

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Comparative analysis of the microbiome composition of artisanal cheeses produced in the Mediterranean area

Valentina Indio,¹ Ursula Gonzales-Barron,² Chiara Oliveri,¹ Alex Lucchi,³ Antonio Valero,⁴ Fouad Achemchem,⁵ Gerardo Manfreda,³ Federica Savini,¹ Andrea Serraino,¹ Alessandra De Cesare¹

¹Department of Veterinary Medical Sciences, University of Bologna, Italy; ²Mountain Research Center (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Portugal; ³Department of Agricultural and Food Sciences, University of Bologna, Italy; ⁴Department of Food Science and Technology, University of Cordoba, Spain; ⁵LASIME Laboratory, Agadir Superior School of Technology, Ibn Zohr University, Agadir, Morocco

Correspondence: Valentina Indio, Department of Veterinary Medical Sciences, Via Tolara di Sopra 50, 40064 Ozzano dell'Emilia (BO), Italy.

E-mail: valentina.indio2@unibo.it

Key words: shotgun metagenomic, artisanal cheese, biological hazards, antimicrobial resistance, Mediterranean products.

Supplementary Table 1. Samples table with product characteristics and sequencing yield.

Sample	Cheese type	Source	Country	Milk treatments	Fermentation type	Gbases	Millions of reads	Host genome
S2228						4.05	27.01	3.03%
S2229						4.04	26.95	1.22%
S2230						4.26	28.42	1.95%
S2259	PDO Queijo de Cabra Transmontano	Goat	Portugal	No	Starter cultures	5.38	35.86	1.95%
S2260						2.30	15.33	5.14%
S2261						4.12	27.49	4.73%
S2262						7.03	46.87	2.54%
S2270						5.10	33.99	0.09%
S2274	Moroccan Jben	Goat	Marocco	No	Spontaneous	5.21	34.71	0.14%
S2277						5.25	34.99	0.41%
S2254	PDO Queso Manchego	Sheep	Spain	No	Starter cultures	5.69	37.93	6.00%
S2039	PDO Squacquerone di Romagna	Cow	Italy	Filtration Pasteurization	Starter cultures	8.08	53.87	67.07%

Supplementary Table 2. Relative abundance of bacteria species belonging to pathogenic genera. Only species with relative abundance >0.1% in at least one sample were reported.

SPECIE	S2228	S2229	S2230	S2259	S2260	S2261	S2262	S2270	S2274	S2277	S2254	S2039
<i>Bacillus cereus</i>	0.086	0.060	0.109	0.082	0.104	0.095	0.082	0.123	0.062	0.055	0.092	0.011
<i>Clostridium beijerinckii</i>	0.039	0.058	0.053	0.037	0.059	0.042	0.047	0.129	0.043	0.061	0.040	0.007
<i>Clostridium botulinum</i>	0.054	0.043	0.073	0.048	0.068	0.054	0.046	0.128	0.056	0.085	0.042	0.004
<i>Clostridium difficile</i>	0.049	0.051	0.051	0.033	0.077	0.051	0.052	0.154	0.067	0.099	0.049	0.007
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	0.241	0.208	0.521	0.298	0.302	0.261	0.437	2.254	0.621	1.578	0.162	0.000
<i>Enterococcus faecalis</i>	1.348	1.286	3.926	3.541	1.548	1.421	2.742	9.333	4.808	4.512	1.221	0.097
<i>Enterococcus faecium</i>	1.183	1.195	2.826	2.273	1.353	1.295	2.074	10.711	2.501	2.405	1.274	0.178
<i>Enterococcus gallinarum</i>	0.134	0.120	0.734	0.137	0.218	0.163	0.779	2.965	0.714	0.554	0.104	0.000
<i>Enterococcus italicus</i>	0.204	0.168	1.351	0.244	0.186	0.323	1.033	3.379	0.228	0.198	0.176	0.022
<i>Escherichia albertii</i>	0.018	0.022	0.010	0.012	0.026	0.022	0.014	0.100	0.091	0.147	0.001	0.000
<i>Escherichia coli</i>	0.474	0.427	0.264	0.593	1.063	0.635	0.475	9.544	3.932	5.230	0.038	0.059
<i>Escherichia fergusonii</i>	0.030	0.033	0.023	0.047	0.088	0.052	0.050	0.314	0.273	0.515	0.001	0.000
<i>Escherichia sp. 1_1_43</i>	0.004	0.002	0.002	0.008	0.019	0.005	0.004	0.100	0.023	0.033	0.000	0.000
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.378	0.340	0.155	2.102	1.513	0.897	0.238	14.101	9.674	12.916	0.019	0.033
<i>Klebsiella sp. 1_1_55</i>	0.012	0.008	0.005	0.032	0.044	0.024	0.006	0.213	0.378	0.548	0.000	0.000
<i>Klebsiella variicola</i>	0.023	0.020	0.008	0.102	0.108	0.079	0.017	0.509	0.974	1.282	0.002	0.000
<i>Listeria innocua</i>	0.247	0.236	0.287	0.118	0.262	0.221	0.188	0.140	0.076	0.086	0.318	0.011
<i>Listeria monocytogenes</i>	0.342	0.348	0.264	0.315	0.350	0.351	0.215	0.371	0.137	0.211	0.327	0.033
<i>Listeria welshimeri</i>	0.063	0.054	0.084	0.052	0.085	0.058	0.065	0.127	0.053	0.066	0.052	0.015
<i>Salmonella enterica</i>	0.557	0.534	0.277	0.731	1.306	0.757	0.763	3.950	4.223	7.194	0.033	0.015
<i>Shigella boydii</i>	0.014	0.013	0.007	0.013	0.025	0.021	0.009	0.185	0.120	0.140	0.001	0.000
<i>Shigella dysenteriae</i>	0.020	0.019	0.014	0.024	0.040	0.030	0.019	0.412	0.139	0.190	0.001	0.000
<i>Shigella flexneri</i>	0.037	0.033	0.020	0.050	0.063	0.043	0.031	0.562	0.149	0.334	0.002	0.000
<i>Shigella sonnei</i>	0.013	0.019	0.010	0.020	0.038	0.017	0.019	0.276	0.128	0.187	0.001	0.004
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.085	0.052	0.047	0.066	0.089	0.066	0.046	0.058	0.017	0.027	0.301	0.019
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0.029	0.039	0.027	0.061	0.065	0.058	0.020	0.035	0.009	0.013	0.227	0.026
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	0.021	0.030	0.017	0.042	0.054	0.033	0.015	0.042	0.014	0.018	0.137	0.015
<i>Staphylococcus hominis</i>	0.008	0.006	0.008	0.018	0.010	0.012	0.003	0.002	0.002	0.005	0.111	0.007
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	0.037	0.024	0.026	0.050	0.033	0.025	0.015	0.028	0.012	0.015	0.648	0.007
<i>Staphylococcus warneri</i>	0.006	0.003	0.003	0.014	0.007	0.005	0.002	0.006	0.002	0.003	0.123	0.004
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0.677	0.648	0.406	0.373	0.931	0.736	0.312	0.142	0.077	0.187	0.468	0.680
<i>Streptococcus anginosus</i>	0.083	0.075	0.046	0.038	0.110	0.079	0.033	0.013	0.003	0.013	0.045	0.078
<i>Streptococcus downei</i>	0.152	0.100	0.078	0.040	0.145	0.151	0.060	0.015	0.004	0.014	0.050	0.033
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	0.204	0.204	0.153	0.177	0.460	0.253	0.094	0.045	0.012	0.100	0.168	0.041
<i>Streptococcus equi</i>	0.371	0.314	0.281	0.260	0.640	0.433	0.202	0.064	0.042	0.136	0.257	0.212
<i>Streptococcus equinus</i>	0.069	0.048	0.045	0.043	0.103	0.065	0.032	0.014	0.005	0.024	0.041	0.041
<i>Streptococcus gallolyticus</i>	0.302	0.289	0.277	0.197	0.538	0.353	0.225	0.161	0.050	0.111	0.218	0.260

<i>Streptococcus gordonii</i>	0.276	0.288	0.267	0.180	0.411	0.349	0.184	0.064	0.033	0.042	0.236	0.293
<i>Streptococcus infantarius</i>	0.173	0.121	0.117	0.152	0.295	0.174	0.108	0.054	0.022	0.045	0.111	0.178
<i>Streptococcus mitis</i>	0.195	0.172	0.213	0.147	0.231	0.232	0.171	0.059	0.017	0.043	0.102	0.691
<i>Streptococcus mutans</i>	0.457	0.404	0.337	0.262	0.663	0.544	0.280	0.191	0.064	0.139	0.280	0.887
<i>Streptococcus parasanguinis</i>	0.124	0.105	0.073	0.073	0.172	0.181	0.071	0.021	0.010	0.018	0.076	0.412
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0.399	0.336	0.326	0.198	0.550	0.468	0.256	0.138	0.074	0.102	0.249	0.980
<i>Streptococcus pseudoporcinus</i>	0.547	0.574	0.406	0.298	0.959	0.711	0.281	0.018	0.014	0.222	0.367	0.067
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1.010	1.015	0.775	0.706	1.799	1.264	0.625	0.164	0.113	0.350	0.897	0.943
<i>Streptococcus salivarius</i>	0.086	0.093	0.075	0.054	0.139	0.105	0.052	0.015	0.010	0.088	0.126	3.732
<i>Streptococcus sanguinis</i>	0.199	0.222	0.159	0.130	0.334	0.233	0.148	0.074	0.032	0.069	0.144	0.204
<i>Streptococcus sp. 2_1_36FAA</i>	0.104	0.094	0.073	0.043	0.120	0.109	0.059	0.013	0.004	0.013	0.032	0.089
<i>Streptococcus sp. oral taxon 071</i>	0.020	0.018	0.018	0.009	0.031	0.026	0.011	0.005	0.003	0.007	0.013	0.123
<i>Streptococcus suis</i>	0.355	0.499	0.315	0.307	0.575	0.414	0.269	0.156	0.052	0.115	0.287	0.327
<i>Streptococcus thermophilus</i>	0.723	0.645	0.368	0.400	0.874	0.850	0.265	0.138	0.048	0.871	1.421	57.324
<i>Streptococcus uberis</i>	0.841	0.860	0.630	0.443	1.487	1.003	0.455	0.102	0.036	0.365	0.596	0.137
<i>Streptococcus vestibularis</i>	0.032	0.035	0.023	0.012	0.043	0.045	0.025	0.008	0.001	0.041	0.054	1.422
<i>Yersinia aldovae</i>	0.024	0.026	0.061	0.007	0.059	0.040	0.043	0.030	0.118	0.031	0.001	0.000
<i>Yersinia bercovieri</i>	0.026	0.029	0.075	0.008	0.055	0.049	0.052	0.042	0.134	0.079	0.003	0.000
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0.139	0.165	0.323	0.055	0.332	0.215	0.265	0.120	0.783	0.271	0.018	0.004
<i>Yersinia frederiksenii</i>	0.041	0.052	0.088	0.020	0.104	0.073	0.074	0.030	0.218	0.094	0.004	0.000
<i>Yersinia intermedia</i>	0.041	0.050	0.095	0.019	0.113	0.070	0.073	0.041	0.195	0.088	0.004	0.000
<i>Yersinia kristensenii</i>	0.027	0.024	0.055	0.006	0.041	0.038	0.038	0.012	0.106	0.054	0.004	0.004
<i>Yersinia mollaretii</i>	0.023	0.036	0.072	0.008	0.067	0.046	0.051	0.055	0.134	0.056	0.003	0.004
<i>Yersinia pestis</i>	0.053	0.047	0.093	0.038	0.118	0.075	0.085	0.086	0.405	0.250	0.007	0.004
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	0.060	0.079	0.110	0.041	0.143	0.086	0.098	0.065	0.422	0.235	0.015	0.004
<i>Yersinia rohdei</i>	0.020	0.022	0.045	0.008	0.059	0.029	0.043	0.038	0.118	0.058	0.001	0.007
<i>Yersinia ruckeri</i>	0.031	0.041	0.075	0.008	0.088	0.044	0.050	0.019	0.172	0.051	0.002	0.004