B. 2014. National Prevalence of *Salmonella* Contamination in Retail Ground Pork. *Pork safety research report* 12:145.

162. Wong TL, Hollis L, Cornelius A, Nicol C, Cook R, Hudson JA. 2007. Prevalence, Numbers, and Subtypes of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in Uncooked Retail Meat Samples. *Journal of Food Protection* 70:566-573.
163. Pu S, Han F, Ge B. 2009. Isolation and Characterization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains from Louisiana Retail Meats. *Applied and Environmental Microbiology* 75:265.
164. Weese JS, Reid-Smith R, Rousseau J, Avery B. 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) contamination of retail pork. *La revue veterinaire canadienne* 51:749-752.
165. Choi YM, Park HJ, Jang HI, Kim SA, Imm JY, Hwang IG, Rhee MS. 2013. Changes in microbial contamination levels of porcine carcasses and fresh pork in slaughterhouses, processing lines, retail outlets, and local markets by commercial distribution. *Research in Veterinary Science* 94:413-418.
166. Whittemore CT, Kyriazakis I. 2008. Whittemore's Science and Practice of Pig Production (3rd Edition). John Wiley & Sons. 704 p. Hoboken, United States.
167. Burch DGS. 2013. Chapter 33 - Antimicrobial Drug Use in Swine, p 553-568, *In* Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine (5th Edition). John Wiley & Sons. 701 p. Hoboken, United States.
168. Gouvernement du Canada. 2018. Utilisation responsable des antimicrobiens importants sur le plan médical chez les animaux. <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/resistance-aux-antibiotiques-antimicrobiens/animaux/actes/utilisation-responsable-antimicrobiens.html>. Consulté le 2020-09-02.
169. Dibner JJ, Richards JD. 2005. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poultry Science* 84:634-643.
170. Gaskins HR, Collier CT, Anderson DB. 2002. Antibiotics as growth promotants: mode of action. *Animal Biotechnology* 13:29-42.
171. Shryock TR, Page SW. 2013. Chapter 22 - Performance Uses of Antimicrobial Agents and Non-antimicrobial Alternatives, p 379-394, *In* Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine (5th Edition). John Wiley & Sons. 701 p. Hoboken, United States.
172. Cromwell GL. 2002. Why and how antibiotics are used in swine production. *Animal Biotechnology* 13:7-27.
173. Fair RJ, Tor Y. 2014. Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. *Perspectives in medicinal chemistry* 6:25-64.
174. Peeters LEJ, Daeseleire E, Devreese M, Rasschaert G, Smet A, Dewulf J, Heyndrickx M, Imberechts H, Haesebrouck F, Butaye P, Croubels S. 2016. Residues of chlortetracycline, doxycycline and sulfadiazine-trimethoprim in intestinal content and feces of pigs due to cross-contamination of feed. *BMC Veterinary Research* 12:209.
175. Reygaert WC. 2018. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS microbiology* 4:482-501.
176. Zeineldin M, Aldridge B, Lowe J. 2019. Antimicrobial Effects on Swine Gastrointestinal Microbiota and Their Accompanying Antibiotic Resistome. *Frontiers in microbiology* 10:1035-1035.
177. Shurgold J, Avery B, Volling C, Rank C, Béique L, Gravel-Tropper D, Carson C, Brooks J. 2020. Système canadien de surveillance de la résistance aux antimicrobiens – rapport de 2020. Agence de santé publique du Canada, <https://www.canada.ca/content/dam/hc-sc/documents/services/drugs-health-products/canadian-antimicrobial-resistance-surveillance-system-2020-report/CARSS-2020-report-2020-eng.pdf>. Consulté le 2020-09-02
178. Finlay BB, Conly J, Coyte PC, Dillon J-AR, Douglas G, Goddard E, Greco L, Nicolle LE, Patrick D, Prescott JF, Quesnel-Vallée A, Smith R, Wright G. 2019. Quand les antibiotiques échouent. Conseil des académies canadiennes, Ottawa. <https://rapports-cac.ca/wp-content/uploads/2018/10/Quand-les-antibiotiques-%C3%A9chouent.pdf>. Consulté le 2020-09-02
179. Lanoie P, Rivard C, Bellemare J, Beaulieu M, Grenier J, Lacouline F. 2019. Utilisation des antibiotiques chez les animaux destinés à l'alimentation. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation, https://www.vgq.gc.ca/Fichiers/Publications/rapport-annuel/2019-2020-VGQ-nov2019/fr_Rapport2019-2020-VGQ-nov2019-ch07.pdf. Consulté le 2020-09-02

180. Rodriguez E, McKenzie I. 2020. Résultat de la surveillance passive de l'antibiorésistance - Rapport 2020. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation, https://www.mapag.gouv.gc.ca/SiteCollectionDocuments/Santeanimale/Antibioresistance/Rapportannuel2020-Surveillance_passive_antibioresistance.pdf. Consulté le 2021-11-28
181. Casey PG, Gardiner GE, Casey G, Bradshaw B, Lawlor PG, Lynch PB, Leonard FC, Stanton C, Ross RP, Fitzgerald GF, Hill C. 2007. A Five-Strain Probiotic Combination Reduces Pathogen Shedding and Alleviates Disease Signs in Pigs Challenged with *Salmonella enterica* Serovar *Typhimurium*. *Applied and Environmental Microbiology* 73:1858.
182. Barba-Vidal E, Martín-Orúe SM, Castillejos L. 2019. Practical aspects of the use of probiotics in pig production: A review. *Livestock Science* 223:84-96.
183. Liao SF, Nyachoti M. 2017. Using probiotics to improve swine gut health and nutrient utilization. *Animal nutrition* 3:331-343.
184. Shin D, Chang SY, Bogere P, Won K, Choi J-Y, Choi Y-J, Lee HK, Hur J, Park B-Y, Kim Y, Heo J. 2019. Beneficial roles of probiotics on the modulation of gut microbiota and immune response in pigs. *PloS one* 14:e0220843.
185. Yu Z, Dong B, Lu W. 2009. Dynamics of bacterial community in solid-state fermented feed revealed by 16S rRNA. 49:166-172.
186. Missotten JAM, Michiels J, Degroote J, De Smet S. 2015. Fermented liquid feed for pigs: an ancient technique for the future. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 6:4.
187. Hu L, Geng S, Li Y, Cheng S, Fu X, Yue X, Han X. 2018. Exogenous Fecal Microbiota Transplantation from Local Adult Pigs to Crossbred Newborn Piglets. *Frontiers in Microbiology* 8:2663.
188. Niederwerder MC, Constance LA, Rowland RRR, Abbas W, Fernando SC, Potter ML, Sheahan MA, Burkey TE, Hesse RA, Cino-Ozuna AG. 2018. Fecal Microbiota Transplantation Is Associated With Reduced Morbidity and Mortality in Porcine Circovirus Associated Disease. *Frontiers in Microbiology* 9:1631.
189. Cheng S, Ma X, Geng S, Jiang X, Li Y, Hu L, Li J, Wang Y, Han X. 2018. Fecal Microbiota Transplantation Beneficially Regulates Intestinal Mucosal Autophagy and Alleviates Gut Barrier Injury. *mSystems* 3:e00137-18.
190. McCormack UM, Curião T, Wilkinson T, Metzler-Zebeli BU, Reyer H, Ryan T, Calderon-Diaz JA, Crispie F, Cotter PD, Creevey CJ, Gardiner GE, Lawlor PG. 2018. Fecal Microbiota Transplantation in Gestating Sows and Neonatal Offspring Alters Lifetime Intestinal Microbiota and Growth in Offspring. *mSystems* 3:e00134-17.
191. Liu Y, Espinosa CD, Abelilla JJ, Casas GA, Lagos LV, Lee SA, Kwon WB, Mathai JK, Navarro DMDL, Jaworski NW, Stein HH. 2018. Non-antibiotic feed additives in diets for pigs: A review. *Animal Nutrition* 4:113-125.
192. Windisch W, Schedle K, Plitzner C, Kroismayr A. 2008. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of Animal Science* 86:E140-E148.
193. Steiner T. 2009. *Phytogenics in Animal Nutrition: Natural Concepts to Optimize Gut Health and Performance* (1st Edition). 192 p. Nottingham University Press. Nottingham, United Kingdom.
194. Zhai H, Liu H, Wang S, Wu J, Klueenter A-M. 2018. Potential of essential oils for poultry and pigs. *Animal Nutrition* 4:179-186.
195. Omonijo FA, Ni L, Gong J, Wang Q, Lahaye L, Yang C. 2018. Essential oils as alternatives to antibiotics in swine production. *Animal Nutrition* 4:126-136.
196. Kroismayr A, Schedle K, Sehm J, Pfaffl M, Plitzner C, Foissy H, Ettle T, Mayer H, Schreiner M, Windisch W. 2008. Effects of antimicrobial feed additives on gut microbiology and blood parameters of weaned piglets. *Bodenkultur* 59:111-120.
197. Li P, Piao X, Ru Y, Han X, Xue L, Zhang H. 2012. Effects of adding essential oil to the diet of weaned pigs on performance, nutrient utilization, immune response and intestinal health. *Asian-Australasian journal of animal sciences* 25:1617-1626.

198. Malachová K, Praus P, Rybková Z, Kozák O. 2011. Antibacterial and antifungal activities of silver, copper and zinc montmorillonites. *Applied Clay Science* 53:642-645.
199. Aarestrup FM, Hasman H. 2004. Susceptibility of different bacterial species isolated from food animals to copper sulphate, zinc chloride and antimicrobial substances used for disinfection. *Veterinary Microbiology* 100:83-89.
200. Yazdankhah S, Rudi K, Bernhoft A. 2014. Zinc and copper in animal feed – development of resistance and co-resistance to antimicrobial agents in bacteria of animal origin. *Microbial Ecology in Health and Disease* 25:25862.
201. Debski B. 2016. Supplementation of pigs diet with zinc and copper as alternative to conventional antimicrobials. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 19:917-924.
202. Suiryanrayna MVAN, Ramana JV. 2015. A review of the effects of dietary organic acids fed to swine. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 6:45.
203. Anderson RC, Hume ME, Genovese KJ, Callaway TR, Jung YS, Edrington TS, Poole TL, Harvey RB, Bischoff KM, Nisbet DJ. 2004. Effect of Drinking-Water Administration of Experimental Chlorate Ion Preparations on *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* Colonization in Weaned and Finished Pigs. *Veterinary Research Communications* 28:179-189.
204. Argüello H, Carvajal A, Costillas S, Rubio P. 2013. Effect of the Addition of Organic Acids in Drinking Water or Feed During Part of the Finishing Period on the Prevalence of *Salmonella* in Finishing Pigs. *Foodborne Pathogens and Disease* 10:842-849.
205. van der Wolf PJ, van Schie FW, Elbers ARW, Engel B, van der Heijden HMJF, Hunneman WA, Tielen MJM. 2001. Epidemiology: Administration of acidified drinking water to finishing pigs in order to prevent *salmonella* infections. *Veterinary Quarterly* 23:121-125.
206. Wales AD, Allen VM, Davies RH. 2009. Chemical Treatment of Animal Feed and Water for the Control of *Salmonella*. *Foodborne Pathogens and Disease* 7:3-15.
207. De Busser EV, Dewulf J, Zutter LD, Haesebrouck F, Callens J, Meyns T, Maes W, Maes D. 2011. Effect of administration of organic acids in drinking water on faecal shedding of *E. coli*, performance parameters and health in nursery pigs. *The Veterinary Journal* 188:184-188.
208. Geary TM, Brooks PH, Beal JD, Campbell A. 1999. Effect on weaner pig performance and diet microbiology of feeding a liquid diet acidified to pH 4 with either lactic acid or through fermentation with *Pediococcus acidilactici*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79:633-640.
209. Gouvernement du Canada. 2019. Règlement sur la salubrité des aliments au Canada. <https://laws-lois.justice.gc.ca/fra/reglements/DORS-2018-108/index.html>. Consulté le 2020-08-28
210. Gouvernement du Canada. 1990. Règlement de 1990 sur l'inspection des viandes. Alinéa 30.1 (1). <https://laws-lois.justice.gc.ca/fra/reglements/DORS%2D90%2D288/20130426/P1TT3xt3.html>. Consulté le 2019-03-08.
211. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 2018. Microorganisms in foods 7: microbiological testing in food safety management (2nd Edition). 479 p. Springer International Publishing. Cham, Switzerland
212. Chang VP, Mills EW, Cutter CN. 2003. Reduction of Bacteria on Pork Carcasses Associated with Chilling Method. *Journal of food protection*. 66:1019-1024.
213. Huff-Lonergan E, Johnson R. 2001. The Role of Carcass Chilling in the Development of Pork Quality. American Meat Science Association.
214. Lundén JM, Autio TJ, Sjöberg A-M, Korkeala HJ. 2003. Persistent and Nonpersistent *Listeria monocytogenes* Contamination in Meat and Poultry Processing Plants. 66:2062-2069.
215. Efsa Panel on Food Contact Materials E, Processing A, Silano V, Barat Baviera JM, Bolognesi C, Brüscheweiler BJ, Chesson A, Cocconcelli PS, Crebelli R, Gott DM, Grob K, Lampi E, Riviere G, Steffensen I-L, Tlustos C, Van Loveren H, Vernis L, Zorn H, Bolton D, Bover-Cid S, de Knecht J, Peixe L, Skandamis P, Baù A, Martino C, Messens W, Sarno E, Tomcikova D, Mortensen A. 2018. Evaluation of the safety and efficacy of the organic acids lactic and acetic acids to reduce microbiological surface contamination on pork carcasses and pork cuts. *EFSA Journal* 16:e05482.

216. Van Ba H, Seo H-W, Seong P-N, Kang S-M, Cho S-H, Kim Y-S, Park B-Y, Moon S-S, Kang S-J, Choi Y-M, Kim J-H. 2019. The fates of microbial populations on pig carcasses during slaughtering process, on retail cuts after slaughter, and intervention efficiency of lactic acid spraying. *International Journal of Food Microbiology* 294:10-17.
217. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. 2020. Meat Plant Guidelines - Microbial control interventions for red meat species and poultry. Ontario, <http://www.omafra.gov.on.ca/english/food/inspection/meatinsp/m-i-p-r/meatplantguidelines.htm>. Consulté le 2020-08-28
218. Agence canadienne d'inspection des aliments. 2019. Contrôles microbiens des animaux destinés à l'alimentation et des produits de viande, <https://www.inspection.gc.ca/salubrite-alimentaire-pour-l-industrie/exigences-et-documents-d-orientation-relatives-a-c/produits-de-viande-et-animaux-pour-alimentation-hu/controles-microbiens/fra/1558623353675/1558623353914>. Consulté le 28-08-2020.
219. Youssef MK, Yang X, Badoni M, Gill CO. 2012. Effects of spray volume, type of surface tissue and inoculum level on the survival of *Escherichia coli* on beef sprayed with 5% lactic acid. *Food Control* 25:717-722.
220. Youssef MK, Yang X, Badoni M, Gill CO. 2013. Survival of acid-adapted *Escherichia coli* O157:H7 and not-adapted *E. coli* on beef treated with 2% or 5% lactic acid. *Food Control* 34:13-18.
221. Castillo A, Lucia LM, Roberson DB, Stevenson TH, Mercado I, Acuff GR. 2001. Lactic Acid Sprays Reduce Bacterial Pathogens on Cold Beef Carcass Surfaces and in Subsequently Produced Ground Beef†. *Journal of Food Protection* 64:58-62.
222. Epling LK, Carpenter JA, Blankenship LC. 1993. Prevalence of *Campylobacter* spp. and *Salmonella* spp. on Pork Carcasses and the Reduction Effected by Spraying With Lactic Acid. *Journal of Food Protection* 56:536-537.
223. Dorsa WJ, Cutter CN, Siragusa GR. 1998. Long-Term Effect of Alkaline, Organic Acid, or Hot Water Washes on the Microbial Profile of Refrigerated Beef Contaminated with Bacterial Pathogens after Washing†. *Journal of Food Protection* 61:300-306.
224. Moye ZD, Woolston J, Sulakvelidze A. 2018. Bacteriophage Applications for Food Production and Processing. *Viruses* 10:205.
225. Orquera S, Götz G, Hertwig S, Hammerl J, Sparborth D, Joldic A, Alter T. 2012. Control of *Campylobacter* spp. and *Yersinia enterocolitica* by virulent bacteriophages. *Journal of molecular and genetic medicine* 6:273-278.
226. Castellano P, Pérez Ibarreche M, Blanco Massani M, Fontana C, Vignolo GM. 2017. Strategies for Pathogen Biocontrol Using Lactic Acid Bacteria and Their Metabolites: A Focus on Meat Ecosystems and Industrial Environments. *Microorganisms* 5:38.
227. Saucier L. 2016. Microbial spoilage, quality and safety within the context of meat sustainability. *Meat Science* 120:78-84.
228. Castellano P, Belfiore C, Fadda S, Vignolo G. 2008. A review of bacteriocinogenic lactic acid bacteria used as bioprotective cultures in fresh meat produced in Argentina. *Meat Science* 79:483-499.
229. Zhou GH, Xu XL, Liu Y. 2010. Preservation technologies for fresh meat – A review. *Meat Science* 86:119-128.
230. de Martinez YB, Ferrer K, Salas EM. 2002. Combined Effects of Lactic Acid and Nisin Solution in Reducing Levels of Microbiological Contamination in Red Meat Carcasses. *Journal of Food Protection* 65:1780-1783.
231. Ghalfi H, Benkerroum N, Doguiet DDK, Bensaid M, Thonart P. 2007. Effectiveness of cell-adsorbed bacteriocin produced by *Lactobacillus curvatus* CWBI-B28 and selected essential oils to control *Listeria monocytogenes* in pork meat during cold storage. *Letters in Applied Microbiology* 44:268-273.
232. Enfors S-O, Molin G, Ternström A. 1979. Effect of Packaging under Carbon Dioxide, Nitrogen or Air on the Microbial Flora of Pork Stored at 4°C. *Journal of Applied Bacteriology* 47:197-208.
233. Chen JH, Ren Y, Seow J, Liu T, Bang WS, Yuk HG. 2012. Intervention Technologies for Ensuring Microbiological Safety of Meat: Current and Future Trends. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 11:119-132.

234. Durantou F, Guillou S, Simonin H, Chéret R, de Lamballerie M. 2012. Combined use of high pressure and salt or sodium nitrite to control the growth of endogenous microflora in raw pork meat. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 16:373-380.
235. Sommers CH, Sheen S. 2015. Inactivation of avirulent *Yersinia pestis* on food and food contact surfaces by ultraviolet light and freezing. *Food Microbiology* 50:1-4.
236. Ross AIV, Griffiths MW, Mittal GS, Deeth HC. 2003. Combining nonthermal technologies to control foodborne microorganisms. *International Journal of Food Microbiology* 89:125-138.
237. Hayakawa I, Kanno T, Tomita M, Fujio Y. 1994. Application of High Pressure for Spore Inactivation and Protein Denaturation. *Journal of Food Science* 59:159-163.
238. Gill AO, Holley RA. 2003. Interactive inhibition of meat spoilage and pathogenic bacteria by lysozyme, nisin and EDTA in the presence of nitrite and sodium chloride at 24 °C. *International Journal of Food Microbiology* 80:251-259.
239. Karabagias I, Badeka A, Kontominas MG. 2011. Shelf life extension of lamb meat using thyme or oregano essential oils and modified atmosphere packaging. *Meat Science* 88:109-116.
240. Minvielle B. 2000. Contrôle du nettoyage et de la désinfection: L'ATP-métrie en complément du contrôle microbiologique. *Viandes et produits carnés* 21:11-18.
241. Bendeddouche B, Abdelkader B. 2009. ATPmétrie en abattoir de volailles: Évaluation de la méthode ATPbioluminescence pour le contrôle de l'efficacité du nettoyage-désinfection en abattoir de volailles. *Viandes Prod Carnés* 27:75-79.
242. Botteldoorn N, Heyndrickx M, Rijpens N, Grijspeerdt K, Herman L. 2003. *Salmonella* on pig carcasses: positive pigs and cross contamination in the slaughterhouse. 95:891-903.
243. Roque K, Lim G-D, Jo J-H, Shin K-M, Song E-S, Gautam R, Kim C-Y, Lee K, Shin S, Yoo H-S, Heo Y, Kim H-A. 2016. Epizootiological characteristics of viable bacteria and fungi in indoor air from porcine, chicken, or bovine husbandry confinement buildings. *J Vet Sci* 17:531-538.
244. Isaacson R, Kim HB. 2012. The intestinal microbiome of the pig. *Animal Health Research Reviews* 13:100-109.
245. Weissenbach J, Sghir A. 2016. Microbiotes et métagénomique. *Médecine/Science* 32:937-943.
246. Nico MvS, Roleofs D. 2011. *An Introduction to Ecological Genomics* (2nd Edition). 320 p. Oxford University Press inc. New York, United states.
247. Vincent AT, Derome N, Boyle B, Culley AI, Charette SJ. 2017. Next-generation sequencing (NGS) in the microbiological world: How to make the most of your money. *Journal of Microbiological Methods* 138:60-71.
248. Brosius J, Palmer ML, Kennedy PJ, Noller HF. 1978. Complete nucleotide sequence of a 16S ribosomal RNA gene from *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 75:4801.
249. Chakravorty S, Helb D, Burday M, Connell N, Alland D. 2007. A detailed analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of pathogenic bacteria. *Journal of Microbiological Methods* 69:330-339.
250. Wang Q, Garrity GM, Tiedje JM, Cole JR. 2007. Naïve Bayesian Classifier for Rapid Assignment of rRNA Sequences into the New Bacterial Taxonomy. *Applied and Environmental Microbiology* 73:5261-5267.
251. Al Khodor S, Shatat IFJPN. 2017. Gut microbiome and kidney disease: a bidirectional relationship. 32:921-931.
252. Ram JL, Karim AS, Sandler ED, Kato I. 2011. Strategy for microbiome analysis using 16S rRNA gene sequence analysis on the Illumina sequencing platform. *Systems Biology in Reproductive Medicine* 57:162-170.
253. Vargas-Albores F, Martínez-Córdova LR, Martínez-Porchas M, Calderón K, Lago-Lestón A. 2019. Functional metagenomics: a tool to gain knowledge for agronomic and veterinary sciences. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews* 35:69-91.

254. Dhariwal A, Xia J, Chong J, Agellon LB, Habib S, King IL. 2017. MicrobiomeAnalyst: a web-based tool for comprehensive statistical, visual and meta-analysis of microbiome data. *Nucleic Acids Research* 45:W180-W188.
255. Mann E, Pinior B, Wetzels SU, Metzler-Zebeli BU, Wagner M, Schmitz-Esser S. 2015. The Metabolically Active Bacterial Microbiome of Tonsils and Mandibular Lymph Nodes of Slaughter Pigs. *Frontiers in Microbiology* 6:1362.
256. Langille MGI, Zaneveld J, Caporaso JG, McDonald D, Knights D, Reyes JA, Clemente JC, Burkepille DE, Vega Thurber RL, Knight R, Beiko RG, Huttenhower C. 2013. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. *Nature Biotechnology* 31:814-821.
257. Aßhauer KP, Wemheuer B, Daniel R, Meinicke P. 2015. Tax4Fun: predicting functional profiles from metagenomic 16S rRNA data. *Bioinformatics* 31:2882-2884.
258. Iwai S, Weinmaier T, Schmidt BL, Albertson DG, Poloso NJ, Dabbagh K, DeSantis TZ. 2016. Piphillin: Improved Prediction of Metagenomic Content by Direct Inference from Human Microbiomes. *PLOS ONE* 11:e0166104.
259. Wetterstrand KA. 2018. DNA Sequencing Costs: Data from the NHGRI Genome Sequencing Program (GSP). <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/DNA-Sequencing-Costs-Data>. Consulté le 2019-04-19.
260. Perna NT, Plunkett lii G, Burland V, Mau B, Glasner JD, Rose DJ, Mayhew GF, Evans PS, Gregor J, Kirkpatrick HA, Pósfai G, Hackett J, Klink S, Boutin A, Shao Y, Miller L, Grotbeck EJ, Davis NW, Lim A, Dimalanta ET, Potamousis KD, Apodaca J, Anantharaman TS, Lin J, Yen G, Schwartz DC, Welch RA, Blattner FR. 2001. Genome sequence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Nature* 409:529.
261. Sun S, Jones RB, Fodor AA. 2020. Inference-based accuracy of metagenome prediction tools varies across sample types and functional categories. *Microbiome* 8:46.
262. Wilkinson TJ, Huws SA, Edwards JE, Kingston-Smith AH, Siu-Ting K, Hughes M, Rubino F, Friedersdorff M, Creevey CJ. 2018. CowPI: A Rumen Microbiome Focussed Version of the PICRUSt Functional Inference Software. *Frontiers in Microbiology* 9: 1095.
263. Stevens MJA, Zurfluh K, Althaus D, Corti S, Lehner A, Stephan R. 2018. Complete and Assembled Genome Sequence of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serotype Senftenberg N17-509, a Strain Lacking *Salmonella* Pathogen Island 1. *Genome announcements* 6:e00156-18.
264. Ong SY, Pratap CB, Wan X, Hou S, Rahman AYA, Saito JA, Nath G, Alam M. 2012. Complete Genome Sequence of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar Typhi P-stx-12. *Journal of Bacteriology* 194:2115-2116.
265. Silva C, Calva E, Puente JL, Zaidi MB, Vinuesa P. 2016. Complete Genome Sequence of *Salmonella enterica* Serovar *Typhimurium* Strain YU15 (Sequence Type 19) Harboring the *Salmonella* Genomic Island 1 and Virulence Plasmid pSTV. *Genome announcements* 4:e00252-16.
266. Chiu C-H, Tang P, Chu C, Hu S, Bao Q, Yu J, Chou Y-Y, Wang H-S, Lee Y-S. 2005. The genome sequence of *Salmonella enterica* serovar *Choleraesuis*, a highly invasive and resistant zoonotic pathogen. *Nucleic Acids Research* 33:1690-1698.
267. McClure J-A, Zhang K. 2017. Complete Genome Sequence of the Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Colonizing Strain M92. *Genome announcements* 5:e00478-17.
268. Jain M, Koren S, Miga KH, Quick J, Rand AC, Sasani TA, Tyson JR, Beggs AD, Dilthey AT, Fiddes IT, Malla S, Marriott H, Nieto T, O'Grady J, Olsen HE, Pedersen BS, Rhie A, Richardson H, Quinlan AR, Snutch TP, Tee L, Paten B, Phillippy AM, Simpson JT, Loman NJ, Loose M. 2018. Nanopore sequencing and assembly of a human genome with ultra-long reads. *Nature Biotechnology* 36:338-345.
269. Koskella B, Brockhurst MA. 2014. Bacteria-phage coevolution as a driver of ecological and evolutionary processes in microbial communities. *FEMS microbiology reviews* 38:916-931.
270. Looft T, Allen HK, Cantarel BL, Levine UY, Bayles DO, Alt DP, Henrissat B, Stanton TB. 2014. Bacteria, phages and pigs: the effects of in-feed antibiotics on the microbiome at different gut locations. *The Isme Journal* 8:1566.

271. Ravcheev DA, Thiele I. 2017. Comparative Genomic Analysis of the Human Gut Microbiome Reveals a Broad Distribution of Metabolic Pathways for the Degradation of Host-Synthesized Mucin Glycans and Utilization of Mucin-Derived Monosaccharides. *Frontiers in Genetics* 8:111.
272. Zaneveld J, Turnbaugh PJ, Lozupone C, Ley RE, Hamady M, Gordon JI, Knight R. 2008. Host-bacterial coevolution and the search for new drug targets. *Current opinion in chemical biology* 12:109-114.
273. Crespo-Piazuelo D, Migura-Garcia L, Estellé J, Criado-Mesas L, Revilla M, Castelló A, Muñoz M, García-Casco JM, Fernández AI, Ballester M, Folch JM. 2019. Association between the pig genome and its gut microbiota composition. *Scientific Reports* 9:8791.
274. Marotz CA, Sanders JG, Zuniga C, Zaramela LS, Knight R, Zengler K. 2018. Improving saliva shotgun metagenomics by chemical host DNA depletion. *Microbiome* 6:42.
275. Hoppman-Chaney N, Peterson LM, Klee EW, Middha S, Courteau LK, Ferber MJ. 2010. Evaluation of Oligonucleotide Sequence Capture Arrays and Comparison of Next-Generation Sequencing Platforms for Use in Molecular Diagnostics. *Clinical Chemistry* 56:1297.
276. Stewart EJ. 2012. Growing Unculturable Bacteria. *Journal of Bacteriology* 194:4151.
277. Quince C, Walker AW, Simpson JT, Loman NJ, Segata N. 2017. Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. *Nature Biotechnology* 35:833.
278. Kent BN, Salichos L, Gibbons JG, Rokas A, Newton ILG, Clark ME, Bordenstein SR. 2011. Complete bacteriophage transfer in a bacterial endosymbiont (*Wolbachia*) determined by targeted genome capture. *Genome biology and evolution* 3:209-218.
279. Pornsukarom S, van Vliet AHM, Thakur S. 2018. Whole genome sequencing analysis of multiple *Salmonella* serovars provides insights into phylogenetic relatedness, antimicrobial resistance, and virulence markers across humans, food animals and agriculture environmental sources. *BMC Genomics* 19:801.
280. Guevarra RB, Hong SH, Cho JH, Kim B-R, Shin J, Lee JH, Kang BN, Kim YH, Wattanaphansak S, Isaacson RE, Song M, Kim HB. 2018. The dynamics of the piglet gut microbiome during the weaning transition in association with health and nutrition. *Journal of animal science and biotechnology* 9:54-54.
281. Campos Calero G, Caballero Gómez N, Benomar N, Pérez Montoro B, Knapp CW, Gálvez A, Abriouel H. 2018. Deciphering Resistome and Virulome Diversity in a Porcine Slaughterhouse and Pork Products Through Its Production Chain. *Frontiers in Microbiology* 9:2099.
282. Lühken E, Nicolaisen T, Stracke J, Schulz J, Kemper N. 2019. Microbiological air quality in free-farrowing housing systems for sows. *Veterinary and Animal Science* 8:100065.
283. White JK, Nielsen JL, Madsen AM. 2019. Microbial species and biodiversity in settling dust within and between pig farms. *Environmental Research* 171:558-567.
284. Nehmé B, Gilbert Y, Létourneau V, Forster RJ, Veillette M, Villemur R, Duchaine C. 2009. Culture-Independent Characterization of Archaeal Biodiversity in Swine Confinement Building Bioaerosols. *Applied and Environmental Microbiology* 75:5445.
285. Tang Q, Huang K, Liu J, Shen D, Dai P, Li Y, Li C. 2020. Seasonal variations of microbial assemblage in fine particulate matter from a nursery pig house. *Science of The Total Environment* 708:134921.
286. Lighthart B, Kim J. 1989. Simulation of Airborne Microbial Droplet Transport. *Applied and Environmental Microbiology* 55:2349.
287. O'Meara FM, Gardiner GE, O'Doherty JV, Lawlor PG. 2020. The effect of feed form and delivery method on feed microbiology and growth performance in grow-finisher pigs. *Journal of Animal Science* 98:skaa021.
288. McDonald P, Greenhalgh JFD, Morgan CA, Edwards R, Sinclair L. 2011. *Animal Nutrition* (7th Edition). 712 p. Pearson Education Limited. Harlow, England.
289. Lebel P, Letellier A, Longpré J, Laplante B, Yergeau E, Fravalo P. 2017. Feed presentation options in Swine early fattening mitigates *Salmonella* shedding and specifically modulates the faecal microbiota. *Journal of Applied Microbiology* 122:30-39.

290. Lo Fo Wong DMA, Dahl J, Stege H, van der Wolf PJ, Leontides L, von Altrock A, Thorberg BM. 2004. Herd-level risk factors for subclinical Salmonella infection in European finishing-pig herds. Preventive Veterinary Medicine 62:253-266.
291. Longpré J, Fairbrother JM, Fravalo P, Arsenault J, LeBel P, Laplante B, Surprenant C, Massé D, Letellier A. 2016. Impact of mash feeding versus pellets on propionic/butyric acid levels and on total Escherichia coli load in the gastrointestinal tract of growing pigs. Journal of Animal Science 94:1053-1063.
292. Mikkelsen Lene L, Naughton Patrick J, Hedemann Mette S, Jensen Bent B. 2004. Effects of Physical Properties of Feed on Microbial Ecology and Survival of Salmonella enterica Serovar Typhimurium in the Pig Gastrointestinal Tract. Applied and Environmental Microbiology 70:3485-3492.
293. O'Meara FM, Gardiner GE, O'Doherty JV, Lawlor PG. 2020. The effect of feed form and delivery method on feed microbiology and growth performance in grow-finisher pigs. Journal of animal science 98:skaa021.
294. Dee SA, Bauermann FV, Niederwerder MC, Singrey A, Clement T, de Lima M, Long C, Patterson G, Sheahan MA, Stoian AMM, Petrovan V, Jones CK, De Jong J, Ji J, Spronk GD, Minion L, Christopher-Hennings J, Zimmerman JJ, Rowland RRR, Nelson E, Sundberg P, Diel DG. 2018. Survival of viral pathogens in animal feed ingredients under transboundary shipping models. PLOS ONE 13:e0194509.
295. Molla B, Sterman A, Mathews J, Artuso-Ponte V, Abley M, Farmer W, Rajala-Schultz P, Morrow WEM, Gebreyes WA. 2010. Salmonella enterica in commercial swine feed and subsequent isolation of phenotypically and genotypically related strains from fecal samples. Applied and environmental microbiology 76:7188-7193.
296. Li Y, Wang X, Wang X-Q, Wang J, Zhao J. 2020. Life-long dynamics of the swine gut microbiome and their implications in probiotics development and food safety. Gut microbes 11:1824-1832.
297. Park S-J, Kim J, Lee J-S, Rhee S-K, Kim H. 2014. Characterization of the fecal microbiome in different swine groups by high-throughput sequencing. Anaerobe 28:157-162.
298. Liu X, Mao B, Gu J, Wu J, Cui S, Wang G, Zhao J, Zhang H, Chen W. 2021. Blautia-a new functional genus with potential probiotic properties? Gut microbes 13:1-21.
299. Gardiner GE, Metzler-Zebeli BU, Lawlor PG. 2020. Impact of Intestinal Microbiota on Growth and Feed Efficiency in Pigs: A Review. Microorganisms 8:1886.
300. Valeriano VDV, Balolong MP, Kang DK. 2017. Probiotic roles of Lactobacillus sp. in swine: insights from gut microbiota. Journal of Applied Microbiology 122:554-567.
301. Duarte ME, Kim SW. 2022. Intestinal microbiota and its interaction to intestinal health in nursery pigs. Animal Nutrition 8:169-184.
302. Ross GR, Gusils C, Oliszewski R, Colombo de Holgado S, González SN. 2010. Effects of probiotic administration in swine. Journal of Bioscience and Bioengineering 109:545-549.
303. Yang F, Hou C, Zeng X, Qiao S. 2015. The Use of Lactic Acid Bacteria as a Probiotic in Swine Diets. Pathogens 4:34-45.
304. Chen L, Xu Y, Chen X, Fang C, Zhao L, Chen F. 2017. The Maturing Development of Gut Microbiota in Commercial Piglets during the Weaning Transition. Frontiers in Microbiology 8:1688.
305. McCormack UM, Curião T, Metzler-Zebeli BU, Magowan E, Berry DP, Reyer H, Prieto ML, Buzoianu SG, Harrison M, Rebeiz N, Crispie F, Cotter PD, O'Sullivan O, Gardiner GE, Lawlor PG. 2019. Porcine Feed Efficiency-Associated Intestinal Microbiota and Physiological Traits: Finding Consistent Cross-Locational Biomarkers for Residual Feed Intake. mSystems 4:e00324-18.
306. Liu Z, Klümper U, Shi L, Ye L, Li M. 2019. From Pig Breeding Environment to Subsequently Produced Pork: Comparative Analysis of Antibiotic Resistance Genes and Bacterial Community Composition. Frontiers in Microbiology 10:43.
307. Xiao L, Estellé J, Källerich P, Ramayo-Caldas Y, Xia Z, Feng Q, Liang S, Pedersen AØ, Kjeldsen NJ, Liu C, Maguin E, Doré J, Pons N, Le Chatelier E, Prifti E, Li J, Jia H, Liu X, Xu X, Ehrlich SD, Madsen L, Kristiansen K, Rogel-Gaillard C, Wang J. 2016. A reference gene catalogue of the pig gut microbiome. Nature Microbiology 1:16161.

308. Kwok TTK, Nieuwenhuijse FD, Phan VTM, Koopmans PGM. 2020. Virus Metagenomics in Farm Animals: A Systematic Review. *Viruses* 12:107.
309. Zhang B, Tang C, Yue H, Ren Y, Song Z. 2014. Viral metagenomics analysis demonstrates the diversity of viral flora in piglet diarrhoeic faeces in China. *Journal of General Virology* 95:1603-1611.
310. Denner J. 2017. The porcine virome and xenotransplantation. *Virology Journal* 14:171.
311. Sachsenröder J, Twardziok SO, Scheuch M, Johne R. 2014. The general composition of the faecal virome of pigs depends on age, but not on feeding with a probiotic bacterium. *PloS one* 9:e88888.
312. Chen Q, Wang L, Zheng Y, Zhang J, Guo B, Yoon K-J, Gauger PC, Harmon KM, Main RG, Li G. 2018. Metagenomic analysis of the RNA fraction of the fecal virome indicates high diversity in pigs infected by porcine endemic diarrhea virus in the United States. *Virology Journal* 15:95.
313. Ueki A, Akasaka H, Suzuki D, Hattori S, Ueki K. 2006. *Xylanibacter oryzae* gen. nov., sp. nov., a novel strictly anaerobic, Gram-negative, xylanolytic bacterium isolated from rice-plant residue in flooded rice-field soil in Japan. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 56:2215-2221.
314. Ushida K, Tsuchida S, Ogura Y, Toyoda A, Maruyama F. 2016. Domestication and cereal feeding developed domestic pig-type intestinal microbiota in animals of suidae. *Animal Science Journal* 87:835-841.
315. Hause BM, Padmanabhan A, Pedersen K, Gidlewski T. 2016. Feral swine virome is dominated by single-stranded DNA viruses and contains a novel *Orthopneumovirus* which circulates both in feral and domestic swine. *Journal of General Virology* 97:2090-2095.
316. McCormack UM, Curião T, Buzoianu SG, Prieto ML, Ryan T, Varley P, Crispie F, Magowan E, Metzler-Zebeli BU, Berry D, Sullivan O, Cotter PD, Gardiner GE, Lawlor PG. 2017. Exploring a Possible Link between the Intestinal Microbiota and Feed Efficiency in Pigs. *Applied and Environmental Microbiology* 83:e00380-17.
317. Tan Z, Yang T, Wang Y, Xing K, Zhang F, Zhao X, Ao H, Chen S, Liu J, Wang C. 2017. Metagenomic Analysis of Cecal Microbiome Identified Microbiota and Functional Capacities Associated with Feed Efficiency in Landrace Finishing Pigs. *Front Microbiol* 8:1546.
318. Quan J, Wu Z, Ye Y, Peng L, Wu J, Ruan D, Qiu Y, Ding R, Wang X, Zheng E, Cai G, Huang W, Yang J. 2020. Metagenomic Characterization of Intestinal Regions in Pigs With Contrasting Feed Efficiency. *Frontiers in Microbiology* 11:32.
319. Looft T, Johnson TA, Allen HK, Bayles DO, Alt DP, Stedtfeld RD, Sul WJ, Stedtfeld TM, Chai B, Cole JR, Hashsham SA, Tiedje JM, Stanton TB. 2012. In-feed antibiotic effects on the swine intestinal microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109:1691.
320. Allen HK, Stanton TB. 2014. Altered Egos: Antibiotic Effects on Food Animal Microbiomes. *Annual Review of Microbiology* 68:297-315.
321. Johnson TA, Looft T, Severin AJ, Bayles DO, Nasko DJ, Wommack KE, Howe A, Allen HK. 2017. The In-Feed Antibiotic Carbadox Induces Phage Gene Transcription in the Swine Gut Microbiome. *mBio* 8:e00709-17.
322. Allen HK, Looft T, Bayles DO, Humphrey S, Levine UY, Alt D, Stanton TB. 2011. Antibiotics in Feed Induce Prophages in Swine Fecal Microbiomes. *mBio* 2:e00260-11.
323. Bearson B, Allen H, Brunelle B, Lee IS, Casjens S, Stanton T. 2014. The agricultural antibiotic carbadox induces phage-mediated gene transfer in *Salmonella*. *Frontiers in Microbiology* 5:52.
324. Stanton TB, Humphrey SB, Sharma VK, Zuerner RL. 2008. Collateral Effects of Antibiotics: Carbadox and Metronidazole Induce VSH-1 and Facilitate Gene Transfer among *Brachyspira hyodysenteriae* Strains. *Applied and Environmental Microbiology* 74:2950.
325. Guevarra RB, Lee JH, Lee SH, Seok M-J, Kim DW, Kang BN, Johnson TJ, Isaacson RE, Kim HB. 2019. Piglet gut microbial shifts early in life: causes and effects. *Journal of animal science and biotechnology* 10:1-1.
326. Pajarillo EAB, Chae JP, Balolong MP, Kim HB, Seo K-S, Kang D-K. 2014. Pyrosequencing-based analysis of fecal microbial communities in three purebred pig lines. *Journal of Microbiology* 52:646-651.

327. Nowland LT, Plush JK, Barton M, Kirkwood NR. 2019. Development and Function of the Intestinal Microbiome and Potential Implications for Pig Production. *Animals* 9:76.
328. Lowe BA, Marsh TL, Isaacs-Cosgrove N, Kirkwood RN, Kiupel M, Mulks MH. 2012. Defining the "core microbiome" of the microbial communities in the tonsils of healthy pigs. *BMC Microbiology* 12:20.
329. Lowe BA, Marsh TL, Isaacs-Cosgrove N, Kirkwood RN, Kiupel M, Mulks MH. 2011. Microbial communities in the tonsils of healthy pigs. *Veterinary Microbiology* 147:346-357.
330. Kernaghan S, Bujold AR, MacInnes JI. 2012. The microbiome of the soft palate of swine. *Animal Health Research Reviews* 13:110-120.
331. Blomström A-L, Ye X, Fossum C, Wallgren P, Berg M. 2018. Characterisation of the Virome of Tonsils from Conventional Pigs and from Specific Pathogen-Free Pigs. *Viruses* 10:382.
332. Correa-Fiz F, Gonçalves dos Santos JM, Illas F, Aragon V. 2019. Antimicrobial removal on piglets promotes health and higher bacterial diversity in the nasal microbiota. *Scientific Reports* 9:6545.
333. Correa-Fiz F, Fraile L, Aragon V. 2016. Piglet nasal microbiota at weaning may influence the development of Glässer's disease during the rearing period. *BMC Genomics* 17:404.
334. Siqueira FM, Pérez-Wohlfeil E, Carvalho FM, Trelles O, Schrank IS, Vasconcelos ATR, Zaha A. 2017. Microbiome overview in swine lungs. *PloS one* 12:e0181503-e0181503.
335. Jiang N, Liu H, Wang P, Huang J, Han H, Wang Q. 2019. Illumina MiSeq Sequencing Investigation of Microbiota in Bronchoalveolar Lavage Fluid and Cecum of the Swine Infected with PRRSV. *Current Microbiology* 76:222-230.
336. Mark Welch JL, Dewhirst FE, Borisy GG. 2019. Biogeography of the Oral Microbiome: The Site-Specialist Hypothesis. *Annual Review of Microbiology* 73:335-358.
337. Deo PN, Deshmukh R. 2019. Oral microbiome: Unveiling the fundamentals. *Journal of oral and maxillofacial pathology*. 23:122.
338. Krishnan K, Chen T, Paster BJ. 2017. A practical guide to the oral microbiome and its relation to health and disease. *Oral diseases* 23:276-286.
339. Arai S, Kim H, Watanabe T, Tohya M, Suzuki E, Ishida-Kuroki K, Maruyama F, Murase K, Nakagawa I, Sekizaki T. 2018. Assessment of pig saliva as a *Streptococcus suis* reservoir and potential source of infection on farms by use of a novel quantitative polymerase chain reaction assay. *American Journal of Veterinary Research* 79:941-948.
340. Baird-Parker AJM. 1994. Foods and microbiological risks. *Microbiology* 140:687-695.
341. Juqing W, Runxue L, Miao Z, Kai S, Xiaonan J, Di Z, Yingqun N, Chunbao L. 2021. Microbiota changes on the surface of pig carcasses during refrigerated transportation and marketing. *Food Materials Research* 1:1-9.
342. Han S-H, Kim J-H, Na J, Yoo JG, Oh M-H. 2019. Genotypic Classification of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* from Korean Slaughterhouses Using Semiautomated Repetitive Sequence-Based Polymerase Chain Reaction. *Foodborne Pathogens and Disease* 16:769-777.
343. Saucier L. 1999. Meat Safety: Challenges for the Future. *Outlook on Agriculture* 28:77-82.
344. Dainty RH, Mackey BM. 1992. The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes. *Journal of Applied Bacteriology* 73:103s-114s.
345. Walia K, Argüello H, Lynch H, Grant J, Leonard FC, Lawlor PG, Gardiner GE, Duffy G. 2017. The efficacy of different cleaning and disinfection procedures to reduce *Salmonella* and *Enterobacteriaceae* in the lairage environment of a pig abattoir. *International Journal of Food Microbiology* 246:64-71
346. Luchansky JB, Chen Y, Porto-Fett ACS, Pouillot R, Shoyer BA, Johnson-DeRycke R, Eblen DR, Hoelzer K, Shaw WK, Jr., van Doren JM, Catlin M, Lee J, Tikekar R, Gallagher D, Lindsay JA, The Listeria Market Basket Survey Multi-Institutional T, Dennis S. 2017. Survey for *Listeria monocytogenes* in and on Ready-to-Eat Foods from Retail Establishments in the United States (2010 through 2013): Assessing Potential Changes of Pathogen Prevalence and Levels in a Decade. *Journal of Food Protection* 80:903-921.

347. Prendergast DM, Duggan SJ, Gonzales-Barron U, Fanning S, Butler F, Cormican M, Duffy G. 2009. Prevalence, numbers and characteristics of *Salmonella* spp. on Irish retail pork. *International Journal of Food Microbiology* 131:233-239.
348. Veskovc Moracanin S, Memisi N, Djukic D, Milijasevic M, Borovic B, Raseta M. 2019. Air quality and impact on food safety. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 333:012111.
349. Santé Canada. 2020. Determination of the Aerobic Colony Counts in Foods, MFHPB-18. The compendium of analytical methods (Vol. 2).
350. Santé Canada. 1997. Determination of Enterobacteriaceae, MFLP-43. The compendium of analytical methods (Vol.3).
351. Kalton G, Flores-Cervantes I. 2003. Weighting methods. *Journal of official statistics* 19:81.
352. Gill CO. 2000. Chapter 5 - HACCP in primary processing: red meat, p 81-122., *In HACCP in the Meat Industry* (1st Edition) 344 p. Woodhead Publishing. Duxford, United Kingdom.
353. Klindworth A, Pruesse E, Schweer T, Peplies J, Quast C, Horn M, Glöckner FO. 2013. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic acids research* 41:e1-e1.
354. Andrews S. 2010. FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data. <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>. Accessed 2020-09-15
355. Callahan BJ, McMurdie PJ, Holmes SP. 2017. Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis. *The ISME Journal* 11:2639-2643.
356. Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJA, Holmes SP. 2016. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods* 13:581-583.
357. Prodan A, Tremaroli V, Brolin H, Zwinderman AH, Nieuwdorp M, Levin E. 2020. Comparing bioinformatic pipelines for microbial 16S rRNA amplicon sequencing. *PLOS ONE* 15:e0227434.
358. Pruesse E, Quast C, Knittel K, Fuchs BM, Ludwig W, Peplies J, Glöckner FO. 2007. SILVA: a comprehensive online resource for quality checked and aligned ribosomal RNA sequence data compatible with ARB. *Nucleic Acids Research* 35:7188-7196.
359. Wright ES. 2016. Using DECIPHER v2.0 to analyze big biological sequence data in R. *R Journal* 8:352-359.
360. Schliep KP. 2010. phangorn: phylogenetic analysis in R. *Bioinformatics* 27:592-593.
361. McMurdie PJ, Holmes S. 2013. phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLOS ONE* 8:e61217.
362. Davis NM, Proctor DM, Holmes SP, Relman DA, Callahan BJ. 2018. Simple statistical identification and removal of contaminant sequences in marker-gene and metagenomics data. *Microbiome* 6:226.
363. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* 215:403-410.
364. Andersen KS, Kirkegaard RH, Karst SM, Albertsen M. 2018. ampvis2: an R package to analyse and visualise 16S rRNA amplicon data. *bioRxiv*
365. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ). 2019. Lignes directrices et normes pour l'interprétation des résultats analytiques en microbiologie alimentaire. <https://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/Publications/recueil.pdf>. Consulté le 28-11-2021
366. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), World Health Organization (WHO) . 2009. Risk Characterization of Microbiological Hazards in Foods. . Rome, Italy. <https://www.fao.org/documents/card/en/c/37c8cde5-6b83-5705-ac0e-17f4fdf1209b/>. consulté le 28-11-2021
367. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2020. FAO Guide to Ranking Food Safety Risks at the National Level. FAO, Rome, Italy. <https://www.fao.org/3/cb0887en/CB0887EN.pdf>. Consulté le 28-11-2021
368. Lin H, Peddada SD. 2020. Analysis of compositions of microbiomes with bias correction. *Nature Communications* 11:3514.
369. Lozupone C, Knight R. 2005. UniFrac: a New Phylogenetic Method for Comparing Microbial Communities. *Applied and Environmental Microbiology* 71:8228.

370. Bray JR, Curtis JT. 1957. An Ordination of the Upland Forest Communities of Southern Wisconsin. *Ecological Monographs* 27:325-349.
371. Legendre P, Gallagher ED. 2001. Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. *Oecologia* 129:271-280.
372. Dhariwal A, Chong J, Habib S, King IL, Agellon LB, Xia J. 2017. MicrobiomeAnalyst: a web-based tool for comprehensive statistical, visual and meta-analysis of microbiome data. *Nucleic Acids Research* 45:W180-W188.
373. Segata N, Izard J, Waldron L, Gevers D, Miropolsky L, Garrett WS, Huttenhower C. 2011. Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biology* 12:R60.
374. Knights D, Kuczynski J, Charlson ES, Zaneveld J, Mozer MC, Collman RG, Bushman FD, Knight R, Kelley ST. 2011. Bayesian community-wide culture-independent microbial source tracking. *Nature methods* 8:761-763.
375. Warriner K, Aldsworth TG, Kaur S, Dodd CER. 2002. Cross-contamination of carcasses and equipment during pork processing. *Journal of Applied Microbiology* 93:169-177.
376. Spescha C, Stephan R, Zweifel C. 2006. Microbiological Contamination of Pig Carcasses at Different Stages of Slaughter in Two European Union–Approved Abattoirs. *Journal of Food Protection* 69:2568-2575.
377. von Eiff, Christof M.D.; Kuhn, Nana M.D.; Herrmann, Mathias M.D.; Weber, Susanne M.T.; Peters, Georg M.D. 1996. *Micrococcus luteus* as a cause of recurrent bacteremia, *The Pediatric Infectious Disease Journal* 15(8):711-713
378. René Breuch, Daniel Klein, Eleni Siefke, Martin Hebel, Ulrike Herbert, Claudia Wickleder, Peter Kaul, 2020. Differentiation of meat-related microorganisms using paper-based surface-enhanced Raman spectroscopy combined with multivariate statistical analysis. *Talanta* 219:121315
379. Hanna-Kirsti S. Leiros, Sigrid Kozielski-Stuhrmann, Ulrike Kapp, Laurent Terradot, Gordon A. Leonard, Seán M. McSweeney, 2004. Structural Basis of 5-Nitroimidazole Antibiotic Resistance: The crystal structure of NimA from *deinococcus radiodurans*. *Journal of Biological Chemistry* 279(53):55840-55849
380. Gerber, E., Bernard, R., Castang, S., Chabot, N., Coze, F., Dreux-Zigha, A., Hauser, E., Hivin, P., Joseph, P., Lazarelli, C., Letellier, G., Olive, J., & Leonetti, J. P. 2015. *Deinococcus* as new chassis for industrial biotechnology: biology, physiology and tools. *Journal of applied microbiology*, 119(1), 1–10.
381. Liu C, Wong W, Yang S, Wang F, Fung C, You K, Liu C. 1999. *Flavobacterium meningosepticum* bacteremia: an analysis of 16 cases. *Chinese medical journal* 62:125-132.
382. Bernardet J-F, Bowman JP. *Flavobacterium* 2015, p 1-75, *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*
383. Gill CO, Bryant J. 1992. The contamination of pork with spoilage bacteria during commercial dressing, chilling and cutting of pig carcasses. *Int J Food Microbiol* 16:51-62.
384. Le Floc'h N, Knudsen C, Gidenne T, Montagne L, Merlot E, Zemb O. 2014. Impact of feed restriction on health, digestion and faecal microbiota of growing pigs housed in good or poor hygiene conditions. *Animal* 8:1632-1642.
385. Maciorowski KG, Herrera P, Jones FT, Pillai SD, Ricke SC. 2007. Effects on poultry and livestock of feed contamination with bacteria and fungi. *Animal Feed Science and Technology* 133:109-136.
386. Duchaine C, Grimard Y, Cormier Y. 2000. Influence of building maintenance, environmental factors, and seasons on airborne contaminants of swine confinement buildings. *Aihaj* 61:56-63.
387. Strube ML, Hansen JE, Rasmussen S, Pedersen K. 2018. A detailed investigation of the porcine skin and nose microbiome using universal and *Staphylococcus* specific primers. *Scientific Reports* 8:12751.
388. Swe PM, Zakrzewski M, Kelly A, Krause L, Fischer K. 2014. Scabies Mites Alter the Skin Microbiome and Promote Growth of Opportunistic Pathogens in a Porcine Model. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 8:e2897.

389. Davis MF, Pisanic N, Rhodes SM, Brown A, Keller H, Nadimpalli M, Christ A, Ludwig S, Ordak C, Spicer K, Love DC, Larsen J, Wright A, Blacklin S, Flowers B, Stewart J, Sexton KG, Rule AM, Heaney CD. 2018. Occurrence of *Staphylococcus aureus* in swine and swine workplace environments on industrial and antibiotic-free hog operations in North Carolina, USA: A One Health pilot study. *Environmental research* 163:88-96.
390. Wang X, Li X, Zhao C, Hu P, Chen H, Liu Z, Liu G, Wang Z. 2012. Correlation between composition of the bacterial community and concentration of volatile fatty acids in the rumen during the transition period and ketosis in dairy cows. *Applied and environmental microbiology* 78:2386-2392.
391. Holman DB, Gzyl KE, Mou KT, Allen HK, Cotter PD. 2021. Weaning Age and Its Effect on the Development of the Swine Gut Microbiome and Resistome. *mSystems* 6:e00682-21.
392. Li Z, Hu G, Zhu L, Sun Z, Jiang Y, Gao M-J, Zhan X. 2021. Study of growth, metabolism, and morphology of *Akkermansia muciniphila* with an in vitro advanced bionic intestinal reactor. *BMC microbiology* 21:61-61.
393. Markowiak-Kopeć P, Śliżewska K. 2020. The Effect of Probiotics on the Production of Short-Chain Fatty Acids by Human Intestinal Microbiome. *Nutrients* 12:1107
394. Wang M, Wichienchot S, He X, Fu X, Huang Q, Zhang B. 2019. In vitro colonic fermentation of dietary fibers: Fermentation rate, short-chain fatty acid production and changes in microbiota. *Trends in Food Science & Technology* 88:1-9.
395. Puertollano E, Kolida S, Yaqoob P. 2014. Biological significance of short-chain fatty acid metabolism by the intestinal microbiome. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 17:139-44.
396. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 2018. Chapter 12 - Sampling to Assess Control of the Environment, p 263-292, *In Microorganisms in Foods 7: Microbiological Testing in Food Safety Management (2nd Edition)* 479 p. Springer International Publishing. Cham, Switzerland
397. Palleroni NJ. 2015. *Pseudomonas*, p 1-1, *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*
398. Juni E. 2015. *Psychrobacter*, p 1-10, *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*
399. Rohde G, Straube E, Essig A, Reinhold P, Sachse K. 2010. Chlamydial zoonoses. *Deutsches Arzteblatt international* 107:174-180.
400. Larsen J, Schønheyder HC, Lester CH, Olsen SS, Porsbo LJ, Garcia-Migura L, Jensen LB, Bisgaard M, Hammerum AM. 2010. Porcine-origin gentamicin-resistant *Enterococcus faecalis* in humans, Denmark. *Emerging infectious diseases* 16:682-684.

Annexe A : Résumé des maladies porcines d'origines bactériennes

TABLE 7 Détail des maladies porcines d'origine bactérienne.

Maladie et/ou symptôme	Microorganisme	Zoonose	Distribution à travers la chaîne	Classification
Bactéries Gram Positif				
Cystite, pyélonéphrite	<i>Actinobaculum suis</i>	Non	Mondial, le pathogène se transmet par l'urine et est présent dans le tractus urinaire des porcs. Il n'est pas problématique en abattoir ou sur les produits du détail	Bacille, Gram positif, anaérobe, non sporulant
Abscès, arthrite, endocardite, mastite, ostéomyélite et pneumonie	<i>T. pyogenes</i> (anciennement : <i>Arcanobacterium pyogenes</i> .)	Non	Mondial, il n'est pas problématique en abattoir ou sur les produits du détail. Il se retrouve presque exclusivement dans les abcès.	Bacille, Gram positif, aérobe microaérophile, non sporulant
Autolyse <i>in utero</i>	<i>Trueperella abortus</i> (anciennement : <i>Arcanobacterium. Abortus</i>)	Non	Nouveau pathogène animal dont la distribution est mal connue	Bacille de forme diphtéroïde, Gram positif, microaérophile anaérobe, hémolytique
Anthrax	<i>Bacillus anthracis</i>	Oui, tous les mammifères peuvent être affectés	Mondial, il apparaît rarement et de façon sporadique. Comme le porc peut y survivre, il est très problématique une fois détecté. Une décontamination majeure doit être réalisée, car le pathogène est sporulant au contact de l'oxygène. Il peut aussi être retrouvé dans les produits du détail dans de très rare cas.	Bacille, Gram positif, aérobe, sporulant
Botulisme	<i>Clostridium botulinum</i>	Oui	Se retrouvent dans l'environnement sous forme de spores. Ils se retrouvent principalement dans les sols et les fèces et sont retrouvés à tous les niveaux de la chaîne de transformation	Bacille, Gram positif, anaérobe, sporulant
Charbon bactérien	<i>C. chauvoei</i>			
Entérite néonatale	<i>C. difficile</i>			
Entérite néonatale	<i>C. perfringens</i>			
Mort subite, hépatite	<i>C. novyi</i>			
Œdème malin	<i>C. septicum</i>			
Tétanos	<i>C. tetani</i>			
Entérites	Différentes espèces d' <i>Enterococcus</i>	Oui	Font partie du microbiote du système digestif porcin et se retrouvent dans l'ensemble de la chaîne de transformation	Coque, Gram positif aérobe, anaérobe facultatif
Rouget du porc	<i>Erysipelothrix</i>	Oui, par contact direct	Mondial, le réservoir	Bacille, Gram

	<i>rhusiopathiae</i>	avec une blessure	principal est le porc, 30-50 % des porcs sont porteurs sains. Survit mal dans l'environnement et donc se retrouve peu dans les carcasses et au détail	positif, aérobe microaérophile, non sporulant
Listériose, avortement, encéphalite, septicémie	<i>Listeria monocytogenes</i>	Oui, peu problématique pour une personne en santé, mais dangereuse pour les femmes enceintes et les personnes immunosupprimées.	Mondial et présent dans l'environnement en général, présent dans les porcs de finitions, mais virtuellement pas au niveau des porcelets, une problématique majeure en abattoir, <i>L. spp.</i> pouvant atteindre 95 % des pièces de viande dépendamment de la découpe, se retrouve dans près d'un tiers des produits de détail.	Bacille, Gram positif, aérobe microaérophile, non sporulant
Tuberculose	Différentes espèces de <i>Mycobacterium</i>	Non, cause des pneumonies pour les personnes immunosupprimées, mais les sources de contamination ne sont pas d'origine porcine.	Distribuée uniformément dans la population porcine, mais à des taux d'infection minime. En 2008, 0.0178 % des porcs américains ont été diagnostiqués à l'abattoir. La problématique est presque nulle dans les produits du détail.	Bacille, Gram positif, aérobe microaérophile, non sporulant
Pneumonie enzootie	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	Non	Se retrouvent dans la plupart des exploitations porcines. De 30 à 50 % des exploitations porcines aux États-Unis ont rapporté des symptômes associés à <i>Mycoplasma</i> .	Bactérie sans paroi cellulaire et obligatoirement intracellulaire
Arthrite, otites, polysérosites	<i>M. hyorhinis</i>	Oui	Les bactéries se retrouvent principalement dans le système respiratoire et ne sont pas un problème à l'abattoir ou dans les produits finis.	
Arthrite	<i>M. hyosynoviae</i>	Non		
Anémie, infertilité, croissance ralentie, péricardite, Chétivité	<i>M. suis</i>	Oui	Le pathogène et sa distribution sont peu connus. Il est retrouvé mondialement. Il se retrouve dans les fèces des porcs infectés, mais n'est pas problématique à l'abattoir ou dans les produits du détail.	
Lymphadénite granulomateuse	<i>Rhodococcus equi</i>	Oui, mais pas de source porcine	L'homme est un réservoir important et contamine les porcs à tous les niveaux de la chaîne. Le pathogène se retrouve	Bacille, Gram positif, aérobe microaérophile, non sporulant
Abcès, arthrite, entérite, mastite, métrite, septicémie néonatale, vaginite	<i>Staphylococcus aureus</i>	Oui, surtout les <i>S. aureus</i> résistant à la méticilline (MRSA). Se transmet entre les travailleurs et les porcs		Coque, Gram positif aérobe, anaérobe facultatif
Dermite exsudative	<i>S. hyicus</i>			

du porcelet		porteurs.	dans les voies respiratoires des porcs	
		Hyicus ne cause pas de zoonose	dans une portion variant de 20 à 50 %, puis diminue dans les carcasses et dans les produits du détail, car la tête est retirée de façon hygiénique	
Arthrite, endocardite, méningite, septicémie.	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>Equisimilis</i>	Oui	S. suis est le principal S. pathogène des porcs. Il se retrouve dans le système respiratoire, digestif et reproducteur porcin. Il est peu problématique à l'abattoir et dans les produits du détail, car le pathogène est très sensible aux détergents les plus communs. De plus, la chaleur détruit le pathogène rapidement. Il a été problématique en chine où les normes de salubrité sont moins bien appliquées.	Coque, Gram positif aérobe, anaérobe facultatif
Lymphadénite cervicale, agents secondaires de l'arthrite, encéphalite, pneumonie.	<i>S. porcinus</i>	Non, les lignées humaines ne semblent pas provenir du porc		
Arthrite, endocardite, méningite	<i>S. suis</i>	Oui, contamine principalement l'homme par les blessures en surface de la peau		
Type 2 : avortements sporadiques peu fréquents Type 3 : lésion pyohémique à travers divers organes	<i>Actinomyces hyovaginalis</i> (type 2 et type 3)	Non	Commun dans le microbiote vaginal porcin	Pléomorphe, Gram positif, anaérobe facultatif, non sporulant, non mobile avec une croissance lente
Bactéries Gram Négatif				
Pleuropneumonie	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	Non	Mondial, Indigène au système respiratoire porcin, Présent dans l'air, retrouvé dans 78 % des fermes canadiennes	Bacille, Gram négatif aérobe et anaérobe facultatif
Pneumonie, Septicémie	<i>A. suis</i>			
Rhinite atrophique du porc	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	Rare, mais en croissance	Mondial, présent dans des porcs en santé et malade	Bacille, Gram négatif aérobe et anaérobe facultatif
Mélioïdose, abcès internes, abcès dans les ganglions lymphatiques	<i>Burkholderia pseudomallei</i>	Oui, par la viande et par des contaminations fécales	Se retrouve principalement dans les régions tropicales. Les carcasses peuvent être contaminées soit par l'eau ou par les fèces de porc infecté. Les produits du détail représentent une source considérable de risque lorsque la viande est mal cuite.	Bacille, Gram négatif aérobe et anaérobe facultatif
Dysenterie du porc	<i>Brachyspira hyodysenteriae</i>	Non	Mondial, présent principalement en Asie du	Bacille courbe ou spiralé, Gram

Spirochétose du côlon (colite)	<i>B. pilosicoli</i>	Oui, affecte peu l'homme, mais l'homme peut facilement contaminer le porc	Sud-est, en Europe et en Amérique du Sud, largement éliminé en Amérique	négatif, microaérophile à anaérobe
Brucellose, avortement, arthrite, infertilité	<i>Brucella suis</i>	Oui, mais principalement par le lait de bovin et peu par le porc	Mondial, présent surtout dans les porcs sauvages, se répand rapidement par la nourriture contaminée	Bacille, Gram négatif aérobe et anaérobe facultatif
Entérite	<i>Campylobacter coli/jejuni</i>	Oui	Mondial, indigène au système digestif des porcs, se retrouve sur les carcasses, et peu sur les produits transformés. La cause la plus importante et commune de toxi-infection causée par le porc.	Bacille courbe ou spiralé, Gram négatif, microaérophile à anaérobe
Chlamydiose, avortement, arthrite, conjonctivite, entérite, métrite, péricardite, pneumonie	<i>Chlamydophila pecorum et psittaci</i>	Non Oui, mais les souches porcines ne sont pas reconnues pour causer des zoonoses	Mondiaux, se retrouvent dans le système digestif de 67 % des porcelets et 99 % des porcs de finitions. Peut-être problématique si le pathogène entre dans les voies respiratoires humaines. Peuvent être présent sur les carcasses et sur les produits du détail.	Bactérie sans paroi cellulaire et obligatoirement intracellulaire
Colibacillose, maladie de l'œdème, cystite, entérite, mastite néonatale, septicémie	<i>Escherichia coli</i>	Oui, particulièrement O157 : H7, O26 et certains sérogroupes non O157	Elles se retrouvent principalement dans les fèces des porcs, elles sont aussi présentes dans l'eau, le sol, l'aliment des porcs et leur environnement. Les contaminations des carcasses sont de type fécal et sont persistantes. Elles se retrouvent à l'abattoir comme dans les produits transformés.	Bacille, Gram négatif aérobe et anaérobe facultatif
Maladie de Glasser, arthrite, polysérosite	<i>Haemophilus parasuis</i>	Non	Membre du microbiote normal du système respiratoire porcin et est présent dans la quasi-totalité des porcs.	Bacille, Gram négatif aérobe et anaérobe facultatif
Entéropathie proliférative	<i>Lawsonia intracellularis</i>	Non	Mondial, le pathogène se retrouve communément dans toutes les fermes porcines. Environ 4 % des fermes n'en détectent pas. Se retrouve principalement dans les fèces, mais n'est pas problématique dans le reste de la chaîne.	Bacille courbe ou spiralé, Gram négatif, microaérophile à anaérobe
Infertilité, mort-né,	Différentes espèces	Oui, risque pour les	Les différents sérovars	Bacille courbe ou

porcelet faible, leptospirose	de <i>Leptospira</i>	manipulateurs de porcs (vétérinaire, fermier, travailleur d'abattoir)	sont très localisés dans différents pays, mais l'entièreté peut affecter le porc et l'homme. Certains sérovars peuvent être transmis aux porcs par des animaux comme la moufette.	spiralé, Gram négatif, microaérophile à anaérobe
Pasteurellose pneumonique, rhinite atrophique progressive	<i>Pasteurella multocida</i>	Oui, principalement transmis par morsure ou griffure	Mondial, son épidémiologie est mal comprise, mais il a été détecté dans pratiquement tous les cheptels porcins. Se retrouvent dans le système respiratoire porcin et la bouche des porcs. Peu dangereux à l'abattoir et dans les viandes si la tête et le système respiratoire sont retirés de façon sanitaire.	Bacille, Gram négatif aérobe et anaérobe facultatif
Salmonellose entérique et septicémique	<i>Salmonella spp.</i> <i>S. thyphimurium</i> <i>S. choleraesuis</i> <i>S. typhisuis</i> <i>S. heidelberg</i> <i>S. Dublin</i> <i>S. enteritidis</i>	Oui, pose un danger sérieux à la santé humaine	Mondial, Indigène au système digestif du porc. Un tiers des porcs en sont porteur au Canada. Un peu moins 20 % des carcasses sont contaminée à l'éviscération et un moins de 10 % des pièces de viande crue. La contamination dans les produits transformés crus est plus importante (jusqu'à 60 %) à cause des contaminations par d'autres ingrédients.	Bacille, Gram négatif aérobe et anaérobe facultatif
Spirochétose cutanée	<i>Treponema pedis</i>	Non	Mondiale, est peu problématique et cause des nécroses des oreilles et des lésions de la peau sans plus.	Bacille courbe ou spiralé, Gram négatif, microaérophile à anaérobe
Entérite Colite	<i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Y. pseudotuberculosis</i>	Oui	Mondial, mais peu commun. Se retrouvent dans le système digestif et cause des diarrhées. Il est persistant dans les porcs même une fois que l'animal s'est remis. Cause rarement des maladies, similaires à une appendicite, chez l'homme. La viande de porc mal cuite est considérée comme étant la source principale de ce pathogène. Il se retrouve	Bacille, Gram négatif aérobe et anaérobe facultatif

Septicémie chez le porcelet, mammite chez la truie	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Non zoonotique, mais est tout de même un pathogène opportuniste causant des pneumonies, méningites, infection urinaire et des septicémies néonatales	en abattoir et dans les produits du détail. Commensal dans le système digestif porcin. Il est présent dans l'environnement dans l'eau et dans le sol et il est fréquemment trouvé dans la sciure (sawdust).	Bacille, Gram négatif, anaérobe facultatif, non mobile, non hémolytique
--	------------------------------	--	---	---

Adapté de (42, 43, 45, 399, 400)

Annexe B : Figures supplémentaires

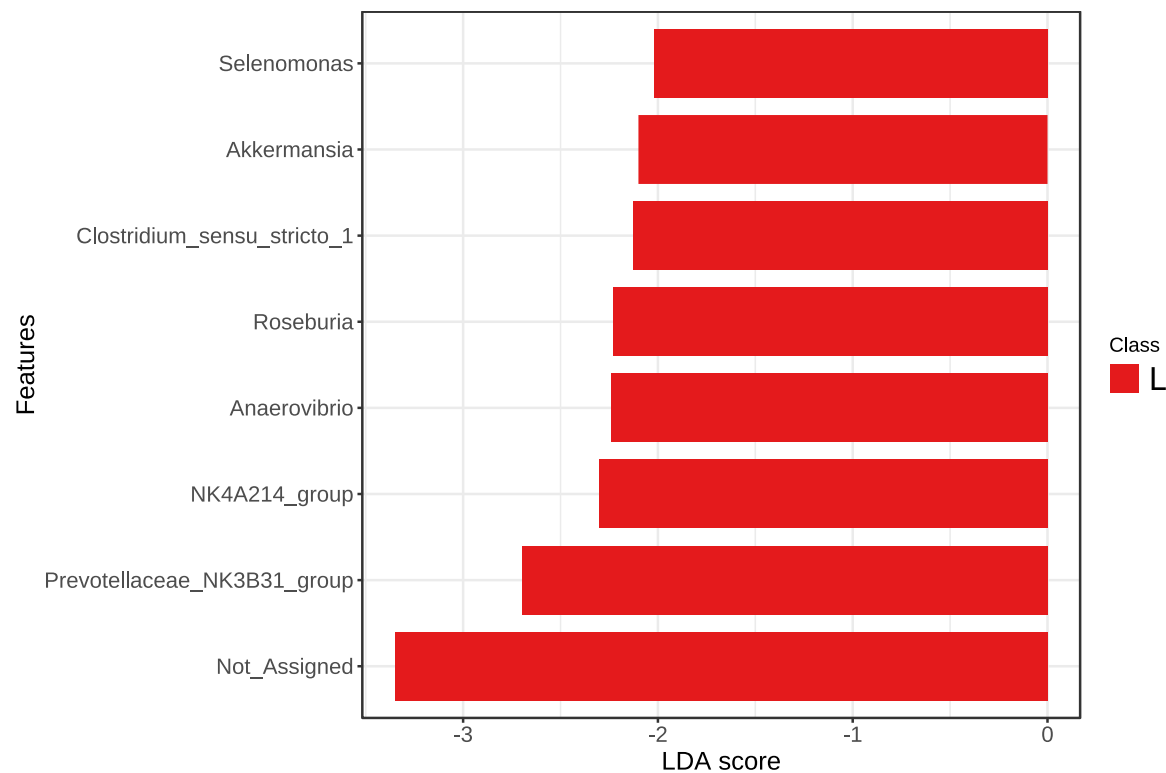


FIG S1 Differentially abundant genera for both the lower (L) and the higher (H) sanitary status farms in the feces samples as assessed using linear discriminant analysis (LDA) with effect size (LEfSe) measurements. Only those genera with an LDA score ($\log_{10}$) of >2.0 are displayed.

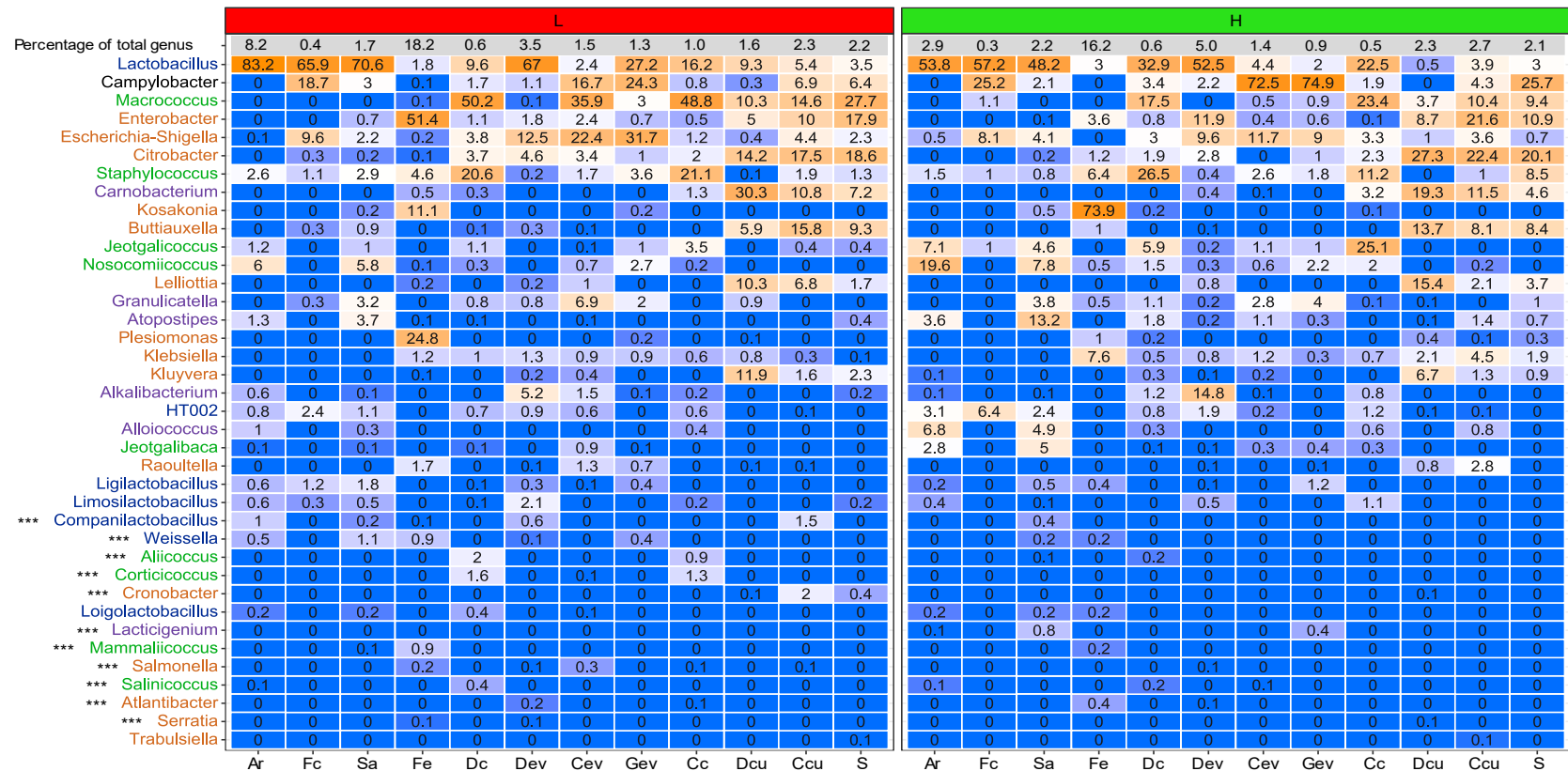


FIG S2 Genera belonging to the *Campylobacteraceae* (black), *Carnobacteriaceae* (purple), *Enterobacteriaceae* (brown), *Lactobacillaceae* (blue) and *Staphylococcaceae* (green) in relative abundance (%) amongst themselves calculated for each of the different sample types for both farms. The top row indicates the percentage these five families represent in the total microbiota. Color gradient ranges from blue=0 % to orange= 100%. Samples were collected from Air=Ar, Feces=Fc, Saliva=Sa, Feed=Fe, Dressed carcasses (after blast chilling)=Dc, Drain at evisceration=Dev, Conveyor at evisceration=Cev, Blood collection gutter=Gev, Cold carcasses (after overnight refrigeration)=Cc, Drain at cut-out=Dcu, Conveyor at cut-out=Ccu, Shoulder=S. Low sanitary status=L (red), High sanitary Status=H (green). Abundance difference between farms the analysis of compositions of microbiomes with bias correction methodology. Significant difference is highlighted with *: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$.

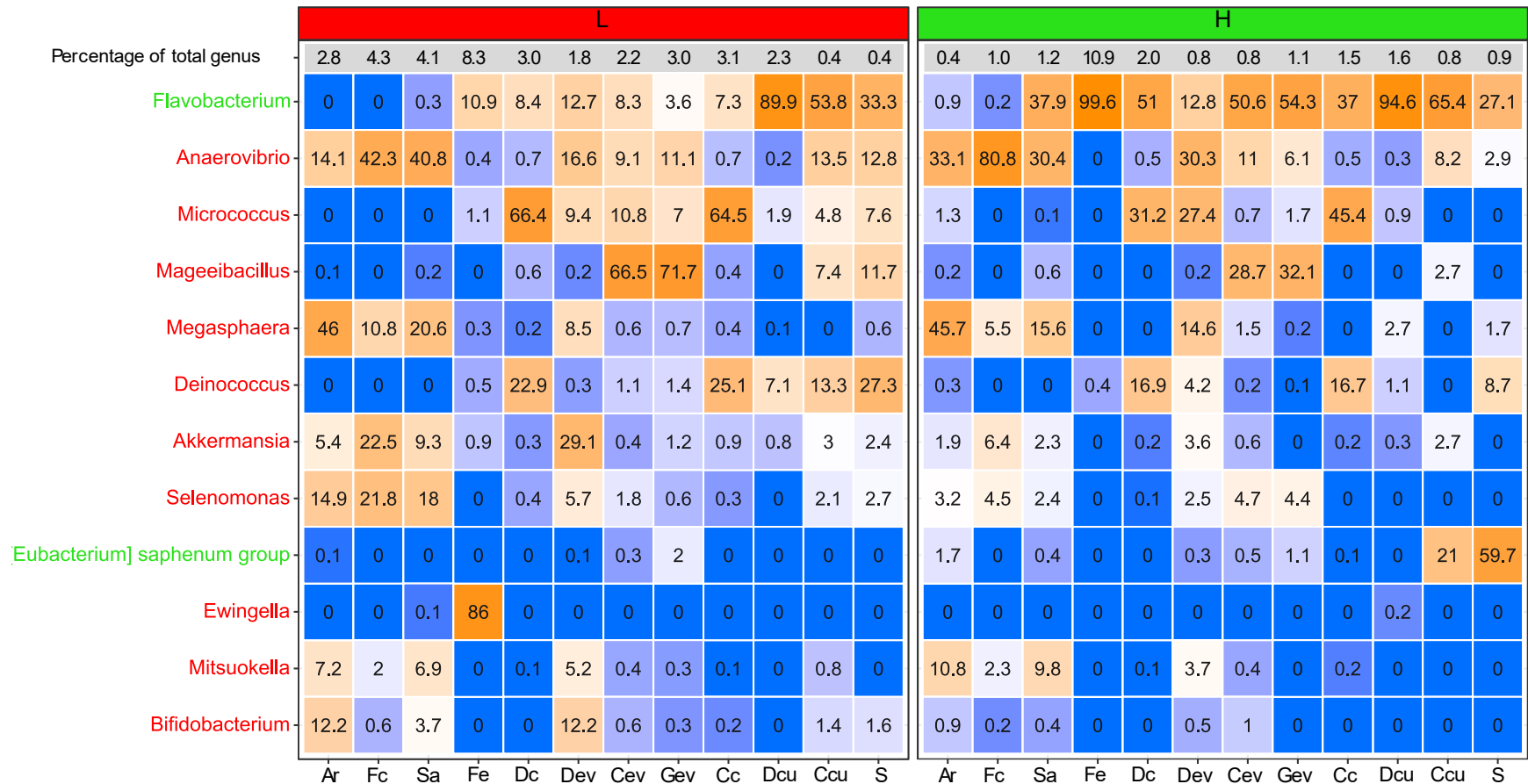


FIG S3 Genera identified by LEfSe analysis as biomarkers of the lower (L; red labels) or higher (H; green labels) sanitary status farms across all samples expressed in relative abundance amongst themselves calculated for each of the different sample types for both farms. The top row indicates the percentage these genera represent in the total microbiota. Color gradient ranges from blue=0 % to orange= 100%. Samples were collected from Air=Ar, Feces=Fc, Saliva=Sa, Feed=Fe, Dressed carcasses (after blast chilling)=Dc, Drain at evisceration=Dev, Conveyor at evisceration=Cev, Blood collection gutter=Gev, Cold carcasses (after overnight refrigeration)=Cc, Drain at cut-out=Dcu, Conveyor at cut-out=Ccu, Shoulder=S.

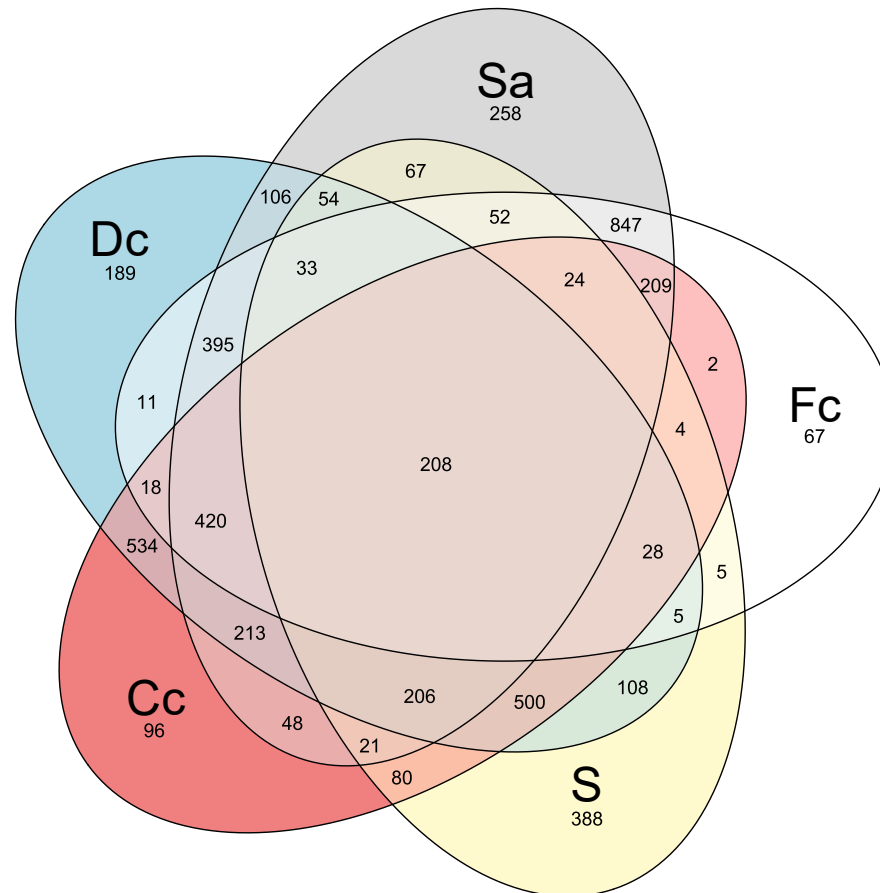


FIG S4 Venn diagram of the shared ASV (count of shared ASV) between the feces=Fc, the saliva=Sa, the Dressed carcasses (after blast chilling)=Dc, Cold carcasses (after overnight refrigeration)=Cc and Shoulder=S samples.

Annexe C : Donnée supplémentaire

TABLE S1 Raw abundance of each ASV and their accompanying taxonomic identification



OTU&TAX table.xlsx