

**Supplementary Table 1.** Overview of identification scores (ID) after 72 hours of incubation with MALDI-TOF MS after enrichment method for *Mycoplasma bovis* (*Mb*), Ct scores (Ct) of triplex real-time PCR for *Mb*, *M. bovirhinis* (*Mbr*), *M. dispar* (*Md*), selective-indicative agar of *M. bovis* (SIA) obtained from 104 BALF originating from cattle in Flanders, Belgium (2019). Also results of blood agar plates are shown (after 24 hours of incubation).

No.	Farm	ID <i>Mb</i>	Ct <i>Mb</i>	Ct <i>Mbr</i>	Ct <i>Md</i>	SIA <i>Mb</i>	Blood agar (24 hours) Identification with MALDI-TOF
1	A	-*	-	25,30	23,47	-	<i>Mannheimia haemolytica</i> , <i>Moraxella branhamella ovis</i>
2	A	-*	-	27,19	23,15	-	<i>M. haemolytica</i> , <i>Staphylococcus cohnii</i> , <i>Bacillus species</i> , <i>Corynebacterium spp.</i> , <i>Streptococcus suis</i>
3	A	2,08*	21,66	24,98	23,00	+	<i>M. haemolytica</i> , <i>Aeromonas veronii</i> , <i>Bacillus spp.</i> , <i>Staphylococcus sciuri</i> , <i>Bibersteinia trehalosi</i>
4	A	-*	36,46	31,56	26,66	-	<i>M. haemolytica</i> , <i>S. sciuri</i> , <i>Staphylococcus lentus</i> , <i>Neisseria perflava</i>
5	A	-	-	27,74	23,16	-	<i>Histophilus somni</i>
6	A	-	-	29,45	23,57	-	<i>B. trehalosi</i> , <i>Streptococcus hyovaginalis</i>
7	A	-	-	25,26	23,06	-	<i>M. haemolytica</i> , <i>B. trehalosi</i> , <i>H. somni</i> , <i>Escherichia coli</i>
8	A	-	-	26,87	22,59	-	<i>M. haemolytica</i> , <i>H. somni</i> , <i>M. ovis</i>
9	A	-	-	26,39	21,73	-	<i>M. haemolytica</i> , <i>B. trehalosi</i> , <i>Bacillus subtilis</i>
10	A	-	-	33,90	26,58	-	<i>M. haemolytica</i>
11	A	-	-	30,20	23,96	-	<i>B. trehalosi</i>
12	A	-	-	28,08	21,48	-	<i>H. somni</i>
13	A	-	-	33,17	32,11	-	<i>H. somni</i>
14	A	-	-	30,01	24,17	-	<i>M. haemolytica</i> , <i>B. trehalosi</i> , <i>H. somni</i>
15	A	-	-	27,38	26,21	-	<i>H. somni</i> , <i>Staphylococcus equorum</i>
16	A	-	-	22,99	22,53	+	<i>M. haemolytica</i> , <i>H. somni</i> , <i>M. ovis</i>
17	A	1,74	-	26,93	24,23	+	<i>M. haemolytica</i> , <i>Pasteurella multocida</i>
18	A	2,08	37,00	30,18	25,80	-	<i>M. haemolytica</i> , <i>B. trehalosi</i> , <i>Streptococcus hyovaginalis</i> , <i>N. subflava</i> , <i>Staphylococcus xylosus</i>
19	A	1,81	24,26	29,56	21,40	+	<i>Gallibacterium anatis</i> , <i>Bacillus pumilus</i> , <i>Lactobacillus salivarius</i> , <i>Pelistega europaea</i>
20	A	1,75	29,09	28,55	23,28	+	<i>M. haemolytica</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>
21	A	-	-	30,46	23,74	-	<i>M. haemolytica</i> , <i>H. somni</i> , <i>S. equorum</i>
22	B	-	-	36,08	40,29	-	-
23	C	-	-	30,39	28,06	-	-
24	C	-	-	27,09	23,72	-	-
25	C	-	-	-	23,26	-	<i>S. suis</i> , <i>B. subtilis</i>
26	D	-	-	33,12	24,53	-	<i>Acinetobacter towneri</i> , <i>Serratia liquefaciens</i> , <i>Aerococcus viridans</i>
27	D	-	-	26,43	20,73	-	<i>P. multocida</i> , <i>M. ovis</i>
28	D	-	-	29,08	29,22	-	<i>E. coli</i> , <i>N. subflava</i> , <i>S. suis</i>
29	D	-	-	26,41	27,27	-	<i>M. ovis</i> , <i>S. sciuri</i>
30	D	-	-	26,66	25,10	-	<i>S. xylosus</i> , <i>Neisseria flavescens</i> , <i>S. suis</i>
31	D	-	-	26,61	26,41	-	<i>P. multocida</i>
32	D	-	-	-	-	-	-
33	D	-	-	29,37	26,83	-	<i>M. haemolytica</i> , <i>P. multocida</i> , <i>M. ovis</i> , <i>S. suis</i>
34	D	-	-	29,79	25,43	-	<i>P. multocida</i> , <i>M. ovis</i>
35	D	-	-	35,07	33,39	-	<i>S. sciuri</i>
36	D	-	-	27,62	20,61	-	<i>M. ovis</i> , <i>Staphylococcus haemolyticus</i>
37	D	-	-	29,33	26,39	-	<i>G. anatis</i> , <i>S. suis</i>
38	D	-	-	28,47	28,38	-	<i>M. ovis</i> , <i>Staphylococcus spp.</i>
39	D	-	-	22,28	21,95	-	<i>M. ovis</i> , <i>Staphylococcus chromogenes</i>
40	E	2,33	-	34,44	32,70	-	<i>E. coli</i>
41	E	-	32,24	38,18	27,26	-	<i>Morganella morgani</i> , <i>Lysinibacillus fusiformis</i>
42	E	2,42	-	30,23	28,94	-	<i>L. fusiformis</i> , <i>Providencia rettgeri</i>
43	E	-	39,55	-	29,61	-	-
44	E	2,24	27,71	29,22	28,58	+	<i>M. haemolytica</i> , <i>E. coli</i>
45	E	2,41	31,53	36,07	36,08	+	<i>Pantoea agglomerans</i> , <i>Staphylococcus felurettii</i> , <i>B. subtilis</i>
46	E	1,96	36,51	31,85	23,17	+	<i>H. somni</i>
47	E	2,41	31,80	27,15	26,06	+	<i>M. haemolytica</i> , <i>H. somni</i> , <i>S. suis</i>
48	E	2,36	36,13	28,31	24,71	-	<i>M. haemolytica</i>
49	E	2,11	32,39	27,29	21,50	+	<i>P. multocida</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>Streptococcus dysgalactiae</i>
50	E	2,46	38,98	38,46	31,94	-	-

No.	Farm	ID <i>Mb</i>	Ct <i>Mb</i>	Ct <i>Mbr</i>	Ct <i>Md</i>	Tween-80 <i>Mb</i>	Blood agar (24 hours) Identification with MALDI-TOF
51	F	-	-	-	23,54	-	<i>M. haemolytica</i> , <i>S. suis</i>
52	F	-	-	-	37,32	-	-
53	F	-	-	29,89	30,13	-	<i>Mannheimia varigena</i> , <i>bacillus licheniformis</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>Streptococcus pluranimalium</i>
54	F	-	-	31,47	30,11	-	<i>B.licheniformis</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>S. pluranimalium</i> , <i>E. coli</i>
55	F	-	-	35,47	28,30	-	<i>B. trehalosi</i> , <i>B. pumilus</i>
56	F	-	-	34,53	38,17	-	<i>B. licheniformis</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>S. pluranimalium</i> , <i>S. chromogenes</i>
57	G	-	-	36,06	-	-	-
58	H	-	-	25,58	23,06	-	<i>Moraxella bovoculi</i>
59	H	-	-	26,31	21,07	-	<i>P. multocida</i> , <i>M. bovoculi</i>
60	H	-	-	28,55	27,10	-	<i>M. bovoculi</i> , <i>Streptococcus spp.</i> <i>Trueperella pyogenes</i>
61	H	-	-	26,71	24,68	-	<i>P. multocida</i> , <i>M. bovoculi</i> <i>S. suis</i>
62	H	-	-	27,21	21,85	-	<i>P. multocida</i> , <i>M. ovis</i> , <i>Streptococcus</i>
63	H	-	-	37,00	27,10	-	<i>S. equorum</i>
64	H	-	-	31,03	23,80	-	<i>Moraxella spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i>
65	H	-	-	31,53	23,31	-	<i>M. ovis</i> , <i>Neisseria meningitidis</i>
66	H	-	-	-	28,72	-	-
67	H	-	-	-	27,32	-	<i>Acinetobacter wolfii</i>
68	I	2,65	27,93	29,52	28,82	+	-
69	I	-	32,42	25,72	24,63	+	<i>M. haemolytica</i> , <i>B. licheniformis</i>
70	I	2,26	33,65	29,13	22,80	+	<i>M. haemolytica</i>
71	I	-	28,14	27,04	23,10	+	<i>M. haemolytica</i> , <i>Neisseria spp.</i>
72	I	2,16	31,65	28,00	22,75	+	<i>M. haemolytica</i>
73	I	2,08	40,87	36,66	24,30	-	-
74	I	2,35	34,14	28,79	22,47	-	<i>M. haemolytica</i>
75	I	-	31,28	25,69	21,06	+	<i>M. haemolytica</i> , <i>P. multocida</i> , <i>Streptococcus spp.</i>
76	I	1,93	30,51	27,18	20,81	+	<i>M. haemolytica</i> , <i>Stenotrophomonas spp.</i> , <i>Bacillus spp.</i>
77	I	2,06	40,13	29,82	24,29	-	<i>M. haemolytica</i>
78	I	2,44	34,91	32,04	25,57	-	<i>P. multocida</i>
79	I	2,28	29,90	28,96	25,38	+	<i>M. haemolytica</i>
80	I	1,93	-	27,91	23,65	-	<i>P. multocida</i>
81	I	2,04	31,83	27,29	23,41	+	<i>M. haemolytica</i> , <i>P. multocida</i>
82	I	2,29	30,81	29,32	26,20	+	<i>P. multocida</i>
83	I	2,48	23,29	28,19	25,99	+	<i>P. multocida</i>
84	I	-	-	39,01	28,54	-	<i>P. multocida</i>
85	J	1,92	38,87	25,54	22,48	-	<i>M. haemolytica</i> , <i>S. suis</i>
86	J	-	-	32,45	23,39	-	<i>M. haemolytica</i>
87	J	-	-	38,95	35,40	-	-
88	J	-	35,92	-	32,20	-	<i>M. varigena</i>
89	J	2,01	34,15	26,03	25,00	+	<i>M. haemolytica</i> , <i>Staphylococcus cohnii</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. suis</i> , <i>Streptococcus ferus</i>
90	J	-	37,67	-	41,68	-	-
91	J	1,84	38,30	28,92	23,03	-	<i>P. multocida</i> , <i>Staphylococcus saprophyticus</i>
92	J	2,05	40,24	27,68	26,31	-	<i>B. trehalosi</i>
93	J	2,2	34,39	29,04	23,81	-	<i>M. haemolytica</i> , <i>T. pyogenes</i>
94	J	1,96	28,00	24,61	26,42	+	<i>M. haemolytica</i> , <i>Serratia rubidaea</i> , <i>Citrobacter amalonaticus</i>
95	J	2,24	31,56	24,71	27,02	+	<i>S. chromogenes</i>
96	J	1,89	31,52	27,73	22,01	+	-
97	J	-	-	28,73	23,09	-	-
98	J	-	34,76	33,59	31,76	-	<i>M. haemolytica</i> , <i>P. multocida</i>
99	J	-	41,34	26,02	23,16	+	<i>M. haemolytica</i>
100	J	-	-	28,55	21,59	+	-
101	J	2,51	-	35,07	31,20	-	<i>M. haemolytica</i> , <i>E. coli</i>
102	J	1,92	35,03	27,88	27,25	-	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
103	J	-	39,30	34,68	30,39	-	<i>P. multocida</i>
104	J	1,84	31,61	24,81	22,02	+	<i>M. haemolytica</i> , <i>Moraxella branhamella ovis</i>

\* = result based on ID after 48h of incubation; Ct values were interpreted as positive (< 35), doubtful (35-40) or negative (>40)(Wisselink et al., 2019).