



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Máster en

Calidad, Seguridad y Tecnología de los Alimentos

Caracterización de la microbiota y genes de resistencia a antibióticos en
quesos curados

Characterization of microbiota and antibiotic resistance genes in aged
cheese

Autor/es

Astrid Elianeth Salazar Teruel

Director/es

Rafael Pagán Tomás

Laura Espina Cadena

Facultad de Veterinaria

2025

Tabla de contenido

RESUMEN	4
ABSTRACT.....	5
1. INTRODUCCIÓN	6
1.1. Historia e importancia económica de la producción quesera.....	6
1.2. El queso y su proceso de elaboración	6
1.3. La microbiota del queso.....	8
1.4. Clasificación de los quesos	9
1.4.1. Clasificación por origen de la leche:	9
1.4.2. Clasificación por grado de maduración:.....	9
1.5. Desafíos sanitarios contemplados actualmente y regulación vigente	10
1.6. Una aproximación a la resistencia a los antibióticos (RAM) en queso ...	10
1.6.1. Panorama del uso de antibióticos en rumiantes lecheros y la relevancia de los ARGs	10
1.6.2. Resistencia a los antimicrobianos como un problema de seguridad alimentaria.....	11
1.6.3. Mecanismos de resistencia y su propagación en la producción del queso	12
1.6.4. Innovaciones y estrategias para mitigar la RAM en la producción quesera.....	13
2. OBJETIVOS DEL ESTUDIO	14
3. METODOLOGÍA	15
3.1. Plan general de muestreo: Área de estudio	15
3.2. Esquema general del procedimiento metodológico	15
3.3. Obtención del homogeneizado.....	16
3.4. Caracterización fenotípica	17
3.4.1. Microbiología tradicional basada en cultivo: identificación y recuento en agares sin antibiótico	18
3.4.2. Microbiología tradicional basada en cultivo: identificación y recuento en agares con antibiótico	19

3.4.3. Cálculo del índice de viabilidad en presencia de antibióticos (IVA) para bacterias.....	20
3.5. Caracterización genotípica.....	21
3.5.1. Medición y estandarización de la concentración de DNA	21
3.5.2. Secuenciación metagenómica.....	22
3.6. Análisis estadístico y representaciones gráficas	24
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
4.1. Perfil taxonómico de la microbiota de los quesos	25
4.1.1. Recuentos microbianos a partir de técnicas dependientes de cultivo	25
4.1.2. Perfil taxonómico a partir de secuenciación metagenómica	26
4.1.3. Diversidad intra- y entre muestras: influencia de la leche y las condiciones de producción	28
4.1.4. Comparación entre microbiología tradicional y metagenómica....	30
4.1.5. Posibles implicaciones sanitarias de la microbiota detectada	31
4.2. Análisis de microorganismos potencialmente resistentes a antibióticos y de genes de resistencia.	32
4.2.1. Recuentos en medios de cultivo tradicionales con antibióticos y determinación de IVAs	33
4.2.2. Cuantificación metagenómica de ARGs a partir de datos de secuenciación	36
4.3. Comparación integrada de los perfiles microbianos y de resistencia	38
5. CONCLUSIONES.....	42
6. BIBLIOGRAFÍA.....	44

RESUMEN

La resistencia a los antibióticos (RAM) representa uno de los mayores desafíos actuales para la salud pública global. Aunque se ha estudiado ampliamente en contextos clínicos, su diseminación a través de alimentos fermentados, como los quesos artesanales elaborados con leche cruda, continúa siendo un fenómeno poco explorado. Estos productos, al no someterse a tratamientos térmicos, pueden albergar una elevada carga microbiana, incluyendo bacterias portadoras de genes de resistencia (ARGs).

Este estudio tuvo como objetivo caracterizar fenotípica y genotípicamente la resistencia a antibióticos en cuatro quesos artesanales curados de las regiones pirenaicas de Huesca y Lleida. Se realizaron recuentos microbiológicos convencionales para distintos grupos microbianos (bacterias ácido-lácticas (BAL), *Enterococcus* spp., *Enterobacteriales*, mohos y levaduras), evaluando además el crecimiento de BAL y enterococos en medios con antibióticos. Posteriormente, se aplicó secuenciación metagenómica y análisis bioinformático para identificar el perfil taxonómico microbiano y los genes de resistencia presentes en cada muestra.

Las BAL fueron el grupo predominante, con variaciones en su abundancia entre muestras, caracterizadas hasta el nivel de especie gracias al análisis metagenómico. La diversidad alfa y beta mostró diferencias significativas entre los lotes, sugiriendo una influencia clara del origen de la leche y del proceso de producción. A nivel genético, se identificaron 215 genes de resistencia a antibióticos, destacando los asociados a β -lactámicos, tetraciclinas, aminoglucósidos y macrólidos. Los recuentos en presencia de antibióticos apoyó la expresión fenotípica de distintos niveles de resistencia en BAL y *Enterococcus* spp., reforzando los datos metagenómicos.

Estos hallazgos evidencian que los quesos curados artesanales podrían actuar como reservorios de ARGs, lo que plantea la importancia de considerarlos en las evaluaciones de seguridad alimentaria. En conclusión, se subraya la necesidad de fortalecer la vigilancia microbiológica en productos fermentados desde una perspectiva “Una Salud”.

ABSTRACT

Antibiotic resistance (AMR) is one of the greatest current challenges to global public health. While it has been extensively studied in clinical settings, its transmission through fermented foods, such as raw milk artisanal cheeses, remains poorly understood. These products, which are not subjected to thermal treatments, may harbor a high microbial load, including bacteria carrying antibiotic resistance genes (ARGs).

This study aimed to phenotypically and genotypically characterize antibiotic resistance in four artisanal cured cheeses from the Pyrenean regions of Huesca and Lleida. Microbiological counts were performed to evaluate different microbial groups (LAB, *Enterococcus* spp., *Enterobacteriales*, molds, and yeasts), along with assessments of LAB and enterococcal resistance using antibiotic-supplemented media. Subsequently, metagenomic sequencing and bioinformatic analysis were applied to identify the microbial taxonomic profile and resistance genes in each sample.

Lactic acid bacteria (LAB) were the predominant group, with varying abundances among samples, and were taxonomically characterized to the species level through metagenomic analysis. Alpha and beta diversity metrics revealed significant differences between the cheese batches, suggesting a clear influence of milk origin and production processes. At the genetic level, a total of 215 ARGs were identified, with a predominance of genes conferring resistance to β -lactams, tetracyclines, aminoglycosides, and macrolides. Growth assays in the presence of antibiotics supported the phenotypic expression of varying resistance levels in LAB and *Enterococcus* spp., in line with the metagenomic data.

These findings confirm that artisanal cured cheeses could act as reservoirs of ARGs, potentially contributing to their spread through the food chain. This underscores the importance of including these products in microbiological surveillance programs within a One Health framework.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Historia e importancia económica de la producción quesera

Desde tiempos remotos, la fermentación ha sido utilizada por el ser humano como un mecanismo natural para la conservación de alimentos. En particular, la elaboración del queso tiene una historia que se remonta a más de 10.000 años, con registros que sitúan sus orígenes en las regiones mediterráneas hace aproximadamente 8.000 años. La producción de quesos artesanales tiene una tradición milenaria y sigue siendo un pilar económico en muchas comunidades rurales. El interés por estos productos ha crecido debido a su calidad diferenciada y la tendencia global hacia alimentos tradicionales y orgánicos. Las regiones pirenaicas, en particular, destacan por su rica tradición quesera, donde los quesos artesanales no solo representan un valor cultural, sino también una fuente económica clave (Bamforth, 2007).

Sin embargo, la transformación de la producción quesera, desde una práctica empírica hasta un proceso científico controlado, es relativamente reciente y se ha consolidado principalmente durante las últimas cinco décadas. Este cambio ha sido posible gracias a los avances en biotecnología, microbiología y bioquímica, los cuales han permitido comprender con mayor profundidad los procesos fermentativos involucrados en la elaboración del queso (Giraffa, 2004).

1.2. El queso y su proceso de elaboración

Según el Real Decreto 1113/2006, el queso se define como un producto sólido o semisólido obtenido por coagulación de la leche, parcial o totalmente desnatada, o de la nata, suero de mantequilla o una mezcla de estos productos, provocada por la acción del cuajo u otros coagulantes adecuados, seguida de la separación parcial del suero. Esta definición técnica proporciona el marco normativo sobre el cual se desarrollan las distintas fases del proceso quesero. Para comprender el proceso de producción del queso, es fundamental considerar primero su materia prima principal: la leche. La leche es un fluido biológico complejo producido por las glándulas mamarias de los mamíferos, desempeñando un papel fundamental en la nutrición de las crías durante sus primeros meses de vida. Su riqueza radica en su composición balanceada, que incluye proteínas, grasas, carbohidratos, vitaminas y minerales esenciales para el crecimiento y desarrollo (Fusco et al., 2020). Más allá de su importancia biológica, la leche está sujeta a estrictas regulaciones para garantizar su calidad e inocuidad. Desde una perspectiva regulatoria,

la "leche natural" se define como el producto íntegro, no alterado ni adulterado, proveniente del ordeño higiénico y completo de hembras mamíferas domésticas sanas y bien alimentadas. En España, el Real Decreto 1728/2007 establece que la leche cruda es aquella que no ha sido sometida a un proceso de calentamiento superior a 40 °C ni a otro tratamiento equivalente. Asimismo, el Codex Alimentarius define la leche como la secreción mamaria normal de animales lecheros, obtenida sin adiciones ni extracciones, destinada al consumo en forma líquida o a su procesamiento.

El proceso de elaboración del queso comienza con la selección y tratamiento térmico (o, en algunos casos, su uso en crudo) de la leche, seguido de la adición de cultivos iniciadores. Estos cultivos, también llamados *starters*, consisten en consorcios microbianos seleccionados por su capacidad para dirigir la fermentación. Integrados principalmente por bacterias ácido-lácticas (BAL), estos cultivos permiten obtener productos más predecibles, seguros y estandarizados, contribuyendo tanto a la calidad organoléptica como a la inocuidad del queso final (Leroy & De Vuyst, 2004).

Históricamente, antes del desarrollo de cultivos industriales, los quesos se elaboraban mediante fermentación espontánea, aprovechando la microbiota naturalmente presente en la leche, el entorno y los equipos de producción. En muchos casos, este proceso se reforzaba mediante la llamada fermentación inversa o *back-slopping*, que consiste en inocular una nueva remesa de leche con una porción de un lote fermentado exitosamente. Este método permitía una selección natural de cepas mejor adaptadas al entorno y al sustrato, y es considerado una forma ancestral de control microbiano. Aunque en muchos países en desarrollo este método sigue vigente, en la industria moderna se ha adoptado la producción comercial de cultivos iniciadores, mediante la propagación de cepas específicas en condiciones estériles, con su posterior concentración y conservación mediante congelación o liofilización (Leroy & De Vuyst, 2004).

No obstante, esta estandarización trajo consigo ciertos inconvenientes. Los cultivos comerciales iniciales fueron seleccionados principalmente por su velocidad de acidificación y resistencia a fagos, lo que implicó una pérdida de diversidad genética y metabólica. Muchos rasgos tecnológicos importantes como la producción de compuestos aromáticos, la tolerancia al estrés ambiental o la capacidad de inhibir microorganismos indeseables están codificados por plásmidos, los cuales pueden perderse durante la propagación continua en medios artificiales (Leroy & De Vuyst,

2004). Esto ha generado preocupación sobre la pérdida de características organolépticas y la homogeneización del sabor en quesos producidos industrialmente.

En contraste, los quesos artesanales tradicionales suelen elaborarse sin cultivos iniciadores añadidos, confiando en las cepas silvestres presentes en la leche cruda y en el entorno de producción. Estas bacterias, aunque no forman parte de los cultivos iniciadores típicos, pueden intervenir activamente en el proceso de maduración, enriqueciendo el perfil sensorial del queso. En particular, las bacterias ácido-lácticas no iniciadoras (NSLAB) desempeñan un papel clave en la degradación de proteínas y la formación de compuestos volátiles, lo que otorga complejidad y carácter al producto final. Estas cepas silvestres presentan una gran diversidad genética, alta adaptabilidad a su entorno y la capacidad de sintetizar metabolitos únicos como bacteriocinas, enzimas convertidoras de aminoácidos o compuestos antimicrobianos naturales.

En este sentido, la recuperación de estas cepas silvestres, procedentes de ecosistemas fermentativos tradicionales, se ha convertido en una estrategia emergente para diseñar cultivos iniciadores autóctonos, que permitan mantener la identidad microbiológica y sensorial del producto, sin sacrificar su seguridad ni reproducibilidad. Este enfoque también pone en valor la relevancia de los quesos artesanales, tradicionales y rústicos, elaborados con métodos propios de cada zona y cargados de identidad local.

1.3. La microbiota del queso

Los productos lácteos, como la leche y el queso, constituyen un ecosistema microbiano complejo donde coexisten microorganismos beneficiosos, alterantes y patógenos. La leche cruda, al no estar sometida a tratamientos térmicos, conserva una microbiota diversa que incluye BAL, bacterias psicrotóficas y posibles patógenos. Las BAL, como *Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp. y *Enterococcus* spp., desempeñan un papel esencial en la fermentación de productos lácteos, contribuyendo al desarrollo de sus características sensoriales y aumentando su vida útil. Estas bacterias fermentan los carbohidratos, produciendo ácido láctico como producto final principal, y también generan compuestos como ácido acético, etanol, diacetilo, exopolisacáridos y bacteriocinas, que mejoran la textura, refuerzan la seguridad microbiológica y aportan complejidad aromática al producto (Leroy & De Vuyst, 2004). Por ello, las BAL no solo contribuyen a las características sensoriales deseables, sino que también inhiben a microorganismos indeseables mediante la competencia por nutrientes, la producción de

sustancias inhibitorias y la reducción del pH (Výrostková et al., 2021).

En los quesos artesanales, la composición de la microbiota está modulada por múltiples factores, como el origen y tratamiento térmico de la leche, el uso de cultivos iniciadores y las condiciones del entorno de maduración. Durante este proceso, las interacciones entre bacterias, levaduras y mohos desempeñan un papel central en la definición del perfil organoléptico final. Asimismo, factores extrínsecos como el clima, la alimentación del ganado, la estacionalidad y las prácticas agropecuarias influyen significativamente en la calidad microbiológica de la leche cruda, condicionando la microbiota inicial del queso. El entorno de maduración en particular, la temperatura y la humedad determina en gran medida la sucesión microbiana y la expresión metabólica de estas comunidades, impactando directamente en la seguridad, estabilidad y calidad sensorial del producto.

1.4. Clasificación de los quesos

A nivel nacional, el Real Decreto 1113/2006 define una clasificación oficial de los quesos que contempla dos criterios fundamentales:

1.4.1. Clasificación por origen de la leche:

Los quesos que no estén protegidos por una denominación específica deben indicar claramente el tipo de leche utilizada, salvo que estén elaborados exclusivamente con leche de vaca. Si el queso está elaborado con una mezcla de leches de diferentes especies, estas deben especificarse en orden decreciente de proporción, y puede emplearse la denominación genérica de “queso de mezcla”.

1.4.2. Clasificación por grado de maduración:

Los quesos se clasifican en tres grandes categorías: Quesos frescos, que están listos para el consumo inmediatamente después de su elaboración. Quesos blancos pasteurizados, similares a los frescos, pero con el coágulo pasteurizado antes de su consumo. Quesos madurados, que requieren un periodo posterior de maduración para desarrollar sus características físico-químicas, sensoriales y microbiológicas. Dentro de esta categoría se incluyen también los quesos madurados con mohos, en cuya superficie, interior o en ambos se desarrollan mohos específicos. A continuación se presenta la clasificación oficial según el grado de maduración y el peso del queso, basada en los días mínimos requeridos para cada denominación.

Tabla 1. Denominaciones facultativas del queso según su grado de maduración (en días), en función del peso del queso (según RD 1113/2006).

Denominaciones facultativas	Peso >1,5 kg	Peso ≤1,5 kg
Tierno	7	7
Semicurado	35	20
Curado	105	45
Viejo	180	100
Añejo	270	-

1.5. Desafíos sanitarios contemplados actualmente y regulación vigente

La producción de quesos artesanales elaborados con leche cruda conlleva desafíos microbiológicos relevantes, ya que esta materia prima puede contener microorganismos patógenos, cuya eliminación no está garantizada en ausencia de tratamiento térmico (Parente-Ricciardi et al., 2020). El Reglamento (CE) N° 2073/2005 establece los criterios microbiológicos esenciales para la seguridad de los quesos, especificando los límites permitidos para *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* según el tipo de producto y tratamiento térmico aplicado. Los detalles específicos pueden consultarse en el Anexo 1.

Además del Reglamento (CE) N° 2073/2005, existen otras disposiciones legales que complementan y refuerzan el marco de seguridad e higiene en la producción quesera. El Reglamento (CE) N° 853/2004 establece normas específicas de higiene para los alimentos de origen animal, con especial atención a la leche cruda. Regula, entre otros aspectos, las condiciones sanitarias del ganado, la higiene durante el ordeño, los requisitos de temperatura para el almacenamiento de la leche cruda y los criterios microbiológicos que esta debe cumplir antes de su transformación.

Por otro lado, el Real Decreto 1113/2006, ya citado en el apartado 1.4, no solo define la clasificación oficial de los quesos en función de su grado de maduración y composición, sino que también establece requisitos generales de calidad e higiene para los quesos y quesos fundidos comercializados en España.

1.6. Una aproximación a la resistencia a los antibióticos (RAM) en queso

1.6.1. Panorama del uso de antibióticos en rumiantes lecheros y la relevancia de los ARGs

Los antibióticos constituyen herramientas terapéuticas fundamentales en la ganadería lechera, especialmente para el tratamiento de enfermedades bacterianas como la mastitis, una de las afecciones más prevalentes y con mayor impacto económico en vacas, ovejas y cabras lecheras (Radostits et al., 2007; Pol & Ruegg, 2007; Contreras et al., 2007). No obstante, su uso genera presión de selección sobre la microbiota, lo que puede favorecer la aparición y diseminación de genes de resistencia a antibióticos (ARGs) tanto en el entorno de la granja como a lo largo de la cadena alimentaria (Van Boeckel et al., 2017).

En la práctica veterinaria con rumiantes lecheros se han empleado antibióticos de diversas clases. La ampicilina, una penicilina de amplio espectro, es habitual en el tratamiento de mastitis en grandes y pequeños rumiantes (Gruet et al., 2001; Giatrakou et al., 2010). Las tetraciclinas, ampliamente utilizadas históricamente a nivel individual y colectivo, continúan siendo relevantes en el tratamiento del ganado lechero (Saini et al., 2012; Beltrán et al., 2015). La eritromicina, un macrólido, también es empleada para infecciones respiratorias, digestivas y mamarias (Fishman, 2006; Morawska et al., 2021). Los aminoglucósidos, como gentamicina y estreptomicina, han sido indicados en infecciones graves debido a su efecto bactericida, aunque su uso es más limitado por cuestiones de seguridad alimentaria y riesgo de resistencias (Aminov, 2010; Sánchez et al., 2019). En cuanto a las fluoroquinolonas, como la ciprofloxacina, su uso en animales productores de alimentos está estrictamente regulado en muchas regiones, incluida la UE, por su importancia crítica en medicina humana (EFSA & ECDC, 2017; FDA, 2005). De forma similar, el cloranfenicol, debido a sus efectos tóxicos en humanos (como la anemia aplásica), está prohibido en la producción animal en la UE y otros países (European Commission, 2002). Pese a estas restricciones, los estudios de resistoma continúan detectando ARGs asociados a estas familias de antibióticos, lo que refleja la persistencia ambiental de estos genes y la posibilidad de co-selección con otros mecanismos de resistencia.

1.6.2. Resistencia a los antimicrobianos como un problema de seguridad alimentaria

En las últimas décadas, el uso intensivo de antibióticos tanto en medicina humana como en la producción animal ha ejercido una presión selectiva constante sobre las comunidades bacterianas, favoreciendo la aparición y propagación de cepas resistentes. La RAM, considerada actualmente una de las principales amenazas para la salud pública

global y la seguridad alimentaria, se basa en la capacidad de ciertas bacterias para desarrollar mecanismos que neutralizan la acción de los antibióticos, lo que compromete la eficacia de los tratamientos terapéuticos y favorece la diseminación de infecciones difíciles de controlar (OMS, 2022). Como resultado, la RAM ha obstaculizado el tratamiento efectivo de diversas infecciones potencialmente mortales, y ha sido identificada por la OMS como una de las diez principales amenazas para la salud pública a nivel mundial.

Según Naghavi et al. (2024), la carga global asociada a la RAM ha aumentado de forma significativa desde 1990, y las proyecciones futuras son motivo de seria preocupación. Actualmente, se estima que la RAM provoca alrededor de 700.000 muertes anuales en todo el mundo, cifra que podría incrementarse hasta 10 millones de muertes para el año 2050, incluyendo aproximadamente 35.000 en Europa y 4.000 en España.

En este contexto creciente de preocupación sanitaria, el ámbito ganadero desempeña un papel determinante. A pesar de las restricciones actuales y la reducción del uso de ciertos antibióticos, durante años se permitió su administración en dosis subterapéuticas como promotores del crecimiento, lo que contribuyó significativamente al desarrollo de resistencias. Diversos estudios han documentado la presencia de bacterias resistentes en productos alimentarios, lo que convierte a ciertos alimentos (incluidos los derivados lácteos) en posibles reservorios de genes de resistencia, generando serias implicaciones para la seguridad alimentaria.

1.6.3. Mecanismos de resistencia y su propagación en la producción del queso

La resistencia a los antimicrobianos puede ser de tipo intrínseco (presente de forma natural en algunas bacterias) o adquirido, cuando estas incorporan genes de resistencia por mutaciones o transferencia horizontal mediante plásmidos, transposones o integrones (Michaelis & Grohmann, 2023). Esta última forma es especialmente preocupante desde el punto de vista de la seguridad alimentaria, ya que bacterias resistentes presentes en quesos, especialmente los elaborados con leche cruda, pueden llegar al intestino humano, donde podrían transferir dichos genes a microorganismos comensales o incluso patógenos oportunistas (Konopka et al., 2022).

La microbiota intestinal puede actuar como un reservorio de genes de resistencia, facilitando su persistencia y propagación en el ecosistema humano. Productos

fermentados como los quesos de leche cruda han sido identificados como posibles fuentes de bacterias resistentes, aunque los estudios específicos sobre quesos de oveja siguen siendo limitados (Zhou et al., 2023). Algunas investigaciones han detectado la presencia de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y especies del género *Enterococcus* en leche cruda y quesos, siendo estas últimas relevantes por su implicación en infecciones nosocomiales y su capacidad de portar múltiples genes de resistencia (Campedelli et al., 2018; Výrostková et al., 2021). A pesar de esta evidencia, la legislación alimentaria actual se centra en patógenos clásicos, sin contemplar completamente el riesgo asociado a bacterias multirresistentes. Algunas de estas, presentes en productos lácteos, portan genes de resistencia en elementos genéticos móviles, lo que incrementa el riesgo de transferencia a la microbiota humana (Výrostková et al., 2021).

1.6.4. Innovaciones y estrategias para mitigar la RAM en la producción quesera

La reducción del uso de antibióticos en ganadería es una medida fundamental para combatir la RAM. Este esfuerzo se ve respaldado por marcos regulatorios como el Reglamento (UE) n° 37/2010, que regula los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios en productos alimenticios de origen animal.

En este contexto, el enfoque "Una Salud" es indispensable. Este paradigma reconoce la profunda interconexión entre la salud humana, animal y ambiental, promoviendo un abordaje integral para entender y combatir la RAM. Dado que los quesos artesanales pueden actuar como posibles vectores de diseminación de la RAM, resulta fundamental caracterizar su microbiota y evaluar la presencia de ARGs. Investigar el resistoma (el conjunto de ARGs) en estos productos permite obtener una evaluación más completa del panorama de la resistencia, incluyendo posibles mecanismos de multirresistencia. Con esta información, se espera contribuir al diseño de estrategias de control y vigilancia para minimizar la diseminación de la RAM en la producción de alimentos fermentados, reforzando así la seguridad alimentaria de estos productos.

2. OBJETIVOS DEL ESTUDIO

Este estudio tiene como objetivo principal caracterizar la microbiota y el resistoma en cuatro quesos artesanales elaborados en la región de los Pirineos mediante:

- 2.1.** La determinación de la composición y abundancia de distintos grupos microbianos mediante (i) técnicas de cultivo que permiten el crecimiento de distintos grupos microbianos (BAL, *Enterococcus* spp., mohos y levaduras), y (ii) análisis post-secuenciación para la identificación taxonómica de las comunidades microbianas.
- 2.2.** La aproximación al contenido en resistencia antibiótica mediante (i) recuentos en medios sólidos suplementados con antibióticos para evaluar la proporción de BAL y *Enterococcus* potencialmente resistentes a determinados antibióticos, y (ii) análisis post-secuenciación para la identificación y cuantificación de genes de resistencia a antibióticos.
- 2.3.** Correlación entre los hallazgos fenotípicos y genotípicos, mediante la comparación de la información proporcionada por cada técnica sobre la microbiota y el resistoma, y evaluación de sus implicaciones para la seguridad alimentaria

3. METODOLOGÍA

3.1. Plan general de muestreo: Área de estudio

El proyecto TESTACOS+, financiado por la convocatoria INTERREG POCTEFA, tiene como objetivo caracterizar fenotípica y genotípicamente la resistencia a antibióticos en 150 quesos curados artesanales de la región pirenaica transfronteriza, a lo largo de un periodo de dos años. En el contexto de este TFM, se han seleccionado cuatro quesos representativos de la diversidad productiva local de las zonas pirenaicas de las provincias del Lérida (Cataluña) y Huesca (Aragón).

La selección, detallada en la Tabla 1, incluye quesos elaborados con leche cruda de vaca, oveja y cabra, con tiempos de maduración entre 35 y 120 días para los curados, y un queso de cabra semicurado de 30 días de maduración hecho con leche pasteurizada.

Esta selección pretende reflejar la diversidad de quesos en la región. La toma de muestras se realizó entre junio y diciembre de 2024. De cada queso se seleccionaron tres lotes de producto, con un intervalo mínimo de 3 semanas entre ellos. Esto permitió no solo comparar las muestras entre sí, sino también evaluar la reproducibilidad de las condiciones de producción para un mismo tipo de queso en diferentes momentos. Se creó, además, una base de datos para registrar los códigos y características de cada muestra (queso, homogeneizado y extracción nucleica), facilitando así su identificación y trazabilidad a lo largo del proceso de investigación.

Tabla 1. Descripción de las muestras de queso seleccionadas para el estudio.

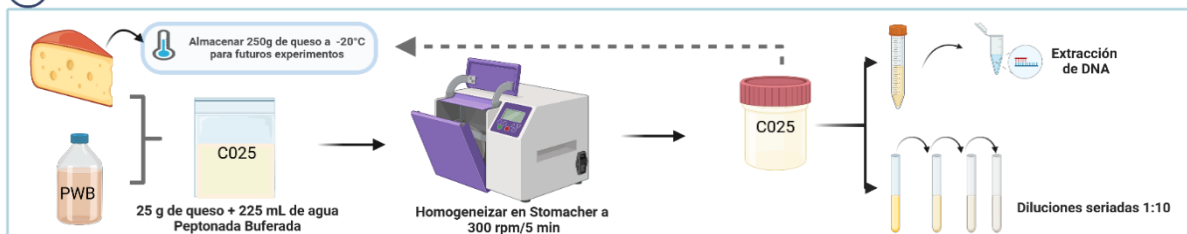
Código	Tratamiento térmico	Especie	Maduración	Origen	Marca
C025	No	Vaca	Curado	Huesca	El Benasqués
C033	Pasteurizado	Cabra	Semicurado	Huesca	Quesos de Radiquero
C082	No	Oveja	Curado	Lérida	Tros de Sort
C083	No	Oveja	Curado	Lérida	Tros de Sort

3.2. Esquema general del procedimiento metodológico

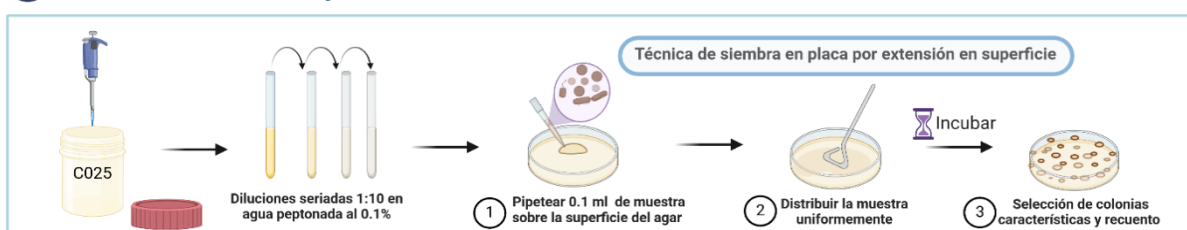
A continuación, se muestra el esquema de la metodología seguida para realizar la caracterización fenotípica y genotípica de la microbiota de los quesos analizados (Ilustración 1). Esta representación gráfica ofrece una visión general del flujo de trabajo experimental, permitiendo visualizar de forma integrada las distintas etapas que componen el estudio. Desde el tratamiento inicial de las muestras hasta el análisis bioinformático final, el esquema sintetiza el recorrido metodológico aplicado,

facilitando la comprensión global del enfoque empleado. Su inclusión contribuye a contextualizar adecuadamente los procedimientos que se detallan en profundidad en los apartados posteriores.

1 Identificación y Homogeneización de muestras



2 Caracterización fenotípica



3 Secuenciación



4 Análisis bioinformático y caracterización genotípica

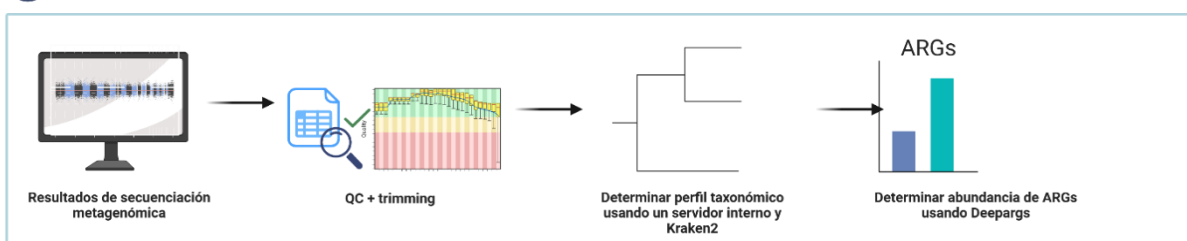


Ilustración 1. Esquema general del procedimiento experimental realizado, elaborado con BioRender.

3.3. Obtención del homogeneizado

Para asegurar la calidad de las muestras de queso durante el transporte y almacenamiento, estas se mantuvieron en condiciones refrigeradas a $3 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Los quesos enteros se almacenaron sin abrir, en refrigeración, desde su compra hasta el análisis cercano al final de su vida útil.

La preparación de las muestras de queso se llevó a cabo bajo estrictas condiciones de asepsia para asegurar la integridad de estas y minimizar la contaminación cruzada. Previo a la manipulación, los instrumentos de corte y manipulación (cuchillo, pinzas, tijeras) se sometieron a un tratamiento de limpieza y desinfección. Este incluyó un lavado exhaustivo con agua y detergente, seguido de una inmersión en una solución de hipoclorito sódico al 10% (v/v) para la eliminación de posibles restos de ADN y ARN, garantizando así la pureza de las muestras.

Una vez abierta cada cuña de queso, se procedió a la toma de submuestras iniciales. Se dividió el queso en fragmentos de aproximadamente 50 g, excluyendo la corteza externa, los cuales fueron introducidos asépticamente en bolsas estériles tipo Stomacher® (Deltalab, Barcelona, España) y congelados a -20 °C para su conservación a largo plazo o para análisis futuros.

Para el análisis inmediato, se seleccionó un fragmento representativo de queso (bien de una de las submuestras previamente congeladas y atemperadas, o directamente de una porción fresca si el análisis se realizó en el momento de apertura). Este fragmento se dispuso sobre una superficie estéril. Tras un nuevo lavado y desinfección del instrumento de corte, se procedió a seccionar pequeñas porciones del fragmento seleccionado. Estas porciones fueron transferidas asépticamente, utilizando pinzas estériles, a una bolsa estéril pre-tarada y estabilizada en una balanza analítica (Ohaus®, Scout AX2201/E, Ohaus Corporation, Nueva Jersey, EE. UU.) hasta alcanzar un peso exacto de 25 g. A esta cantidad de muestra se añadió asépticamente 225 mL de agua de peptona tamponada (Oxoid, Hampshire, Inglaterra) como diluyente.

Finalmente, la mezcla resultante fue sometida a un proceso de homogeneización mecánica en un homogeneizador de muestras Stomacher® (Seward, Stomacher 400 Circulator, Inglaterra) a una velocidad de 300 revoluciones por minuto (rpm) durante un período de 5 minutos. La suspensión obtenida tras este procesamiento fue designada como "homogeneizado". En general, las muestras destinadas a análisis inmediatos fueron procesadas el mismo día de su preparación. No obstante, en casos de demoras, los homogeneizados pudieron conservarse bajo refrigeración (4 ± 1 °C) por un período no superior a 24 horas para mantener la viabilidad microbiana. Además, cada homogeneizado se alicuotó en tubos estériles de 100 mL, que se mantuvieron congelados a -20 °C para su posible utilización a lo largo del proceso experimental.

3.4. Caracterización fenotípica

A continuación se describen los protocolos ensayados con técnicas dependientes de cultivo.

3.4.1. Microbiología tradicional basada en cultivo: identificación y recuento en agares sin antibiótico

Se llevaron a cabo análisis microbiológicos tradicionales utilizando diversos medios de cultivo para identificar y cuantificar la diversidad microbiana presente en los quesos analizados. Estos análisis se realizaron mediante métodos de cultivo enfocados en la detección de células viables. Se emplearon dos métodos de siembra: el descrito en la norma UNE-EN ISO 21528-2:2018 (para recuento de enterobacterias) y el descrito en la norma UNE-EN ISO 4833-2:2014 (para el resto de grupos microbianos). En todos los casos se realizaron diluciones decimales seriadas en agua de peptona al 0,1% (Oxoid, Hampshire, Reino Unido) (v/v) a partir de 1 mL de homogeneizado de queso. Para todos los grupos microbianos, excepto las enterobacterias, los inóculos de las diluciones seriadas se extendieron directamente sobre la superficie del agar en placas Petri, según las especificaciones descritas a continuación.

Después del tiempo de incubación definido para cada grupo de microorganismos, se seleccionaron las placas que contenían, si era posible, menos de 300 colonias. Luego, se contaron todas las colonias características, utilizando, en caso necesario, un contador de colonias (Porotos, Analytical Measuring Systems, Cambridge, Reino Unido). Las colonias que crecieron extendidas se consideraron como colonias individuales. Los resultados se expresaron en unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL).

Mohos y Levaduras:

Se sembraron en PDA (Potato Dextrose Agar) (Oxoid) suplementado con cloranfenicol a 0,1% (m/v) y gentamicina al 4% (m/v), ambos reactivos provistos por Sigma-Aldrich (Steinheim, Westphalia, Alemania). Las placas se incubaron a 25 °C durante 4-5 días en condiciones de aerobiosis. Diluciones inoculadas: 10^{-1} y 10^{-3} .

Bacterias ácido-lácticas:

Se sembraron en MRS (Man, Rogosa y Sharpe Agar) (Oxoid, Hampshire, Inglaterra) y se incubaron a 30 °C durante 3-4 días en condiciones de anaerobiosis. Diluciones inoculadas: 10^{-1} , 10^{-3} y 10^{-5} .

Enterococcus spp.:

Cultivados en BEA (Bile Esculin Azide) (Scharlab, Barcelona, España) e incubados a 37 °C durante 48 h en aerobiosis. Diluciones inoculadas: 10^{-1} , 10^{-3} y 10^{-5} .

Enterobacterales:

Se utilizó el método de siembra en doble capa, mezclando cuidadosamente 1 mL de la dilución 10^{-1} en agar atemperado VRBG (violet red bile glucose) (Oxoid, Hampshire, Inglaterra). Una vez solidificado, se añadió una capa de recubrimiento de aproximadamente 5 mL del mismo agar para crear condiciones semi-anaeróbicas. Las placas se incuban a 37 °C durante 24 horas. Tras el período de incubación, se seleccionaron como colonias características aquellas de color rosa, rojo o púrpura (con o sin halo de precipitación).

3.4.2. Microbiología tradicional basada en cultivo: identificación y recuento en agares con antibiótico

Este trabajo se enmarca en un proyecto más amplio que, además de caracterizar la microbiota presente en quesos artesanales, tiene como objetivo el aislamiento y la caracterización de bacterias resistentes a antibióticos a partir de los productos muestreados. Por tanto, la siembra comparada en agares sin y con antibióticos cumple dos objetivos: (i) facilitar el aislamiento de bacterias potencialmente resistentes o tolerantes a antibióticos, y (ii) obtener un perfil microbiológico distintivo de la microbiota cultivable de cada queso según su capacidad para crecer en presencia de distintos antibióticos.

Para implementar esta estrategia, se seleccionaron antibióticos relevantes junto con sus concentraciones óptimas, de acuerdo con criterios clínicos y microbiológicos establecidos. Se seleccionaron aquellos antibióticos con mayor relevancia clínica y epidemiológica según su uso en rumiantes lecheros (ver punto 1.6.1). Las concentraciones de los antibióticos fueron establecidas a partir de los valores de corte microbiológicos recomendados por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, 2012). Para cada antibiótico se identificó la concentración de referencia más elevada reportada entre los géneros bacterianos (para BAL) o de *Enterococcus faecium* (para *Enterococcus* spp.). Estos valores de corte consensuados se multiplicaron por cuatro para determinar las concentraciones finales de los antibióticos utilizadas en este estudio (Tabla 2), de forma que se permitiera una discriminación eficaz entre cepas con resistencia adquirida y cepas sensibles, facilitando así una detección más robusta de mecanismos de resistencia relevantes.

Tabla 2. Concentraciones de antibióticos empleadas para los recuentos en presencia de antibióticos.

Concentración de antibiótico (µg/mL)		
	MRS	BEA
Ampicilina	8	8
Cloranfenicol	16	64
Eritromicina	4	16
Tetraciclina	32	16
Gentamicina	64	128
Estreptomicina	256	512
Ciprofloxacina	N/A	16

La elección de los medios de cultivo MRS y BEA se fundamentó en su capacidad para favorecer el crecimiento específico de BAL y *Enterococcus* spp., minimizando la interferencia de otros microorganismos. El método de siembra utilizado fue el mismo descrito anteriormente (método de extensión en superficie), con la excepción de que los medios con antibióticos se prepararon siguiendo el siguiente protocolo.

Las soluciones madre de antibióticos se prepararon a una concentración de 64 mg/mL utilizando el diluyente adecuado según las indicaciones del fabricante y la solubilidad de cada antibiótico. En la mayoría de los casos se usó agua Milli-Q® (Merck Millipore, Burlington, MA, EE. UU.), excepto para cloranfenicol y eritromicina, que se disolvieron en etanol molecular al 95% v/v (Merck, Darmstadt, Alemania). Posteriormente, las soluciones madre se filtraron para asegurar su esterilidad mediante filtros de 0,22 µm (Millipore, Burlington, MA, EE. UU.), se almacenaron en alícuotas a -20 °C y, una vez descongeladas, no se volvieron a congelar para preservar su integridad.

Para preparar las soluciones de trabajo, se realizaron diluciones seriadas 1:2 de cada antibiótico en agua Milli-Q® usando placas microtiter (Thermo Fisher Scientific, EE. UU.) hasta alcanzar una concentración 1000 veces menor que la solución madre. La solución de trabajo se incorporó al agar atemperado a 50 °C para evitar la degradación del antibiótico, y se mezcló cuidadosamente para asegurar una distribución homogénea. El medio se vertió inmediatamente en placas, que se conservaron refrigeradas hasta 24 horas antes de su uso para garantizar la estabilidad del antibiótico.

3.4.3. Cálculo del índice de viabilidad en presencia de antibióticos (IVA) para bacterias

El índice de viabilidad en presencia de antibióticos (IVA) permite obtener un perfil microbiológico general de la microbiota cultivable en cada muestra, evaluando su capacidad para crecer en presencia de distintos antibióticos.

Para calcular el IVA es necesario calcular previamente el número de UFC/g de queso tanto en medios con antibiótico como en medios sin antibiótico, para lo cual se aplica la siguiente fórmula:

$$\text{Número total de bacterias} \left(\frac{\text{UFC}}{\text{g}} = \frac{\text{UFC}}{\text{ml}} \right) = \frac{\text{Número de colonias} \times \text{factor de dilución}}{\text{Volumen inoculado (mL)}}$$

Donde:

Número de colonias: El número de colonias contadas en la placa.

Factor de dilución: El inverso de la dilución de la muestra sembrada (ej. si la dilución es 1:1000, el factor es 1000). Debe incluirse la dilución inicial al homogeneizar 25 g de queso en 225 mL de agua peptonada tamponada.

Volumen sembrado: El volumen de muestra sembrado, generalmente 0,1 mL o 1 mL.

El IVA se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{IVA} = \frac{\text{Número de colonias que crecieron en agar con antibiótico} \left(\frac{\text{UFC}}{\text{mL}} \right)}{\text{Número de colonias que crecieron en agar sin antibiótico} \left(\frac{\text{UFC}}{\text{mL}} \right)}$$

3.5. Caracterización genotípica

3.5.1. *Medición y estandarización de la concentración de DNA*

Para analizar la presencia de genes de resistencia a antimicrobianos (ARGs) y evaluar la diversidad de la microbiota en las muestras, se aisló el DNA total (genómico más plasmídico) del queso a temperatura ambiente utilizando los kits de extracción DNeasy PowerSoil (Qiagen, Hilden, Alemania), siguiendo las instrucciones del fabricante:

- Se transfirieron 10 mL de la solución obtenida del homogeneizado inicial a tubos Falcon (J.D. Catalán, Barcelona, España) de 15 mL.
- Se realizó una primera centrifugación a $6500 \times g$ durante 8 min. Se descartó el sobrenadante y, con un hisopo, se limpiaron los residuos lipídicos adheridos a las paredes del tubo evitando el contacto con la superficie del pellet.
- Se lavó el pellet con 10 mL de agua de peptona al 0,1% (Oxoid) y se procedió a una segunda centrifugación a $6500 \times g$ durante 8 min.
- Se descartó el sobrenadante y se resuspendió el pellet en el primer reactivo proporcionado por el kit.
- Se siguieron las instrucciones adicionales del kit para completar el proceso.

Una vez obtenido el DNA, se determinó la concentración de cada muestra mediante

fluorimetría utilizando un equipo Qubit. (Qubit™ 4 Fluorómetro, Invitrogen, Singapur) Para la cuantificación, se homogenizó 1 µL de DNA con 199 µL de solución de trabajo Qubit 1x dsDNA HS. La mezcla se protegió de la luz y se dejó atemperar durante 5 min antes de proceder a la medición. Las extracciones de DNA obtenidas de los homogeneizados se conservaron a -20 °C en tubos de microcentrífuga.

3.5.2. Secuenciación metagenómica

La secuenciación metagenómica de lectura corta se realizó mediante un servicio externo, utilizando la plataforma Illumina NextSeq y la librería Nextera XT para el DNA extraído de los homogeneizados de los diferentes quesos. Para los análisis post-secuenciación se utilizó un servidor interno accesible de forma remota, configurado con un sistema operativo Linux Ubuntu 24.04 LTS y optimizado para aplicaciones bioinformáticas, las cuales fueron ejecutadas a través de una interfaz de línea de comandos. Los *scripts* de automatización y procesamiento para estos análisis se desarrollaron específicamente utilizando lenguajes de programación Bash y Python. Estos análisis se resumen a continuación.

Limpieza de datos:

Las lecturas crudas obtenidas se sometieron a un control de calidad y trimming con Trimmomatic (v0.39) (Bolger et al., 2014). Este proceso eliminó los adaptadores y aseguró una calidad media Phred mínima de 38, verificada posteriormente con FastQC v0.12.1 (Andrews, 2010) y seqtk v1.3-r106 (Li, 2012).

Análisis de clasificación taxonómica con Kraken2:

Para determinar el perfil taxonómico de cada muestra de queso, se empleó la herramienta Kraken2 v2.1.3 (Lu et al., 2022) junto con la base de datos K2-pluspf (v20240904). Kraken2 es un software de clasificación taxonómica que se basa en la alineación de k-mers (subsecuencias de ADN de longitud k). Utilizando estos k-mers, Kraken2 clasifica taxonómicamente las secuencias de ADN, lo que permite identificar y cuantificar la abundancia de diversos microorganismos presentes en una muestra a partir de datos de secuenciación. Esta herramienta destaca por su alta precisión y velocidad en la clasificación taxonómica de secuencias metagenómicas.

Para enfocar el análisis en la microbiota de interés, se utilizó kraken-filter para eliminar automáticamente todas las lecturas correspondientes a organismos que no fueran bacterias, arqueas u hongos.

Representación de grupos taxonómicos

Los resultados de Kraken2 se procesaron con Krona (Ondov, Bergman y Phillippy, 2011) para obtener representaciones interactivas. Adicionalmente, se generaron automáticamente gráficos de barras apiladas mediante *scripts* prediseñados en Python, utilizando la librería Matplotlib. Estos scripts convirtieron los recuentos de lecturas en abundancias relativas, agruparon los taxones con <1% como “Others”, y así permitieron comparar los principales grupos taxonómicos (especie, género y familia) entre muestras.

Identificación de genes de resistencia (ARGs) a antibióticos con DeepARG

Aunque existen diversas herramientas bioinformáticas para la detección ARGs en datos metagenómicos, como ShortBRED, ARGs-OAP, cada una presenta características metodológicas distintas que influyen en su idoneidad según el objetivo del análisis. Por ejemplo, ShortBRED está optimizada para cuantificar ARGs en lecturas sin ensamblar, basándose en la traducción de estas lecturas a secuencias proteicas y mediante el uso de marcadores peptídicos únicos de familias génicas, lo que la hace eficiente, pero limitada frente a variantes desconocidas o de baja homología con los marcadores establecidos (Kaminski et al., 2015). ARGs-OAP es una alternativa muy útil que puede operar tanto sobre lecturas crudas como sobre contigs ensamblados, pero generalmente requiere mayor calidad y cantidad de datos, lo que puede ser un desafío en microbiomas complejos como los presentes en productos fermentados (Yin et al., 2018).

Frente a estas herramientas, se empleó la herramienta bioinformática DeepARG v1.0.2 (Arango-Argoty et al., 2018) para identificar y cuantificar genes de resistencia a antibióticos en los datos de secuenciación. DeepARG ofrece una solución más sensible, ya que se basa en el uso de modelos de aprendizaje profundo entrenados con bases de datos extensas. Esto permite identificar ARGs en lecturas crudas incluso con baja homología de secuencia, reduciendo así la tasa de falsos negativos (Arango-Argoty et al., 2018). Esta característica resulta especialmente valiosa en el contexto de los quesos artesanales, donde se espera encontrar una microbiota diversa y parcialmente no caracterizada. Por ello, y considerando el objetivo de caracterizar genes de resistencia en una matriz compleja sin descartar variantes emergentes, se optó por DeepARG como herramienta principal para este estudio.

Normalización de la Expresión Génica

La normalización es un paso crucial para corregir las posibles variaciones en la cantidad total de ADN presente en cada muestra, y asegurar que las diferencias

observadas en la expresión génica sean reales y no un artefacto del experimento y es un proceso que se utiliza en estudios de expresión génica para ajustar las diferencias en las cantidades de ADN o ARN entre muestras (Bullard, Purdom, Hansen, & Dudoit, 2010). En este estudio, la normalización fue realizada tomando como referencia el gen 16S rRNA, un gen ampliamente utilizado en estudios microbiológicos por su presencia constante y su bajo nivel de variabilidad en la mayoría de las bacterias (Větrovský & Baldrian, 2013). Esto permite comparar la expresión del gen objetivo, de manera más precisa, independientemente de las fluctuaciones en la cantidad total de ADN entre muestras. Para normalizar los resultados de la expresión del gen en cada muestra, se calculó la relación entre las copias del gen y las copias del gen 16S rRNA utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Abundancia relativa} = \frac{\text{Número de lecturas totales mapeadas a un gen}}{\text{Número de lecturas totales del gen 16S rRNA}}$$

Cálculo de la diversidad alfa y beta

A partir de los archivos generados por Kraken, se estimaron las abundancias de cada taxón mediante Bracken v3.1 (Lu et al., 2017). Posteriormente, la diversidad alfa y la diversidad beta (calculada mediante distancias Bray-Curtis) se calcularon a nivel de especie utilizando funciones de KrakenTools v1.2 (Lu et al., 2022) a partir de los archivos generados de Bracken.

3.6. Análisis estadístico y representaciones gráficas

Todos los resultados provienen de al menos tres experimentos independientes con distintos lotes de quesos, realizados en distintos días de trabajo. Las gráficas representando los índices de viabilidad en presencia de antibiótico se muestran como media $\pm$ desviación estándar y fueron generadas con el software Prism (GraphPad, versión 4.03, San Diego, CA, EE. UU.). Estos datos fueron analizados mediante análisis de varianza (ANOVA), seguido de una prueba post hoc de Tukey, utilizando el mismo software. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando $p \leq 0,05$. Las gráficas derivadas de los análisis post-secuenciación fueron generadas automáticamente mediante *scripts* en Python y en R previamente diseñados, utilizando las librerías Matplotlib y ggplot2, respectivamente.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Perfil taxonómico de la microbiota de los quesos

La caracterización de la microbiota presente en los quesos artesanales se realizó mediante dos enfoques complementarios: por un lado, técnicas microbiológicas dependientes de cultivo, que permiten aislar y cuantificar grupos microbianos viables y cultivables en condiciones específicas de laboratorio; y por otro, análisis metagenómicos basados en la secuenciación del ADN total. Esto incluye ADN procedente también de especies viables pero no cultivables, e incluso de microorganismos no viables. A continuación, se presentan los resultados obtenidos mediante ambas metodologías.

4.1.1. Recuentos microbianos a partir de técnicas dependientes de cultivo

El análisis microbiológico de los quesos artesanales mediante técnicas de cultivo reveló una alta variabilidad en la composición de la microbiota cultivable. En la Ilustración 2a, se muestran los recuentos medios ($n = 3$) de cinco grupos microbianos: bacterias ácido-lácticas (BAL), *Enterococcus spp.*, *Enterobacterales*, mohos y levaduras. En todos los casos, las BAL constituyeron el grupo dominante, con valores que oscilaron entre 5,40 y 7,74 Log₁₀ UFC/mL. El queso C025 presentó la mayor concentración de BAL (media: 7,54 Log₁₀ UFC/mL), mientras que C082 mostró la más baja (media: 6,05 Log₁₀ UFC/mL). El análisis estadístico (ANOVA) aplicado a los recuentos de BAL no reveló diferencias significativas entre los quesos ($p = 0,078$). En cambio, los recuentos de *Enterococcus spp.* (3,78–5,76 Log₁₀ UFC/mL) sí mostraron diferencias significativas entre muestras (ANOVA, $p = 0,016$), con valores más elevados en los quesos C025 y C083 en comparación con C033 y C082. La prueba post-hoc de Tukey identificó diferencias significativas entre los pares C025–C033 ($p = 0,028$), C025–C082 ($p = 0,045$) y C083–C033 ($p = 0,033$), y los niveles de *Enterobacterales* fueron generalmente bajos o no detectables. Mohos y levaduras presentaron una distribución irregular, reflejando la variabilidad en las condiciones de elaboración. En la Ilustración 2b se presentan los recuentos microbianos obtenidos a partir de una única muestra representativa por cada queso, la cual fue empleada para la secuenciación metagenómica. Aunque estos valores están incluidos en los promedios mostrados en la Ilustración 2a, se representan individualmente para facilitar su comparación directa con los perfiles obtenidos por secuenciación.

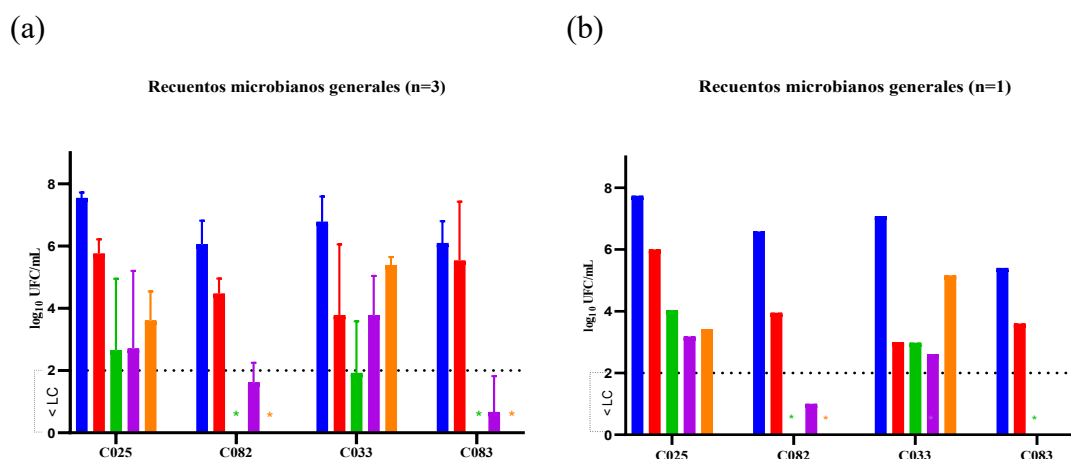


Ilustración 2. Recuentos microbianos obtenidos mediante técnicas dependientes de cultivo. (a) Recuentos medios (n = 3 réplicas independientes) expresados como Log₁₀ UFC/mL ± desviación estándar para los cuatro tipos de quesos artesanales evaluados. (b) Recuento microbiano correspondiente a una única réplica (n = 1) del lote seleccionado para análisis metagenómico por secuenciación. Los grupos microbianos cuantificados incluyen: ■ BAL, ■ *Enterococcus* spp., ■ *Enterobacterales*, ■ Mohos, ■ Levaduras. * < LC = Inferior al límite de cuantificación.

4.1.2. Perfil taxonómico a partir de secuenciación metagenómica

En metagenómica, la proporción de especies microbianas en una muestra se expresa comúnmente como abundancia relativa, que representa el porcentaje de lecturas (reads) clasificadas taxonómicamente que se asignan a un determinado taxón respecto al total de lecturas analizadas (Quince et al., 2017). La composición taxonómica se representa aquí mediante gráficos de barras apiladas (Ilustraciones 3–5), construidos a partir de las tablas de abundancia relativas obtenidas del análisis de Kraken2 (mostrado en los Anexos 3–6). También se han generado visualizaciones interactivas tipo *Krona*, que permiten explorar con mayor detalle la composición taxonómica de cada muestra (Anexos 7–10).

Los análisis taxonómicos de las muestras de los cuatro quesos revelaron una notable variabilidad en la composición microbiana a nivel de familia, género y especie, con predominio de las familias *Lactobacillaceae* y *Streptococcaceae* (Anexo 3). A nivel de género (Ilustración 4), *Lactococcus* fue dominante en C082 (80,08%) y C033 (75,32%), mientras que C083 presentó una comunidad más diversificada, con predominio compartido de *Lentilactobacillus* (36,58%), *Lactococcus* (21,99%) y *Lacticaseibacillus* (11,27%). En C025, se destacó *Lentilactobacillus* (58,19%), seguido por *Lacticaseibacillus* (12,89%). La categoría “Other” reflejó abundancia de géneros minoritarios, con valores acumulativos superiores al 14% en C083 y C025.

A nivel de especie (Ilustración 5, Anexo 5), los perfiles reflejaron diferencias marcadas entre muestras. En el queso C025 se observó un claro predominio de

Lentilactobacillus kefir (52,74%), junto con la presencia de *Lacticaseibacillus paracasei* (11,89%), *Lactiplantibacillus plantarum* (2,86%), *Lentilactobacillus parabuchneri* (2,51%), *Lentilactobacillus buchneri* (1,55%) y *Leuconostoc mesenteroides* (2,45%). También se detectaron proporciones bajas de *Lactococcus lactis* (3,74%) y un 22,26% de especies clasificadas como “Other”, lo cual puede consultarse con más detalle en el gráfico Krona correspondiente (Anexo 6).

En C082, la especie dominante fue *Lactococcus lactis* (50,18%), seguida por *Streptococcus thermophilus* (9,31%), *Lactococcus cremoris* (2,57%) y *Lactococcus spp.* (1,98%). Esta muestra presentó una de las mayores proporciones de especies minoritarias agrupadas en “Other” (35,96%), lo cual se aprecia en el gráfico Krona del Anexo 7.

Por su parte, el queso C033 mostró un perfil centrado en *Lactococcus lactis* (51,31%), acompañado por *Streptococcus thermophilus* (16,74%), *Lactococcus spp.* (4,48%), *Lactococcus cremoris* (1,13%) y *Lactilactobacillus sakei* (2,13%). La categoría “Other” representó un 24,21% del total, lo que sugiere una diversidad moderada de especies no dominantes (Anexo 8).

Finalmente, el queso C083 se caracterizó por una comunidad altamente diversa, con predominio de *Lentilactobacillus parabuchneri* (28,79%), *Lacticaseibacillus paracasei* (10,64%), *Lactococcus cremoris* (8,75%), *Lactococcus lactis* (7,76%), *Lentilactobacillus kefir* (2,89%), *Lentilactobacillus buchneri* (3,65%), *Lactiplantibacillus plantarum* (1,19%) y *Streptococcus parauberis* (1,06%). La categoría “Other” alcanzó el 35,27%, indicando una amplia diversidad de especies no dominantes, visualizadas en el gráfico Krona del Anexo 9.

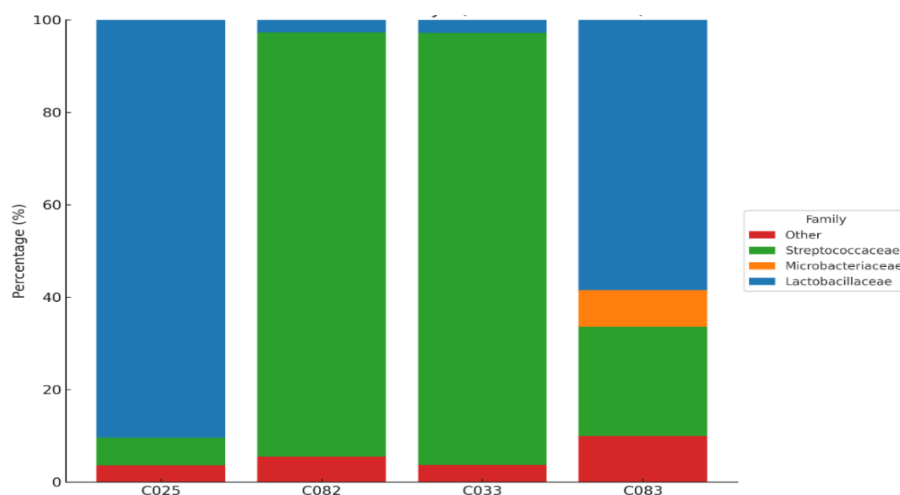


Ilustración 3. Grafica apilada de la composición de familias bacterianas (>1% de abundancia) en los quesos C025, C082, C033 y C083, según secuenciación metagenómica.

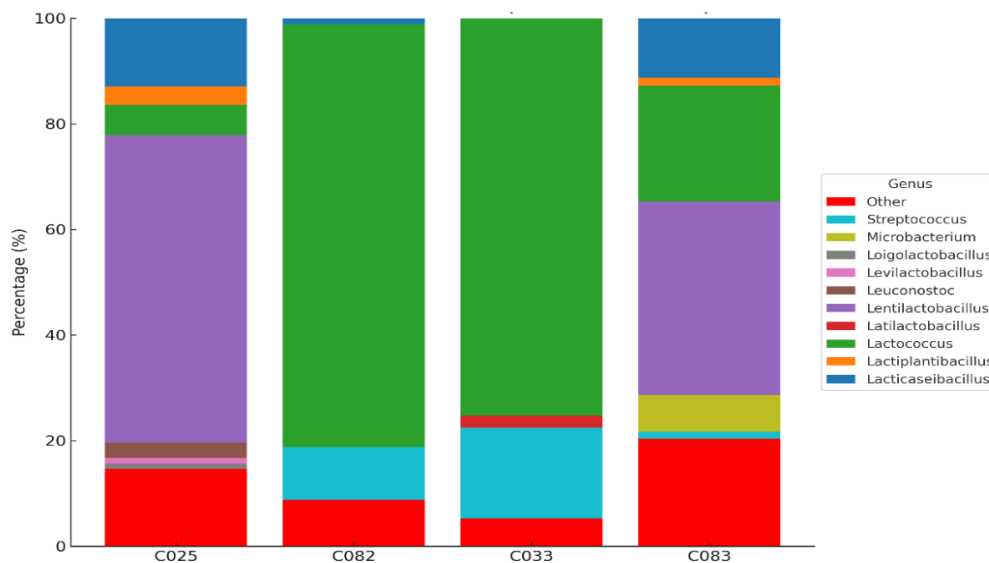


Ilustración 4. Grafica apilada de la composición de géneros bacterianas (>1% de abundancia) en los quesos C025, C082, C033 y C083, según secuenciación metagenómica.

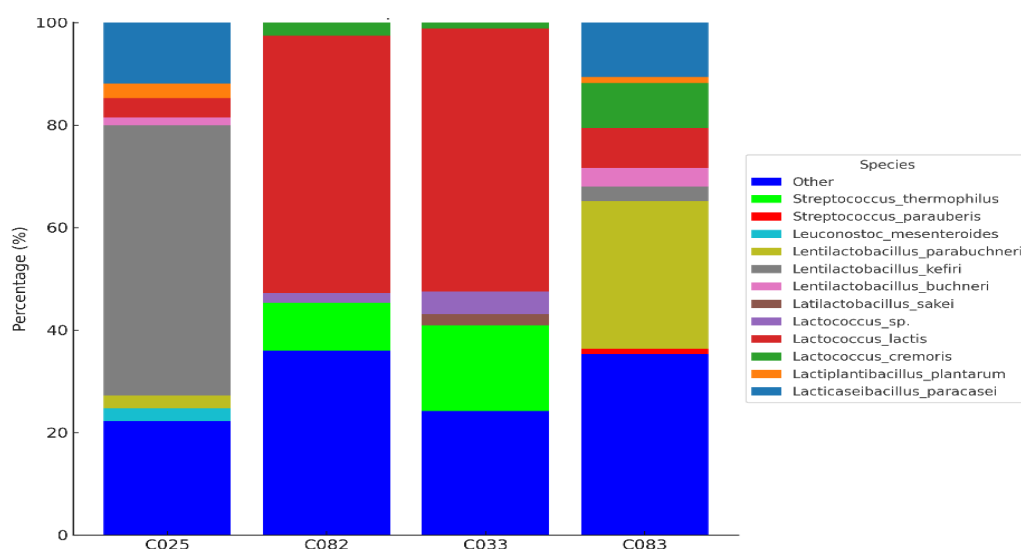


Ilustración 5. Grafica apilada de la composición de especies bacterianas (>1% de abundancia) en los quesos C025, C082, C033 y C083, según secuenciación metagenómica.

4.1.3. *Diversidad intra- y entre muestras: influencia de la leche y las condiciones de producción*

Feranchuk et al. (2018) detalla que la diversidad puede evaluarse mediante dos dimensiones principales: la diversidad alfa (α -diversidad), que describe la complejidad microbiana dentro de una misma muestra, y la diversidad beta (β -diversidad), que cuantifica las diferencias entre las comunidades microbianas de diferentes muestras. La diversidad alfa se mide en términos de riqueza (número de especies observadas), diversidad (índices como Shannon) y uniformidad (heterogeneidad relativa entre

abundancias, evaluada mediante el índice de Simpson invertido). Por otro lado, la diversidad beta se representa habitualmente mediante análisis de ordenación multivariada, como los diagramas de coordenadas principales (PCoA).

Tabla 3. Indicadores de diversidad alfa microbiana (especies observadas, índice de Shannon e índice de Simpson invertido) obtenidos mediante secuenciación metagenómica del ADN total en los quesos artesanales C025, C082, C033 y C083.

	C025	C082	C033	C083
Especies observadas	1685	601	657	5656
Shannon	1,840	0,985	1,090	3,190
Simpson invertido	2,790	1,611	1,911	6,951

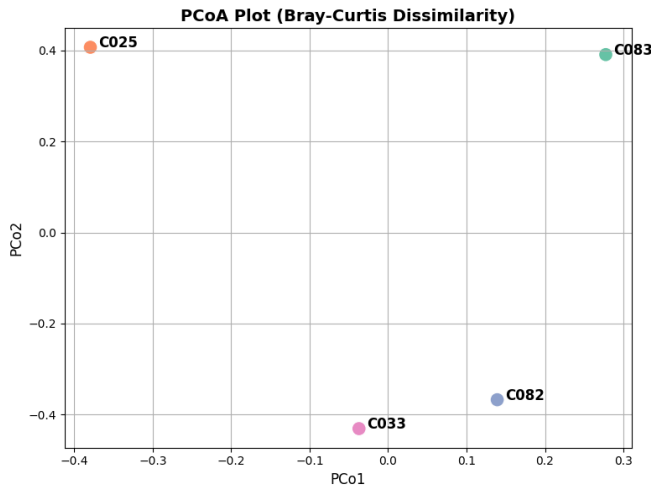


Ilustración 6 Análisis de coordenadas principales (PCoA) de la diversidad beta entre muestras de queso, basado en la disimilitud de Bray-Curtis. Cada punto representa el perfil metagenómico de cada queso individual, y la separación entre ellos refleja diferencias en la composición microbiana.

En este estudio, la diversidad alfa mostró diferencias considerables entre las muestras analizadas. En la tabla 3, la muestra C083 presentó la mayor riqueza de especies observadas (5656), así como los valores más altos en los índices de Shannon (3,190) y Simpson invertido (6,951), lo que sugiere una comunidad microbiana más diversa y equitativa. En contraste, C033, C082 y C025 mostraron niveles de diversidad más bajos, con valores de Shannon que oscilaron entre 0,985 y 1,840, y de Simpson invertido entre 1,611 y 2,790, siendo la muestra C082 la menos diversa. Estas diferencias pueden estar relacionadas con el tipo de leche, así como con las condiciones de maduración y el uso o no de cultivos iniciadores, aunque estas relaciones no han sido esclarecidas.

El análisis de diversidad beta reflejó una clara separación entre las muestras, con

una tendencia de agrupación entre las muestras C033 y C082. Estas muestras, pese a provenir de productos distintos (diferente origen, tipo de leche, tratamiento térmico, y grado de maduración), mostraron perfiles taxonómicos similares (Ilustración 5) y fueron, además, las menos diversas según el análisis de diversidad alfa. Este resultado sugiere una posible convergencia microbiana que podría estar relacionada con factores como condiciones de almacenamiento similares o la presencia de microorganismos dominantes con alta capacidad de colonización (Quigley et al., 2012). Por otra parte, destaca la elevada diversidad beta encontrada entre las muestras C082 y C083, que provienen del mismo productor y tipo de leche, indicando una gran divergencia durante el proceso de maduración.

4.1.4. Comparación entre microbiología tradicional y metagenómica

La combinación de métodos tradicionales de cultivo con técnicas metagenómicas (independientes del cultivo) ofrece una visión complementaria de la microbiota presente en los quesos. Mientras que el cultivo permite cuantificar únicamente microorganismos viables y cultivables en condiciones específicas, la metagenómica detecta ADN microbiano total, incluyendo especies viables no cultivables (VBNC) y no viables (Pienaar et al., 2016; Feranchuk et al., 2018). No obstante, la metagenómica también presenta limitaciones, como sesgos en la extracción de ADN y deficiencias en las bases de datos de referencia (Zhou et al., 2023). En general, ambos enfoques mostraron una coincidencia cualitativa en la detección de los principales grupos microbianos: BAL, *Enterococos*, *Enterobacterales* mohos y levaduras, aunque con discrepancias cuantitativas en algunos casos.

Las BAL fueron dominantes en todos los quesos tanto por cultivo (valores entre 5,40 y 7,74 Log₁₀ UFC/mL) como por metagenómica, donde se detectaron géneros típicos como *Lactococcus*, *Lacticaseibacillus* y *Lentilactobacillus*. El queso C025 presentó la mayor carga de BAL (7,74 Log₁₀ UFC/mL), lo que se corresponde con su mayor proporción de *Lactococcus lactis* en el análisis metagenómico.

Los enterococos mostraron variabilidad en cultivo, con valores desde 3,00 Log₁₀ UFC/mL (C033) hasta 6,00 Log₁₀ UFC/mL (C025). Su ADN fue detectado metagenómicamente en baja proporción en las muestras correspondientes, con buena correspondencia cualitativa, aunque menor en cantidad.

Respecto a las enterobacterias, se cultivaron únicamente en C025 (4,03 Log₁₀ UFC/mL) y C033 (2,98 Log₁₀ UFC/mL). Sin embargo, en metagenómica se detectaron

porcentajes bajos en C025 (0,13%) y C083 (1,10%), mientras que en C033 y C082 fueron prácticamente indetectables ($\leq 0,01\%$). Es destacable que en C083, donde no hubo crecimiento en cultivo, sí se detectó ADN de enterobacterias, posiblemente por la presencia de células no viables o VBNC. En cuanto a mohos y levaduras, se aislaron principalmente en C025 (3,18 y 3,42 Log₁₀ UFC/mL respectivamente) y en C033 (2,61 y 5,16 Log₁₀ UFC/mL). Su abundancia relativa metagenómica fue inferior al 1% en todas las muestras, pero consistente con su presencia en cultivo, especialmente en las muestras mencionadas. En los quesos C082 y C083, donde no se detectaron en cultivo, tampoco fueron detectados por secuenciación, lo que refuerza la concordancia.

Estas diferencias entre metodologías son comunes al tratarse de técnicas basadas en diferentes principios (Mayo et al., 2014). Factores como la presencia de ADN de células no viables, diferencias en la eficiencia de extracción, la heterogeneidad del producto o posibles contaminaciones cruzadas pueden explicar las discrepancias cuantitativas. No obstante, los resultados globales son coherentes, y evidencian que ambas técnicas, en conjunto, ofrecen una caracterización robusta de la microbiota de los quesos.

4.1.5. Posibles implicaciones sanitarias de la microbiota detectada

Según el Reglamento (CE) N.º 2073/2005, los productos listos para el consumo, como el queso, deben estar libres de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spp.*, y presentar niveles bajos de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (Anexo 1). En este estudio no se aplicaron métodos de cultivo selectivo específicos para la detección de *Listeria* ni *Salmonella*. Sin embargo, el análisis metagenómico permitió identificar trazas de ADN atribuibles a estos patógenos en algunas muestras, aunque en proporciones muy bajas, lo cual podría deberse a una contaminación previa, a la presencia de células VBNC o incluso a restos de células muertas. Dado que la metagenómica expresa los resultados en términos de abundancia relativa, es importante considerar también el número absoluto de lecturas asignadas a cada taxón para una evaluación más precisa, especialmente en microorganismos poco abundantes (Props et al., 2017). Por ejemplo, en el queso C033 se detectaron menos de 100 lecturas correspondientes a *E. coli*, *Salmonella enterica* y *Klebsiella pneumoniae* (Anexo 5), lo que sugiere una presencia residual, sin implicación sanitaria directa aparente.

En cuanto a *Enterococcus spp.*, el queso C025 mostró una presencia notable tanto por cultivo (6,00 log₁₀ UFC/mL) (Ilustración 2b) como por secuenciación metagenómica

(Anexo 3), en la que este género representó alrededor del 1 % del total de la microbiota, entre los que se encuentran *E. faecalis* (0,20 %) y *E. faecium* (0,09 %). Aunque estas especies pueden formar parte del grupo NSLAB y contribuir positivamente al proceso de maduración del queso, también son conocidas por su capacidad de actuar como patógenos oportunistas en entornos hospitalarios y por su papel en la diseminación de genes de resistencia antimicrobiana, lo que requiere un seguimiento adecuado. Asimismo, en el queso C025 se detectó un 0,03 % de ADN de *Staphylococcus aureus* mediante metagenómica. Aunque este valor es bajo, la especie es relevante desde el punto de vista sanitario, ya que puede producir enterotoxinas si las condiciones de almacenamiento o elaboración no son óptimas.

Si bien estos niveles detectados son bajos y no implican un riesgo inmediato, subrayan la importancia de mantener buenas prácticas de higiene durante la producción artesanal, tanto para evitar contaminaciones cruzadas como para controlar la proliferación de especies potencialmente patógenas (Quigley et al., 2013). Por último, aunque las BAL son esenciales en la elaboración de quesos por su papel en la fermentación y maduración, algunas especies detectadas, como *Lactobacillus parabuchneri*, *L. buchneri* o *L. paracasei*, pueden producir aminas biógenas bajo determinadas condiciones. Aunque en este estudio no se midió directamente la concentración de dichas sustancias, su vigilancia es recomendable, ya que niveles elevados pueden causar efectos tóxicos en el consumidor (Ruíz-Capillas & Herrero, 2019).

4.2. Análisis de microorganismos potencialmente resistentes a antibióticos y de genes de resistencia.

El análisis de la resistencia a antibióticos en los quesos artesanales se abordó desde una doble perspectiva: por un lado, mediante métodos fenotípicos basados en cultivo en medios suplementados con antibióticos, que permiten evaluar la capacidad de crecimiento en presencia de compuestos antimicrobianos; y por otro, a través de herramientas metagenómicas que detectan y cuantifican directamente los genes de resistencia presentes en la microbiota total. Esta estrategia combinada permite no solo caracterizar la resistencia expresada por los microorganismos viables, sino también identificar la potencialidad genética del resistoma, independientemente del estado de viabilidad de los microorganismos portadores. A continuación, se presentan los

resultados obtenidos mediante ambas aproximaciones.

4.2.1. Recuentos en medios de cultivo tradicionales con antibióticos y determinación de IVAs

La mayor parte de los estudios que caracterizan las resistencias a antibióticos en muestras alimentarias o ambientales lo hacen a partir de aislamientos bacterianos individuales y posterior caracterización de estos, encontrándose numerosos ejemplos en quesos (Belletti et al., 2009; Herreros et al., 2005) u otros alimentos (Herreros et al., 2005; Mahros et al., 2021). En el presente estudio, siguiendo ejemplos aplicados a otras matrices alimentarias (Aquilanti et al., 2007; Osimani et al., 2018; Vignaroli et al., 2011) o ambientales (Osibiston et al., 2021), se ha optado por una estrategia basada en recuentos comparativos en medios con y sin antibióticos.

Esta metodología no solo facilita el aislamiento de bacterias resistentes, sino que también permite obtener un perfil microbiológico distintivo para cada queso, completando así la “huella digital” microbiana característica de cada producto. Esta estrategia permite evaluar la reproducibilidad de diferentes lotes de un mismo queso, al mismo tiempo que ofrece una aproximación a la expresión fenotípica de resistencia a antibióticos específicos. La Ilustración 7 muestra los recuentos de BAL y *Enterococcus* spp. en presencia y ausencia de diferentes antibióticos para los cuatro tipos de quesos artesanales. La Ilustración 7a corresponde a BAL frente a ampicilina, cloranfenicol, eritromicina, tetraciclina, gentamicina y estreptomicina; mientras que la Ilustración 7b muestra los resultados de *Enterococcus* spp. frente a los mismos antibióticos más ciprofloxacina. A partir de estos recuentos se calcularon los Índices de Viabilidad en presencia de Antibióticos (IVAs). Este índice representa la proporción de bacterias que son capaces de crecer en presencia a un antibiótico específico, en relación con la población total de bacterias (control). Cuanto menor sea el valor, menor supervivencia relativa en presencia de antibiótico y por tanto mayor sensibilidad presuntiva al antibiótico que se presentan en la Tabla 4. Cabe destacar que tanto la Ilustración 7 como la Tabla 4 muestran los resultados referentes a un lote por queso (este corresponde al mismo cuyo contenido microbiano fue secuenciado), sin embargo en los Anexos 11 y 12 se muestran los resultados para los tres lotes analizados por queso.

Tabla 4. Índice de viabilidad para cada medio y antibiótico (ATB), n=1 réplica de BAL y *Enterococcus*. Los valores en cursiva están por debajo del límite de cuantificación.

IVA de bacterias ácido lácticas								
Código/ATB μg/mL	Amp 8	Chlor 16	Eri 4	Tet 32	Strep 256	Gent 64	Promedio	SD
C025	1,55E-01	4,17E-04	7,07E-01	9,09E-02	9,09E-02	4,64E-01	2,51E-01	2,74E-01
C082	2,64E-02	6,86E-05	5,56E-01	8,44E-05	2,58E-01	3,60E-01	2,00E-01	2,31E-01
C033	1,02E-02	6,65E-03	4,57E-01	3,04E-02	5,91E-03	1,25E-01	1,06E-01	1,78E-01
C083	5,50E-02	3,98E-06	3,31E-01	6,31E-03	8,91E-03	3,47E-02	7,12E-02	1,29E-01

IVA de <i>Enterococcus</i> spp.									
Código/ ATB μg/mL	Amp 8	Chlor 64	Eri 16	Tet 16	Strep 512	Gent 128	Ciprof 16	Promedio	SD
C025	4,60E-04	1,00E-05	1,75E-01	4,00E-01	1,00E-06	1,00E-06	4,00E+00	6,54E-01	1,48E+00
C082	1,11E-04	1,11E-04	3,33E-02	4,44E-02	1,11E-04	1,11E-04	1,47E-01	3,21E-02	5,38E-02
C033	1,00E-03	1,00E-03	2,57E+00	1,00E-03	1,00E-03	1,00E-03	1,00E+00	5,11E-01	9,82E-01
C083	3,55E-02	2,51E-04	5,01E-01	2,95E-01	2,51E-04	2,51E-04	1,10E+00	2,76E-01	4,10E-01

Abreviaturas: Amp: ampicilina; Chlor: cloranfenicol; Eri: eritromicina; Tet: tetraciclina; Strep: estreptomicina; Gent: gentamicina; Ciprof: ciprofloxacina.

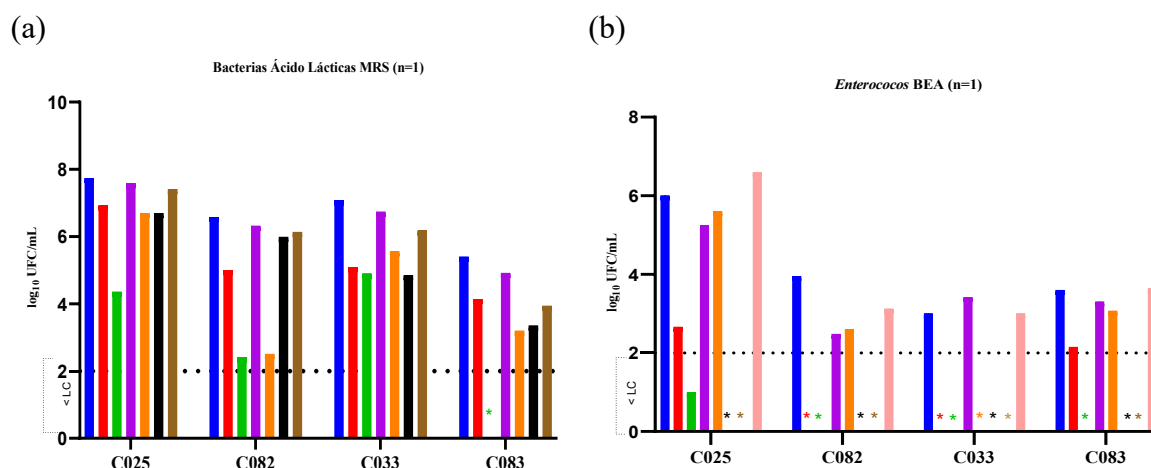


Ilustración 7. Recuentos totales en presencia de antibiótico a través de método dependiente de cultivo suplementado con antibióticos. Ilustración 7a. BAL n=1 replica (■ Control, ■ Amp 8 μg/mL, ■ Chlor 16 μg/mL, ■ Eri 4 μg/mL, ■ Tet 32 μg/mL, ■ Strep 256 μg/mL y ■ Gen 64 μg/mL). Ilustración 7b. *Enterococcus* n=1 réplica (■ Control, ■ Amp 8 μg/mL, ■ Chlor 64 μg/mL, ■ Eri 16 μg/mL, ■ Tet 16 μg/mL, ■ Strep 512 μg/mL, ■ Gen 128 μg/mL y ■ Ciprof 16 μg/mL). <LC= *inferior al límite de cuantificación.

En el presente estudio, los resultados evidenciaron una notable heterogeneidad entre los quesos analizados. El queso C025, elaborado con leche cruda de vaca, presentó los IVAs promedio más elevados tanto en BAL ($0,25 \pm 0,27$) como en *Enterococcus* spp. ($0,65 \pm 1,48$), destacando particularmente la resistencia frente a eritromicina en

BAL (IVA: 0,71) y un valor extremo frente a ciprofloxacina en *Enterococcus spp.* (IVA: 4,00). Por otro lado, el queso C082, elaborado con leche cruda de oveja, mostró una resistencia intermedia en BAL ($0,20 \pm 0,23$), con valores elevados frente a eritromicina (0,56) y gentamicina (0,36). En *Enterococcus spp.*, este queso mostró los IVAs más bajos del conjunto. Los IVAs referentes al queso C033, el único pasteurizado, fueron intermedios para ambos grupos microbianos, destacando la ausencia de crecimiento de *Enterococcus spp.* en presencia de tetraciclina pero con elevados IVAs en eritromicina (2,57) y ciprofloxacina (1,00). Por último, el queso C083 mostró los IVAs más bajos en BAL (promedio: 0,071), destacando la ausencia de crecimiento de BAL en presencia de cloranfenicol. En *Enterococcus spp.*, el queso C083 mostró valores intermedios, destacando una resistencia a ciprofloxacina (1,10).

Los elevados IVAs observados en C025, en especial frente a eritromicina y ciprofloxacina, sugieren la posible presencia de cepas altamente resistentes y una microbiota compleja, seleccionada durante el proceso de fermentación. Esta posible resistencia a ciprofloxacina es clínicamente relevante, ya que esta fluoroquinolona se emplea comúnmente en el tratamiento de infecciones por *Enterococcus* (Câmara et al., 2020; Haubert et al., 2018). Además, *Enterococcus spp.* actúan como reservorios de genes de resistencia que pueden transferirse a otros microorganismos, incluidos patógenos humanos (Paula et al., 2018). Este perfil refuerza la idea de una “firma microbiológica” singular en C025, resultado del entorno y las prácticas del productor.

En conjunto, los quesos C025 y C033 se distinguen claramente: el primero por sus altos niveles de resistencia en ambos grupos microbianos, y el segundo por su perfil singular en *Enterococcus*. C082 y C083, aunque del mismo productor, exhibieron perfiles de resistencia divergentes, lo que sugiere que el tipo de leche, las condiciones de elaboración o las diferencias entre lotes pueden influir significativamente en la microbiota y su respuesta antimicrobiana (Rossi et al., 2015; Campedelli et al., 2018).

Es importante tener en cuenta que la resistencia a antibióticos es una característica especie y cepa dependiente, ya que diferentes bacterias poseen repertorios intrínsecos de genes de resistencia y capacidades distintas para adquirirlos mediante transferencia horizontal, lo que genera perfiles fenotípicos diversos. Además, no es posible una comparación directa con muchos estudios previos, ya que la mayoría se basan en aislamientos individuales, mientras que este enfoque integra la microbiota en conjunto. Sin embargo, la resistencia a antibióticos como tetraciclina, eritromicina, o cloranfenicol

ya ha sido documentada en BAL aisladas de quesos (Mathur et al., 2005; Floris et al., 2025). La dinámica de los genes de resistencia en los quesos artesanales está fuertemente condicionada por el origen de la leche, la fermentación, la higiene en la producción y la posible presencia de residuos antibióticos, lo que refuerza la necesidad de estudios adicionales, incluyendo secuenciación metagenómica, para comprender en profundidad cómo estas variables moldean la microbiota y su perfil de resistencia.

4.2.2. Cuantificación metagenómica de ARGs a partir de datos de secuenciación

Los resultados completos referentes al análisis metagenómico pueden consultarse en el Anexo 13. Este análisis permitió detectar un total de 215 genes de resistencia a antibióticos (ARGs), lo que pone de manifiesto una considerable diversidad genética asociada a la resistencia antimicrobiana en productos lácteos fermentados. La abundancia relativa de ARGs agrupados por clase se muestra en la Ilustración 8. Entre las muestras, se observaron claras diferencias en la riqueza de genes: el queso C083 presentó la mayor diversidad de ARGs (185 genes diferentes, destacando la clase multirresistencia), seguido de C025 (112). Por el contrario, C033 y C082 mostraron una diversidad considerablemente menor, con 41 y 32 genes respectivamente. Los ARGs detectados abarcan múltiples clases de antibióticos clínicamente relevantes, incluidos β -lactámicos, aminoglucósidos, macrólidos-lincosamidas-estreptograminas (MLS), tetraciclinas, fenicoles, fluoroquinolonas y rifamicinas. La presencia destacada de genes de multirresistencia en C083 podría asociarse a la elevada concentración de BAL observada en este queso.

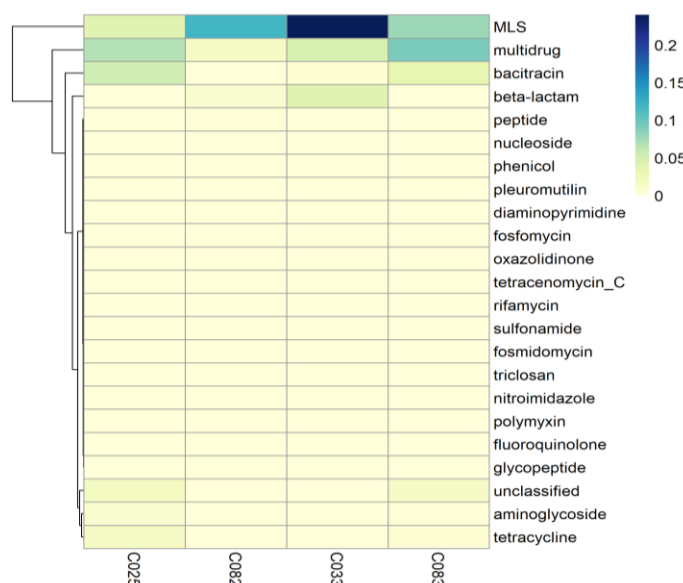


Ilustración 8. Heatmap de abundancia relativa de clases de genes de resistencia a antibióticos (ARGs) detectados en los quesos analizados (C025, C082, C033 y C083). Las clases se agrupan jerárquicamente

en función de su similitud. Los colores representan la abundancia relativa normalizada de ARGs por clase, donde los tonos más oscuros indican mayor abundancia.

Cabe destacar la alta abundancia normalizada de los genes *lmrC* y *lmrD* en todas las muestras, especialmente en C033 y C082. Estos genes codifican bombas de eflujo de amplio espectro que confieren un perfil de multirresistencia, expulsando diversos compuestos tóxicos fuera de la célula bacteriana, incluidos antibióticos como lincosamidas y tetraciclinas (Lubelski et al., 2006). Ambos genes son intrínsecos y se expresan de forma constitutiva en muchas bacterias ácido-lácticas, particularmente en *Lactococcus lactis* (Flórez et al., 2006), especie predominante en ambas muestras.

En el queso C025 se identificaron variantes como *tetM*, *tetS* y *tetT*, comúnmente implicadas en mecanismos de protección ribosomal (Haubert et al., 2018). Este queso también presentó abundancias notables de genes relacionados con aminoglucósidos, como *aadD*, *ant(9)-I* y *aph(3')-IIIa*, que codifican enzimas modificadoras responsables de la inactivación antibiótica (Ramírez & Tolmasky, 2010). Además, se detectó el gen *cat*, asociado con resistencia al cloranfenicol, así como determinantes de resistencia a macrólidos-lincosamidas-estreptograminas (MLS) como *lnuA* y *ermB* (Zhang et al., 2021). Aunque en algunos análisis se mencionó la posible presencia de genes β -lactamasa como *blaTEM* y *blaOXA*, estos podrían corresponder a trazas de ADN no funcional o a contaminación cruzada, dado que su abundancia relativa fue baja y no consistentemente reproducida. En conjunto, el queso C025 presentó el mayor número de ARGs y un perfil compatible con un ecosistema microbiano diverso y resistente.

En el caso del queso C082, elaborado con leche cruda de oveja, se observó un perfil mixto de resistencia con menor número total de genes, pero con alta abundancia relativa de *pbp1A*, *pbp2x*, *tetM*, *lmrC* y *lmrD*. Esta combinación sugiere una coexistencia de determinantes intrínsecos y adquiridos, particularmente frente a β -lactámicos y tetraciclinas. La presencia de estas variantes funcionales en un contexto no intervenido tecnológicamente refuerza el potencial de este queso como reservorio de resistencia funcional. La contribución de *Lactococcus lactis*, altamente representada en esta muestra, es relevante tanto por su capacidad para expresar bombas de eflujo como por su rol en la maduración y fermentación.

Respecto al queso C033, elaborado con leche pasteurizada de cabra, se registraron menores recuentos de ARGs en comparación con los demás, aunque se identificaron determinantes como *sulI*, *lnuA*, *lnuE*, *tetA* y *rpoB*. Al igual que en C082, se detectaron

los genes *pbp1A*, *pbp2x*, *lmrC* y *lmrD*. La detección de ARGs en esta muestra pasteurizada sugiere que la pasteurización no elimina totalmente el material genético bacteriano, lo que podría favorecer su transferencia a través de transformación natural (Thomas & Nielsen, 2005).

Finalmente, el queso C083, también de leche cruda de oveja, combinó una elevada diversidad microbiana con la mayor concentración de genes relacionados con multirresistencia clínica. Entre los más relevantes se identificaron *blaTEM*, *blaSHV*, *blaOXA*, *vanR*, *vanS*, *aac*, *SME*, *lmr* y *pbp2x*, además del gen *cat* y enzimas modificadoras de aminoglucósidos. Esta composición sugiere una acumulación de determinantes con alto potencial de transferencia horizontal, incluyendo resistencia a carbapenémicos, antibióticos considerados de última línea (Bush & Bradford, 2016). Desde una perspectiva clínica y regulatoria, el perfil de C083 sugiere un ecosistema donde coexisten bacterias comensales y determinantes de resistencia críticos, lo que podría facilitar la transmisión de ARGs a patógenos.

En conjunto, el análisis reveló un conjunto de 17 genes compartidos entre todas las muestras, incluyendo *pbp1A*, *penA*, *lmrC*, *lmrD*, *efmA*, *emrB-qacA* y *tetA(60)*. Su presencia constante sugiere la existencia de un núcleo de resistencia basal en la microbiota quesera. La diversidad genética detectada incluso en el queso de leche pasteurizada, junto con la viabilidad diferencial de las BAL, subraya la necesidad de reforzar los controles higiénico-sanitarios en todas las etapas de producción.

Estos hallazgos concuerdan con estudios previos que documentan ARGs en BAL aisladas de quesos, tales como *tetM*, *ermB*, *lnuA*, *aadA*, *aph(3')-IIIa* y *cat* (Mathur et al., 2005; Flórez et al., 2006; Zhang et al., 2021). Como dichos trabajos resaltan, los quesos artesanales pueden actuar como reservorios activos de resistencia antimicrobiana, con implicancias tanto para la salud pública como para la seguridad alimentaria. Aunque gran parte de la resistencia identificada es probablemente intrínseca, el riesgo aumenta cuando los determinantes son móviles, lo que refuerza la importancia de caracterizar los elementos genéticos asociados como plásmidos o integrones (Santamarina-García et al., 2024).

4.3. Comparación integrada de los perfiles microbianos y de resistencia

Con el fin de integrar y contrastar los resultados obtenidos mediante las diferentes metodologías aplicadas, la Tabla 5 resume los principales aspectos microbianos, genéticos y fenotípicos de los cuatro quesos analizados.

Los recuentos microbianos obtenidos por cultivo revelaron un marcado predominio de BAL en todas las muestras, lo cual concuerda con múltiples estudios previos sobre quesos artesanales (Ruvalcaba-Gómez et al., 2021; Parente-Ricciardi et al., 2020; Terzić-Vidojević et al., 2020). Estas bacterias desempeñan un papel esencial en la fermentación, el control microbiano y el perfil sensorial del producto final. Los valores más altos se observaron en los quesos C025 y C033, lo que refleja la influencia de variables tecnológicas como el tipo de leche, la adición o ausencia de cultivos iniciadores, las condiciones de fermentación y el tiempo de maduración. Esta diversidad contribuye a una “huella microbiológica” distintiva para cada queso, actuando como una identidad territorial microbiana. En contraste, otros grupos como *Enterococcus spp.*, *Enterobacterales*, mohos y levaduras presentaron recuentos más homogéneos entre las muestras. En particular, la baja presencia de *Enterobacterales* representa un indicador favorable en términos de seguridad alimentaria, especialmente en el queso C033, elaborado con leche pasteurizada, donde se esperaría una menor carga microbiana indeseable. La secuenciación metagenómica confirmó la dominancia general del orden *Lactobacillales*, proporcionando además una resolución taxonómica más profunda. Se identificaron especies como *Lentilactobacillus parabuchneri*, *Leuconostoc mesenteroides* y *Lactiplantibacillus plantarum*, comúnmente asociadas a fermentaciones espontáneas. En los quesos C082 y C033 predominó *Lactococcus lactis*, lo que sugiere el uso de cultivos iniciadores comerciales. Por otro lado, en C025 y C083 se detectó una mayor diversidad microbiana y una elevada abundancia de taxones clasificados como “Other”, lo que podría reflejar comunidades microbianas poco caracterizadas, propias de procesos sin intervenciones tecnológicas intensivas. Una diferencia importante entre ambas metodologías radica en la capacidad de la metagenómica para detectar microorganismos en estado VBNC o ADN residual. Por ejemplo, en el queso C033 se identificaron trazas de *Escherichia coli* mediante secuenciación, a pesar de su ausencia en cultivo, lo que podría indicar una contaminación previa a la pasteurización. Por otra parte, en estos quesos se detectaron pocas lecturas correspondientes a hongos, a pesar de su presencia en cultivo (aunque en niveles bajos). En conjunto, el análisis integrado de cultivo y secuenciación revela que los quesos C025 y C083 destacan por su elevada diversidad microbiana y baja intervención tecnológica, mientras que C033 y C082 presentan perfiles más homogéneos, quizá vinculados al uso de cultivos iniciadores y procesos estandarizados.

La integración de los perfiles fenotípicos y genotípicos también permitió una caracterización más completa del resistoma. Según la abundancia relativa de ARGs, los quesos C025 y C083 (en ese orden) presentaron las mayores concentraciones de genes que confieren resistencia frente a aminoglucósidos, fenicoles y tetraciclinas. En consonancia con estos hallazgos, también mostraron los valores más elevados de IVA en dichos antibióticos. En contraste, la baja abundancia de *Enterococcus* spp. en el queso elaborado con leche pasteurizada C033 se corresponde con un menor índice de viabilidad y menor resistencia fenotípica expresada. Estos resultados sugieren una posible correspondencia entre la presencia de genes de resistencia y la expresión fenotípica en la microbiota.

El análisis integrado del microbioma y el resistoma, junto con las características de cada queso, nos permite ofrecer una visión más completa de las variables que influyen sobre la calidad final de los quesos. Por ejemplo, la mayor abundancia de los genes *lmrC* y *lmrD* en los quesos C082 y C033 se justifica por la predominancia de *Lactococcus lactis* en estos productos, ya que dichos genes están asociados con mecanismos de resistencia intrínseca en esta especie (Flórez et al., 2006). El caso del queso C083 es particularmente llamativo, ya que combinó una elevada diversidad microbiana con una gran carga de genes relacionados con multirresistencia, incluyendo incluso genes asociados a resistencia a carbapenémicos, antibióticos considerados de última línea. Estos resultados ilustran el fenómeno de la resistencia adquirida en bacterias no patógenas, reforzando la necesidad de adoptar un enfoque preventivo a lo largo de toda la cadena alimentaria. La coexistencia de genes de resistencia en microorganismos comensales o tecnológicos puede actuar como puente entre ambientes inocuos y contextos clínicamente relevantes. En este sentido, esta tabla refuerza la importancia de abordar el estudio de la resistencia antimicrobiana en alimentos desde un enfoque integral, que considere tanto la carga genética como la expresión fenotípica, así como las variables de producción implicadas.

Tabla 5. Comparación integral entre los cuatro quesos (CO25, CO82, CO33, CO83) analizados según tipo de leche, principales géneros detectados, recuentos microbiológicos, número total de genes de resistencia antibióticos (ARGs), índices de viabilidad (IVA) y antibióticos con mayor nivel de resistencia fenotípica.

Queso	Tipo de leche	Principales géneros	BAL (log UFC/mL)	<i>Enterococcus</i> spp. (log UFC/mL)	ARGs detectados (n)	ARGs destacados	IVA promedio (BAL / <i>Enterococcus</i>)	Resistencias destacadas fenotípicas
C025	Vaca-cruda	<i>Lentilactobacillus</i>	7,74	6,00	112	<i>tetM</i> , <i>tetS</i> , y <i>tetT</i> , <i>aadD</i> , <i>ant(9)-I</i> y <i>aph(3')-IIIa</i> , <i>cat</i> , <i>lnuA</i> y <i>ermB</i>	0,25 / 0,65	Eritromicina, ciprofloxacina, tetraciclina
C082	Oveja-cruda	<i>Lactococcus</i>	6,58	3,95	32	<i>pbp1A</i> y <i>pbp2x</i> <i>tetM</i>	0,20 / 0,03	Tetraciclina, Eritromicina, Estreptomicina
C033	Cabra-pasteurizada	<i>Lactococcus</i>	7,08	3,00	41	<i>pbp1A</i> y <i>pbp2x</i> <i>lnuA</i> y <i>ermB</i>	0,11/ 0,51	Eritromicina, Tetraciclina, Estreptomicina, Cloranfenicol
C083	Oveja-cruda	<i>Lentilactobacillus</i> , <i>Lactococcus</i>	5,40	3,60	185	<i>bla_{TEM}</i> , <i>bla_{SHV}</i> , <i>bla_{OXA}</i> , <i>cat</i> , <i>ant(9)-I</i> , <i>tetM</i> , <i>tetS</i> , y <i>tetT</i>	0,07 / 0,28	Estreptomicina, Tetraciclina, Eritromicina, Ciprofloxacina

5. CONCLUSIONES

Este estudio ha permitido caracterizar de forma integral la microbiota presente en quesos artesanales curados mediante el uso combinado de técnicas fenotípicas (dependientes de cultivo) y herramientas metagenómicas. La aplicación de ambas aproximaciones metodológicas ha evidenciado que estos productos, especialmente aquellos elaborados con leche cruda, albergan comunidades microbianas complejas con gran diversidad taxonómica y funcional.

Los recuentos microbiológicos tradicionales confirmaron el predominio de bacterias ácido lácticas (BAL), grupo clave en los procesos fermentativos, con variaciones en su abundancia y en la de otros microorganismos según el tipo de leche y el tratamiento térmico aplicado. A nivel metagenómico, se observó una mayor riqueza y diversidad en los quesos elaborados con leche cruda, incluyendo la presencia de taxones poco caracterizados, propios de fermentaciones espontáneas.

Desde la perspectiva de seguridad alimentaria, los hallazgos más relevantes se relacionan con la presencia y distribución de genes de resistencia a antibióticos (ARGs). Se identificaron un total de 215 ARGs, con predominancia de genes asociados a β -lactámicos, tetraciclinas, aminoglucósidos y macrólidos. Estos genes fueron más abundantes en los quesos sin pasteurizar, lo que sugiere una posible relación entre el tipo de leche y la carga genética de resistencia. Además, el análisis de viabilidad en presencia de antibióticos reforzó esta tendencia, indicando una mayor resistencia fenotípica en BAL y *Enterococcus* aislados de quesos crudos.

Estos resultados ponen de manifiesto que los quesos artesanales pueden actuar como reservorios de resistencia antimicrobiana, tanto a nivel genético como funcional. Aunque la detección de estos genes no implica necesariamente un riesgo inmediato para la salud humana, sí representa una vía potencial para su diseminación en la cadena alimentaria, especialmente si se combinan con prácticas deficientes de higiene o conservación.

En este contexto, se recomienda reforzar los sistemas de control y vigilancia microbiológica en productos fermentados, así como promover prácticas ganaderas que minimicen el uso de antibióticos, especialmente en animales productores de leche destinada a quesos artesanales. La implementación de enfoques accesibles para la detección de resistencia, así como la inclusión del resistoma en los marcos regulatorios,

resultan estrategias clave desde una perspectiva “Una Salud”.

En conclusión, este trabajo no solo contribuye al conocimiento sobre la microbiota de quesos artesanales, sino que también plantea interrogantes relevantes para futuras investigaciones sobre el papel de los alimentos tradicionales en la diseminación de la resistencia antimicrobiana.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Aquilanti, L., Garofalo, C., Osimani, A., Silvestri, G., Vignaroli, C., & Clementi, F. (2007). Isolation and molecular characterization of antibiotic-resistant lactic acid bacteria from poultry and swine meat products. *Journal of Food Protection*, 70(3), 557–565. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.3.557>
- Aminov, R. I. (2010). A brief history of the antibiotic era: Lessons learned and challenges for the future. *Frontiers in Microbiology*, 1, 134. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2010.00134>
- Arango-Argoty, G., Garner, E., Pruden, A., Heath, L. S., Vikesland, P., & Zhang, L. (2018). DeepARG: A deep learning approach for predicting antibiotic resistance genes from metagenomic data. *Microbiome*, 6, 23. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0401-z>
- Bamforth, C. W. (2007). Alimentos, fermentación y microorganismos (1ª ed.). Acribia.
- Belletti, N., Gatti, M., Bottari, B., Neviani, E., Tabanelli, G., & Gardini, F. (2009). Antibiotic resistance of lactobacilli isolated from two Italian hard cheeses. *Journal of Food Protection*, 72(11), 2162–2169. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-72.10.2162>
- Beltrán, M. C., Althaus, R. L., & Molina, M. P. (2015). Analytical strategy for the detection of antibiotic residues in sheep and goat's milk. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 13(2), e0202. <https://doi.org/10.5424/sjar/2015132-6805>
- Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30(15), 2114–2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
- Bullard, J. H., Purdom, E., Hansen, K. D., & Dudoit, S. (2010). Evaluation of statistical methods for normalization and differential expression in RNA-Seq experiments. *BMC Bioinformatics*, 11(1), 94. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-94>
- Bush, K., & Bradford, P. A. (2016). β -Lactámicos e inhibidores de β -lactamasa: una descripción general. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(8), a025247. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025247>
- Campedelli, I., Mathur, H., Salvetti, E., Clarke, S., Rea, M. C., Torriani, S., Ross, R. P., Hill, C., & O'Toole, P. W. (2018). Genus-wide assessment of antibiotic resistance in *Lactobacillus* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(1), e01291-

17. <https://doi.org/10.1128/AEM.01738-18>
- Câmara, S. P. A., Dapkevicius, A., Silva, C. C. G., Malcata, F. X., & Dapkevicius, L. N. E. (2020). Artisanal Pico cheese as reservoir of *Enterococcus* species possessing virulence and antibiotic resistance properties: Implications for food safety. *Food Biotechnology*, 34(1), 25–41. <https://doi.org/10.1080/08905436.2019.1710844>
- Contreras, A., Sierra, D., Sánchez, A., Corrales, J. C., Gonzalo, C., Marco, J. C., ... & De la Fe, C. (2007). Mastitis in small ruminants. *Small Ruminant Research*, 68(1–2), 145–155. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.011>
- de Paula, A. C. L., Medeiros, J. D., de Azevedo, A. C., Chagas, J. M. A., da Silva, V. L., & Diniz, C. G. (2018). Antibiotic resistance genetic markers and integrons in white soft cheese: Aspects of clinical resistome and potentiality of horizontal gene transfer. *Genes (Basilea)*, 9(2), 106. <https://doi.org/10.3390/genes9020106>
- EFSA (European Food Safety Authority) & ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). (2017). The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2016. *EFSA Journal*, 15(2), 5182. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.5182>
- ELIKA Seguridad Alimentaria. (2023). Resistencias antimicrobianas. <https://seguridadalimentaria.elika.eus/fichas-de-peligros/resistencias-antimicrobianas/>
- FDA (Food and Drug Administration). (2005). *Withdrawal of Approval of New Animal Drug Applications for Enrofloxacin for Poultry*. *Federal Register*, 70(183), 55554–55559. <https://www.govinfo.gov/content/pkg/FR-2005-09-22/pdf/05-18942.pdf>
- Feranchuk, S., Belkova, N., Potapova, U., Kuzmin, D., & Belikov, S. (2018). Evaluating the use of diversity indices to distinguish between microbial communities with different traits. *Research in Microbiology*, 169(4), 254–261. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2018.03.004>
- Flórez, A. B., de Los Reyes-Gavilán, C. G., Wind, A., Mayo, B., & Margolles, A. (2006). Ubiquity and diversity of multidrug resistance genes in *Lactococcus lactis* strains isolated between 1936 and 1995. *FEMS Microbiology Letters*, 263(1), 21–

25. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00371.x>
- Floris, I., Battistini, R., Tramuta, C., Garcia-Vozmediano, A., Musolino, N., Scardino, G., & Bianchi, D. M. (2025). Antibiotic resistance in lactic acid bacteria from dairy products in Northern Italy. *Antibiotics*, 14(4), 375. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14040375>
- Fishman, J. (2006). The use of macrolide antibiotics in dairy cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 22(1), 187–200. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2005.11.006>
- Fusco, V., Chieffi, D., Fanelli, F., Logrieco, A. F., Cho, G., Kabisch, J., ... & Franz, C. M. A. P. (2020). Microbial quality and safety of milk and milk products in the 21st century. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(4), 2013. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12568>
- Giatrikou, V., Sarma, H., & Petridou, S. (2010). The use of antibiotics against bacterial infections on dairy sheep and goat farms: Patterns of usage and associations with health management and human resources. *Veterinaria Italiana*, 46(2), 173–181.
- Giraffa, G. (2004). Studying the dynamics of microbial populations during food fermentation. *FEMS Microbiology Reviews*, 28(2), 251–260. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2003.10.005>
- Gruet, P., Bethelin, M. T., & Mainar-Jaime, I. (2001). The epidemiology of mastitis in dairy cattle. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 20(3), 743–772. <https://doi.org/10.20506/rst.20.3.1302>
- Haubert, L., Cunha, C. E. P., Lopes, G. V., & Silva, W. P. (2018). Food isolate *Listeria monocytogenes* harboring tetM gene plasmid-mediated exchangeable to *Enterococcus faecalis* on the surface of processed cheese. *Food Research International*, 107, 503–508. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.062>
- Herreros, M., Sandoval, H., González, L., Castro, J., Fresno, J., & Tornadijo, M. (2005). Antimicrobial activity and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goats' milk cheese). *Food Microbiology*, 22, 455–459. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2004.11.007>
- Kaminski, J., Gibson, M. K., Franzosa, E. A., Segata, N., Dantas, G., & Huttenhower, C. (2015). High-specificity targeted functional profiling in microbial communities with ShortBRED. *PLOS Computational Biology*, 11(12), e1004557.

<https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1004557>

- Konopka, J. K., Chatterjee, P., LaMontagne, C., & Brown, J. (2022). Environmental impacts of mass drug administration programs: Exposures, risks, and mitigation of antimicrobial resistance. *Infectious Diseases of Poverty*, 11(1), 78. <https://doi.org/10.1186/s40249-022-01000-z>
- Leroy, F., & De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, 15(2), 67–78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.004>
- Li, H. (2012). seqtk Toolkit for processing sequences in FASTA/Q formats. <https://github.com/lh3/seqtk>
- Lu, J., Breitwieser, F. P., Thielen, P., & Salzberg, S. L. (2017). Bracken: Estimating species abundance in metagenomics data. *PeerJ Computer Science*, 3, e104. <https://doi.org/10.7717/peerj-cs.104>
- Lu, J., Rincon, N., Wood, D. E., Breitwieser, F. P., Pockrandt, C., Langmead, B., Salzberg, S. L., & Steinegger, M. (2022). Metagenome analysis using the Kraken software suite. *Nature Protocols*, 17, 2815–2839. <https://doi.org/10.1038/s41596-022-00702-5>
- Mathur, S., & Singh, R. (2005). Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 105(3), 281–295. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.03.008>
- Mayo, B., Rachid, C. T. C. C., Alegría, Á., Leite, A. M. O., Peixoto, R. S., & Delgado, S. (2014). Impact of next generation sequencing techniques in food microbiology. *Current Genomics*, 15(4), 293–309. <https://doi.org/10.2174/1389202915666140616233211>
- Mahros, M. A., Abd-Elghany, S. M., & Sallam, K. I. (2021). Multidrug-, methicillin-, and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from ready-to-eat meat sandwiches: An ongoing food and public health concern. *International Journal of Food Microbiology*, 346, 109165. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109165>
- Michaelis, C., & Grohmann, E. (2023). Horizontal gene transfer of antibiotic resistance genes in biofilms. *Antibiotics*, 12(2), 328. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020328>

- Morawska, M., Płoneczka-Janeczko, K., Ratajczak, M., & Kukułka, G. (2021). Antimicrobial resistance of *Staphylococcus* species isolated from goat milk. *Microorganisms*, 9(9), 1827. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9091827>
- Naghavi, M., et al. (2024). Carga mundial de resistencia bacteriana a los antimicrobianos 1990–2021: un análisis sistemático con previsiones hasta 2050. *The Lancet*, 404(10459), 1199–1226. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)01867-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)01867-1)
- Ondov, B. D., Bergman, N. H., & Phillippy, A. M. (2011). Interactive metagenomic visualization in a web browser. *BMC Bioinformatics*, 12, 385. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-385>
- Organización Mundial de la Salud. (2020). *Resistencia a los antibióticos*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>
- Osbiston, K., Oxbrough, A., & Fernández-Martínez, L. T. (2021). Antibiotic resistance levels in soils from urban and rural land uses in Great Britain. *Access Microbiology*, 3, 000181. <https://doi.org/10.1099/acmi.0.000181>
- Osimani, A., Milanović, V., Cardinali, F., Garofalo, C., Clementi, F., Ruschioni, S., Riolo, P., Isidoro, N., Loreto, N., & Galarini, R. (2018). Distribution of transferable antibiotic resistance genes in laboratory-reared edible mealworms (*Tenebrio molitor* L.). *Frontiers in Microbiology*, 9, 2702. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02702>
- Parente, E., Ricciardi, A., & Zotta, T. (2020). The microbiota of dairy milk: A review. *International Dairy Journal*, 107, 104714. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104714>
- Pienaar, J. A., Singh, A., & Barnard, T. G. (2016). The viable but non-culturable state in pathogenic *Escherichia coli*: A general review. *African Journal of Laboratory Medicine*, 5(1), a368. <https://doi.org/10.4102/ajlm.v5i1.368>
- Props, R., Kerckhof, F. M., Rubbens, P., De Vrieze, J., Sanabria, E. H., Waegeman, W., ... & Boon, N. (2017). Absolute quantification of microbial taxon abundances. *The ISME Journal*, 11(2), 584–587. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.117>
- Pol, M., & Ruegg, P. L. (2007). Relationship between somatic cell count and clinical mastitis in primiparous dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90(7), 3236–3243. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-806>

- Quigley, L., O'Sullivan, O., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., & Cotter, P. D. (2012). High-throughput sequencing for detection of subpopulations of bacteria not previously associated with artisanal cheeses. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(16), 5717–5723. <https://doi.org/10.1128/AEM.00918-12>
- Quigley, L., O'Sullivan, O., Stanton, C., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., & Cotter, P. D. (2013). The complex microbiota of raw milk. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5), 664–698. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12030>
- Quince, C., Walker, A. W., Simpson, J. T., Loman, N. J., & Segata, N. (2017). Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. *Nature Biotechnology*, 35(9), 833–844. <https://doi.org/10.1038/nbt.3935>
- Radostits, O. M., Gay, C. C., Hinchcliff, K. W., & Constable, P. D. (2007). *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats* (10th ed.). Saunders Elsevier.
- Ramírez, M. S., & Tolmasky, M. E. (2010). Enzimas modificadoras de aminoglucósidos. *Drug Resistance Updates*, 13(6), 151–171. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2010.08.003>
- Rossi, F., Di Renzo, T., Preziuso, M., Zotta, T., Iacumin, L., Coppola, R., & Reale, A. (2015). Survey of antibiotic resistance traits in strains of *Lactobacillus casei/paracasei/rhamnosus*. *Annals of Microbiology*, 65(3), 1763–1769. <https://doi.org/10.1007/s13213-014-1015-8>
- Ruiz-Capillas, C., & Herrero, A. M. (2019). Impact of biogenic amines on food quality and safety. *Foods*, 8(2), 62. <https://doi.org/10.3390/foods8020062>
- Ruppé, É., Woerther, P. L., & Barbier, F. (2015). Mechanisms of antimicrobial resistance in *Enterococcus* spp. *Microbial Pathogenesis*, 85, 78–85. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.07.009>
- Ruvalcaba-Gómez, J. M., Delgado-Macuil, R. J., Zelaya-Molina, L. X., Maya-Lucas, O., Ruesga-Gutiérrez, E., Anaya-Esparza, L. M., & Arteaga-Garibay, R. I. (2021). Bacterial succession through the artisanal process and seasonal effects defining bacterial communities of raw-milk Adobera cheese revealed by high throughput DNA sequencing. *Microorganisms*, 9(1), 24. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010024>

- Saini, V., McClure, J. T., Scholl, D. T., & Barkema, H. W. (2012). The resistance of *Escherichia coli* to tetracycline, streptomycin and ampicillin in dairy cows at the time of dry off. *Preventive Veterinary Medicine*, 106(2), 176–182. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.01.017>
- Sánchez, M., Contreras, A., & Luquero, R. (2019). Antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from ovine and caprine mastitis: A systematic review. *Veterinary Microbiology*, 232, 103–112. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.03.014>
- Santamarina-García, G., Amores, G., Llamazares, D., Hernández, I., Barron, L. J. R., & Virto, M. (2024). Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistances reveals the effect of the production chain in reducing resistant lactic acid bacteria in an artisanal raw ewe milk PDO cheese. *Food Research International*, 177, 114308. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114308>
- Terzić-Vidojević, A., Veljović, K., Tolinački, M., Živković, M., Lukić, J., Lozo, J., ... & Golić, N. (2020). Diversity of non-starter lactic acid bacteria in autochthonous dairy products from Western Balkan countries - technological and probiotic properties. *Food Research International*, 136, 109494. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109494>
- Thomas, C. M., & Nielsen, K. M. (2005). Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 3(9), 711–721. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1234>
- Van Boeckel, T. P., Pires, J., & Over, E. (2017). Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(20), E3921–E3930. <https://doi.org/10.1073/pnas.1700773114>
- Větrovský, T., & Baldrian, P. (2013). The variability of the 16S rRNA gene in bacterial genomes and its consequences for bacterial community analyses. *PLoS ONE*, 8(2), e57923. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057923>
- Vignaroli, C., Zandri, G., Aquilanti, L., Pasquaroli, S., & Biavasco, F. (2011). Multidrug-resistant enterococci in animal meat and faeces and co-transfer of resistance from an *Enterococcus durans* to a human *Enterococcus faecium*. *Current Microbiology*, 62, 1438–1447. <https://doi.org/10.1007/s00284-011-9880-x>

- Výrostková, J., Regecová, I., Dudriková, E., Marcinčák, S., Vargová, M., Kováčová, M., & Maľová, J. (2021). Antimicrobial resistance of *Enterococcus* sp. isolated from sheep and goat cheeses. *Foods*, 10(8), 1844. <https://doi.org/10.3390/foods10081844>
- Yin, X., Jiang, X. T., Chai, B., Li, L., Yang, Y., Cole, J. R., ... & Tiedje, J. M. (2018). ARGs-OAP v2.0 with an expanded SARG database and hidden Markov models for enhancement characterization and quantification of antibiotic resistance genes in environmental metagenomes. *Bioinformatics*, 34(13), 2263–2270. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty053>
- Zhang, A. N., Gaston, J. M., Dai, C. L., Zhao, S., Poyet, M., Groussin, M., ... & Zhang, T. (2021). An omics-based framework for assessing the health risk of antimicrobial resistance genes. *Nature Communications*, 12(1), 4765. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25096-3>
- Zhou, Y., Wang, Y., & Wang, Y. (2023). Unlocking the hidden microbiome of food: The role of metagenomics in analyzing fresh produce, poultry, and meat. *Applied Microbiology*, 5(1), 26. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol5010026>
- Zhou, Z., Ma, H., Zhang, X., & Tang, S. (2023). Limitations and advances of metagenomics in microbial ecology. *Microbiome Research Reports*, 2(1), 11. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2023.100011>

Bibliografía legal

- Unión Europea. (2004). *Reglamento (CE) n° 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal*. Diario Oficial de la Unión Europea, L 139, pp. 55–205. Recuperado de <https://www.boe.es/doue/2004/139/L00055-00205.pdf>
- Unión Europea. (2005). *Reglamento (CE) n° 2073/2005 de la Comisión, de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios*. Diario Oficial de la Unión Europea, L 338, pp. 1–26.
- España. (2006). *Real Decreto 1113/2006, de 29 de septiembre, por el que se aprueban las normas de calidad para quesos y quesos fundidos*. Boletín Oficial del Estado, núm. 238, de 5 de octubre de 2006. Recuperado de

<https://www.boe.es/eli/es/rd/2006/09/29/1113>.

España. (2007). *Real Decreto 1728/2007, de 21 de diciembre, por el que se establece la normativa básica de control que deben cumplir los operadores del sector lácteo y se modifica el Real Decreto 217/2004, de 6 de febrero*. Boletín Oficial del Estado, núm. 19, de 22 de enero de 2008. Recuperado de <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2008-823>.

Unión Europea. (2010). *Reglamento (UE) n° 37/2010 de la Comisión, de 22 de diciembre de 2009, relativo a las sustancias farmacológicamente activas y su clasificación por lo que se refiere a los límites máximos de residuos en los productos alimenticios de origen animal*. Diario Oficial de la Unión Europea, Recuperado de <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-2010-80044>

UNE. (2014). *UNE-EN ISO 4833-2:2014. Microbiología de los alimentos y piensos. Método horizontal para el recuento de microorganismos. Parte 2: Método para contar las bacterias aerobias mesófilas en alimentos*. Asociación Española de Normalización.

UNE. (2018). *UNE-EN ISO 21528-2:2018. Microbiología de los alimentos. Métodos horizontales para el recuento de Enterobacteriaceae. Parte 2: Método para contar Enterobacteriaceae en alimentos*. Asociación Española de Normalización.

España. (2020). *Real Decreto 1086/2020, de 9 de diciembre, por el que se regulan y flexibilizan determinadas condiciones de aplicación de las disposiciones de la Unión Europea en materia de higiene de la producción y comercialización de los productos alimenticios y se regulan actividades excluidas de su ámbito de aplicación*. Boletín Oficial del Estado. Recuperado de <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2020-15872>.

ANEXOS

Anexo 1. Criterios microbiológicos para quesos según el Reglamento (CE) N° 2073/2005

Microorganismo	Condiciones del queso	Límite	Observaciones
<i>Listeria monocytogenes</i>	Listos para el consumo que favorecen su crecimiento (blandos, semiblandos, de leche cruda poco madurados)	100 UFC/g	—
	Listos para el consumo que no favorecen su crecimiento	Ausencia en 25 g	Se admite hasta 100 UFC/g si se demuestra que no hay crecimiento durante la vida útil.
<i>Salmonella spp.</i>	Quesos, mantequillas y natas elaborados con leche cruda o tratada térmicamente por debajo de la pasteurización	Ausencia en 25 g	—
<i>Escherichia coli</i>	Quesos con leche cruda	1.000 UFC/g	—
	Quesos frescos (blandos no madurados) con leche pasteurizada o con tratamiento térmico más intenso	100 UFC/g	—
<i>Staphylococcus aureus</i>	Quesos con leche cruda	10 ⁴ UFC/g	—
	Quesos con leche tratada térmicamente de forma insuficiente, o madurados con leche/suero pasteurizados	1.000 UFC/g	—
	Quesos frescos con leche pasteurizada o tratamiento térmico más intenso	100 UFC/g	—
	Cualquier tipo de queso	>10 ⁵ UFC/g	Requiere análisis de enterotoxinas; si se detectan, el producto no es apto para el consumo.

Anexo 2. Recuentos microbiológicos generales (BAL, *Enterococcus*, *Enterobacterales*, mohos y levaduras). Basados en técnicas dependientes de cultivo.

	Log ₁₀ UFC/mL	BAL	<i>Enterococcus</i> spp.	<i>Enterobacterales</i>	Mohos	Levaduras
C025	R1	7,74	6,00	4,03	3,18	3,42
	R2	7,40	6,04	3,93	4,93	4,62
	R3	7,49	5,23	0,00	0,00	2,78
	Media	7,54	5,76	2,65	2,70	3,70
	SD	0,18	0,46	2,30	2,50	1,30
C082	R1	5,18	4,92	0,00	1,60	0,00
	R2	6,40	4,53	0,00	2,26	0,00
	R3	6,58	3,95	0,00	1,00	0,00
	Media	6,05	4,47	0,00	1,62	0,00
	SD	0,76	0,49	0,00	0,63	0,00
C033	R1	5,85	2,00	2,78	5,12	5,34
	R2	7,08	3,00	2,98	2,61	5,16
	R3	7,40	6,34	0,00	3,60	5,67
	Media	6,78	3,78	1,92	3,78	5,39
	SD	0,82	2,27	1,67	1,26	0,26
C083	R1	5,40	3,60	0,00	0,00	0,00
	R2	6,80	5,58	0,00	0,00	0,00
	R3	6,10	7,40	0,00	2,00	0,00
	Media	6,10	5,53	0,00	0,67	0,00
	SD	0,70	1,90	0,00	1,15	0,00

Anexo 3. Reporte Kraken2 para la muestra C025.

100	23655792	0	R	1	root
100	23655792	0	R1	131567	cellular organisms
99.91	23635638	43245	D	2	Bacteria
99.54	23546228	6148	D1	1783272	Terrabacteria group
98.55	23312880	2294	P	1239	Bacillota
98.46	23291444	25586	C	91061	Bacilli
98.25	23241185	198805	O	186826	Lactobacillales
90.4	21385953	2034960	F	33958	Lactobacillaceae
58.19	13766238	247079	G	2767893	Lentilactobacillus
52.74	12477219	12477219	S	33962	Lentilactobacillus kefir
2.51	594812	594812	S	152331	Lentilactobacillus parabuchneri
1.55	365686	231995	S	1581	Lentilactobacillus buchneri
0.41	95934	95934	S1	511437	Lentilactobacillus buchneri NRRL B-30929
0.16	37757	10730	S1	2737512	Lentilactobacillus buchneri subsp. silagei
0.11	27027	27027	S2	1071400	Lentilactobacillus buchneri subsp. silagei CD034
0.34	79341	79341	S	1588	Lentilactobacillus hilgardii
0.01	1820	1820	S	1138822	Lentilactobacillus curieae
12.89	3049920	145629	G	2759736	Lacticaseibacillus
11.89	2813246	2695955	S	1597	Lacticaseibacillus paracasei
0.24	55882	55882	S1	113557	Lacticaseibacillus paracasei subsp. tolerans
0.16	38891	37693	S1	47714	Lacticaseibacillus paracasei subsp. paracasei
0.01	1198	1198	S2	537973	Lacticaseibacillus paracasei subsp. paracasei 8700:2
0.05	11182	11182	S1	321967	Lacticaseibacillus paracasei ATCC 334
0.04	9798	9798	S1	1446494	Lacticaseibacillus paracasei N1115
0.01	1538	1538	S1	903522	Lacticaseibacillus paracasei TXW
0.33	78499	76649	S	47715	Lacticaseibacillus rhamnosus
0.01	1475	1475	S1	486408	Lacticaseibacillus rhamnosus HN001
0.02	5328	5326	S	1582	Lacticaseibacillus casei
0.01	2505	2505	S	88233	Lacticaseibacillus manihotivorans
0.01	2271	2166	S	57037	Lacticaseibacillus zeae
3.52	833472	86697	G	2767842	Lactiplantibacillus
2.86	676224	619563	S	1590	Lactiplantibacillus plantarum
0.23	54076	54024	S1	337330	Lactiplantibacillus plantarum subsp. plantarum
0.17	39711	39181	S	1589	Lactiplantibacillus pentosus
0.09	21496	21496	S	271881	Lactiplantibacillus argentoratensis
0.02	5619	5619	S	60520	Lactiplantibacillus paraplantarum
0.02	3725	3725	S	2993456	Lactiplantibacillus carotarum
2.97	702249	39300	G	1243	Leuconostoc
2.45	579795	550422	S	1245	Leuconostoc mesenteroides
0.1	22885	22763	S1	33967	Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides
0.03	5943	5943	S1	2026657	Leuconostoc mesenteroides subsp. joggajibkimchii
0.16	36968	36968	S	2766470	Leuconostoc falkenbergense
0.05	12732	12732	S	33968	Leuconostoc pseudomesenteroides
0.05	12524	11984	S	33964	Leuconostoc citreum
0.04	9723	9076	S	1252	Leuconostoc carnosum
0.01	3498	277	G1	3016637	Leuconostoc gelidum group
0.01	2975	1650	S	115778	Leuconostoc gasicomitatum
0.01	3117	3117	S	1246	Leuconostoc lactis
0.01	2994	1286	S	136609	Leuconostoc kimchii
0.01	1708	1708	S1	762051	Leuconostoc kimchii IMSNU 11154
1.03	243676	5721	G	2767886	Levilactobacillus
0.88	207917	196761	S	1580	Levilactobacillus brevis
0.03	6702	6702	S1	1334191	Levilactobacillus brevis BSO 464
0.01	3480	3480	S1	387344	Levilactobacillus brevis ATCC 367
0.09	22424	22424	S	1704076	Levilactobacillus cerevisiae
0.01	3534	3534	S	380393	Levilactobacillus namurensis

0.01	1507	1507	S	267363	Levilactobacillus zymae
0.01	1382	1382	S	1054041	Levilactobacillus yonginensis
1.01	238271	2020	G	2767889	Loigolactobacillus
0.91	215876	143435	S	1610	Loigolactobacillus coryniformis
0.15	36485	0	S1	115541	Loigolactobacillus coryniformis subsp. coryniformis
0.15	36485	36485	S2	913848	Loigolactobacillus coryniformis subsp. coryniformis
				KCTC 3167 = DSM 20001	
0.15	35956	0	S1	115542	Loigolactobacillus coryniformis subsp. torquens
0.15	35956	35956	S2	1423822	Loigolactobacillus coryniformis subsp. torquens DSM
				20004 = KCTC 3535	
0.08	19003	19003	S	375175	Loigolactobacillus backii
0.01	1372	1372	S	1607	Loigolactobacillus bifermentans
0.81	192329	6550	G	2767885	Latilactobacillus
0.69	162945	162057	S	28038	Latilactobacillus curvatus
0.09	22301	21536	S	1599	Latilactobacillus sakei
0.32	75942	1192	G	1253	Pediococcus
0.13	30210	30145	S	1255	Pediococcus pentosaceus
0.06	14779	14779	S	54062	Pediococcus parvulus
0.05	12952	12952	S	51663	Pediococcus damnosus
0.03	6701	0	G1	1670797	Pediococcus acidilactici group
0.03	6701	6701	S	1254	Pediococcus acidilactici
0.03	5956	5956	S	114090	Pediococcus inopinatus
0.01	2364	1947	S	187452	Pediococcus clausenii
0.29	69172	3995	G	1578	Lactobacillus
0.09	21529	16763	S	1587	Lactobacillus helveticus
0.02	4283	4283	S1	767462	Lactobacillus helveticus H10
0.07	16657	8223	S	1584	Lactobacillus delbrueckii
0.03	7264	7236	S1	29397	Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis
0.06	15024	15024	S	1600	Lactobacillus acetotolerans
0.02	3770	3745	S	2107999	Lactobacillus paragasseri
0.01	3074	251	G1	2620435	unclassified Lactobacillus
0.01	1765	1517	S	267818	Lactobacillus kefiranofaciens
0.23	54360	575	G	2742598	Limosilactobacillus
0.19	44290	42102	S	1613	Limosilactobacillus fermentum
0.01	1815	1815	S1	1381124	Limosilactobacillus fermentum 3872
0.03	6821	6807	S	1598	Limosilactobacillus reuteri
0.11	26036	9943	G	2767888	Liquorilactobacillus
0.03	8041	7898	S	468911	Liquorilactobacillus hordei
0.02	4353	4273	S	82688	Liquorilactobacillus nagelii
0.01	3324	3324	S	259059	Liquorilactobacillus satsumensis
0.09	22441	0	G	2767891	Schleiferilactobacillus
0.09	22441	22441	S	304207	Schleiferilactobacillus harbinensis
0.08	17957	84	G	2767887	Ligilactobacillus
0.06	14678	14561	S	1624	Ligilactobacillus salivarius
0.01	1336	1336	S	89059	Ligilactobacillus acidipiscis
0.06	14741	1	G	2767892	Secundilactobacillus
0.04	9099	9099	S	240427	Secundilactobacillus paracollinoides
0.02	5641	5641	S	176292	Secundilactobacillus malefermentans
0.06	13638	2532	G	2767879	Companilactobacillus
0.02	3760	3760	S	938155	Companilactobacillus futsaii
0.01	3139	0	S	1602	Companilactobacillus alimentarius
0.01	3139	3139	S1	1423720	Companilactobacillus alimentarius DSM 20249
0.01	1673	1673	S	392416	Companilactobacillus crustorum
0.05	11652	34	G	2767890	Paucilactobacillus
0.03	6367	6367	S	152335	Paucilactobacillus suebicus
0.02	4047	4047	S	1296540	Paucilactobacillus nenjiangensis
0.03	7081	906	G	46255	Weissella
0.01	1849	1849	S	1249	Weissella paramesenteroides

0.01	1667	1667	S	137591	Weissella cibaria
0.03	6932	154	G	2767881	Fructilactobacillus
0.02	3571	3571	S	53444	Fructilactobacillus lindneri
0.01	2337	796	S	1625	Fructilactobacillus sanfranciscensis
0.01	1541	1541	S1	714313	Fructilactobacillus sanfranciscensis TMW 1.1304
5.99	1418158	13364	F	1300	Streptococcaceae
5.76	1361498	321523	G	1357	Lactococcus
3.74	884975	724732	S	1358	Lactococcus lactis
0.68	160243	141316	S1	1360	Lactococcus lactis subsp. lactis
0.04	8360	8360	S2	44688	Lactococcus lactis subsp. lactis bv. diacetylactis
0.03	7464	7464	S2	684738	Lactococcus lactis subsp. lactis KF147
0.01	1721	1721	S2	1046624	Lactococcus lactis subsp. lactis IO-1
0.42	100155	85271	S	1359	Lactococcus cremoris
0.06	14884	23	S1	2816960	Lactococcus cremoris subsp. cremoris
0.03	7913	7913	S2	1449093	Lactococcus cremoris subsp. cremoris IBB477
0.02	5335	5335	S2	1104322	Lactococcus cremoris subsp. cremoris A76
0.15	34418	275	G1	2643510	unclassified Lactococcus
0.1	24721	24721	S	44273	Lactococcus sp.
0.03	7691	7691	S	2879149	Lactococcus sp. NH2-7C
0.04	9585	9565	S	1363	Lactococcus garvieae
0.02	5300	5300	S	1940789	Lactococcus petauri
0.01	2155	2155	S	1366	Lactococcus raffinolactis
0.01	1822	1155	S	1281486	Lactococcus formosensis
0.18	43264	7632	G	1301	Streptococcus
0.1	24202	23887	S	1308	Streptococcus thermophilus
0.02	4037	4036	S	28037	Streptococcus mitis
0.01	1452	1134	S	1348	Streptococcus parauberis
0.99	234863	1248	F	81852	Enterococcaceae
0.97	228835	18238	G	1350	Enterococcus
0.44	104720	104720	S	160453	Enterococcus gilvus
0.18	41689	41372	S	1351	Enterococcus faecalis
0.09	20876	20842	S	1352	Enterococcus faecium
0.07	16326	16326	S	71452	Enterococcus raffinosus
0.05	12480	12480	S	33945	Enterococcus avium
0.01	3102	3100	S	1354	Enterococcus hirae
0.01	2160	52	G1	2608891	unclassified Enterococcus
0.01	2004	1998	S	37734	Enterococcus casseliflavus
0.01	1448	1448	S	53345	Enterococcus durans
0.01	3391	166	G	2737	Vagococcus
0.01	2343	2343	S	2738	Vagococcus fluvialis
0.01	2225	12	F	186828	Carnobacteriaceae
0.1	24673	614	O	1385	Bacillales
0.05	10932	484	F	186817	Bacillaceae
0.02	4247	447	G	1386	Bacillus
0.01	2560	45	G1	86661	Bacillus cereus group
0.01	2113	0	G2	2750818	unclassified Bacillus cereus group
0.01	2110	2110	S	2217832	Bacillus sp. JAS24-2
0.01	3027	2908	G	84406	Virgibacillus
0.03	7025	406	F	90964	Staphylococcaceae
0.03	6066	1525	G	1279	Staphylococcus
0.02	3729	18	F	186822	Paenibacillaceae
0.01	3455	213	G	44249	Paenibacillus
0.01	2288	122	G1	185978	unclassified Paenibacillus
0.01	1712	1712	S	1536773	Paenibacillus sp. FSL R7-0331
0.01	1188	0	F	186820	Listeriaceae
0.08	18239	155	C	186801	Clostridia
0.05	12794	33	O	186802	Eubacteriales
0.05	11817	10	F	31979	Clostridiaceae

0.05	11762	108	G	1485	Clostridium
0.05	10828	10825	S	1491	Clostridium botulinum
0.01	3538	0	O	3085656	Monoglobales
0.01	3538	0	F	3085657	Monoglobaceae
0.01	3538	0	G	2039302	Monoglobus
0.01	3538	3538	S	1981510	Monoglobus pectinilyticus
0.95	225862	94	P	201174	Actinomycetota
0.95	225018	6611	C	1760	Actinomycetes
0.75	176685	649	O	85006	Micrococcales
0.68	161089	8	F	85019	Brevibacteriaceae
0.68	161076	61113	G	1696	Brevibacterium
0.31	73875	73875	S	273384	Brevibacterium aurantiacum
0.07	15685	123	G1	2614124	unclassified Brevibacterium
0.05	11442	11442	S	3140787	Brevibacterium sp. CBA3109
0.01	2992	2992	S	3020906	Brevibacterium sp. BDJS002
0.02	3914	3914	S	1703	Brevibacterium linens
0.01	2604	2604	S	629680	Brevibacterium sandarakinum
0.01	2198	2198	S	2898795	Brevibacterium zhoupengii
0.03	8197	22	F	85020	Dermabacteraceae
0.03	8131	673	G	43668	Brachybacterium
0.02	3669	532	G1	2623841	unclassified Brachybacterium
0.01	1446	1446	S	1903186	Brachybacterium sp. P6-10-X1
0.02	3908	166	F	85023	Microbacteriaceae
0.01	2447	388	G	33882	Microbacterium
0.01	1716	58	F	1268	Micrococcaceae
0.08	18388	63	O	85012	Streptosporangiales
0.08	17759	90	F	83676	Nocardiopsaceae
0.07	17173	2542	G	2013	Nocardiopsis
0.03	7047	7047	S	163604	Nocardiopsis exhalans
0.03	6334	0	S	53437	Nocardiopsis alba
0.03	6334	6334	S1	1205910	Nocardiopsis alba ATCC BAA-2165
0.04	9510	169	O	85007	Mycobacteriales
0.03	7273	0	F	1653	Corynebacteriaceae
0.03	7273	454	G	1716	Corynebacterium
0.01	1969	0	S	1727	Corynebacterium variabile
0.01	1969	1969	S1	858619	Corynebacterium variabile DSM 44702
0.01	1624	0	S	1404244	Corynebacterium glyciniphilum
0.01	1624	1624	S1	1404245	Corynebacterium glyciniphilum AJ 3170
0.01	1300	1300	S	28028	Corynebacterium flavescens
0.03	6126	0	O	85011	Kitasatosporales
0.03	6126	107	F	2062	Streptomycetaceae
0.02	5755	1154	G	1883	Streptomyces
0.01	2987	771	G1	2593676	unclassified Streptomyces
0.01	2702	0	O	85004	Bifidobacteriales
0.01	2702	13	F	31953	Bifidobacteriaceae
0.01	2614	417	G	1678	Bifidobacterium
0.01	1834	0	O	85010	Pseudonocardiales
0.01	1834	55	F	2070	Pseudonocardiaceae
0.01	1465	17	O	85009	Propionibacteriales
0.18	41805	500	P	1224	Pseudomonadota
0.16	37278	398	C	1236	Gammaproteobacteria
0.13	31119	351	O	91347	Enterobacterales
0.12	27812	801	F	1903412	Hafniaceae
0.11	26734	3780	G	568	Hafnia
0.09	21194	20313	S	569	Hafnia alvei
0.01	1732	1732	S	546367	Hafnia paralvei
0.01	2253	267	F	543	Enterobacteriaceae
0.01	1200	0	O	135623	Vibrionales

0.01	1200	2	F	641	Vibrionaceae
0.01	2702	110	C	28211	Alphaproteobacteria
0.01	1346	42	O	356	Hyphomicrobiales
0.01	1322	19	C	28216	Betaproteobacteria
0.01	2851	0	D1	1783270	FCB group
0.01	2840	1	D2	68336	Bacteroidota/Chlorobiota group
0.01	2788	552	P	976	Bacteroidota
0.01	1213	0	C	117743	Flavobacteriia
0.01	1213	14	O	200644	Flavobacteriales
0.08	18775	0	D	2759	Eukaryota
0.08	18775	0	D1	33154	Opisthokonta
0.08	18775	1	K	4751	Fungi
0.08	18523	26	K1	451864	Dikarya
0.08	18305	1	P	4890	Ascomycota
0.08	18294	13	P1	716545	saccharomyceta
0.05	11160	34	P2	147537	Saccharomycotina
0.03	6523	5	C	3239874	Pichiomycetes
0.03	6442	1	O	2916678	Serinales
0.03	6429	17	F	766764	Debaryomycetaceae
0.03	6162	0	G	4958	Debaryomyces
0.03	6162	0	S	4959	Debaryomyces hansenii
0.03	6162	6162	S1	284592	Debaryomyces hansenii CBS767
0.01	3516	0	C	3239873	Dipodascomycetes
0.01	3516	0	O	3243772	Dipodascales
0.01	3510	0	O1	3316682	Dipodascales incertae sedis
0.01	3510	0	G	4951	Yarrowia
0.01	3510	3510	S	4952	Yarrowia lipolytica
0.03	7121	0	P2	147538	Pezizomycotina
0.03	7121	25	P3	716546	leotiomyceta
0.03	6479	0	C	147545	Eurotiomycetes
0.03	6479	16	C1	451871	Eurotiomycetidae
0.03	6458	18	O	5042	Eurotiales
0.03	6386	51	F	1131492	Aspergillaceae
0.03	6019	58	G	5073	Penicillium
0.02	5872	5872	S	36651	Penicillium digitatum
0.01	1379	0	D	2157	Archaea
0.01	1337	1	P	28890	Euryarchaeota

Anexo 4. Reporte Kraken2 para la muestra C082.

100	18001423	0	R	1	root
100	18001423	0	R1	131567	cellular organisms
99.99	17999410	219379	D	2	Bacteria
98.74	17773870	2075	D1	1783272	Terrabacteria group
98.55	17740347	7297	P	1239	Bacillota
98.48	17726962	103520	C	91061	Bacilli
97.84	17613189	564514	O	186826	Lactobacillales
91.8	16525613	304971	F	1300	Streptococcaceae
80.08	14415065	4367477	G	1357	Lactococcus
50.18	9032606	7841345	S	1358	Lactococcus lactis
6.62	1191261	1061715	S1	1360	Lactococcus lactis subsp. lactis
					Lactococcus lactis subsp. lactis bv.
0.42	76200	76200	S2	44688	diacetylactis
0.14	25785	25785	S2	1046624	Lactococcus lactis subsp. lactis IO-1
0.06	11514	11514	S2	1117941	Lactococcus lactis subsp. lactis NCDO 2118
0.04	7377	7377	S2	272623	Lactococcus lactis subsp. lactis I11403
0.03	5915	5915	S2	684738	Lactococcus lactis subsp. lactis KF147
0.02	2751	2751	S2	929102	Lactococcus lactis subsp. lactis CV56
2.57	461882	422783	S	1359	Lactococcus cremoris
0.22	39099	385	S1	2816960	Lactococcus cremoris subsp. cremoris
0.08	14788	14788	S2	1104322	Lactococcus cremoris subsp. cremoris A76
					Lactococcus cremoris subsp. cremoris
0.07	13422	13422	S2	1449093	IBB477
0.02	3895	3895	S2	1295826	Lactococcus cremoris subsp. cremoris KW2
					Lactococcus cremoris subsp. cremoris
0.02	3304	3304	S2	1111678	UC509.9
0.01	2498	2498	S2	272622	Lactococcus cremoris subsp. cremoris SK11
2.49	448117	5723	G1	2643510	unclassified Lactococcus
1.98	357249	357249	S	44273	Lactococcus sp.
0.23	41791	41791	S	2879149	Lactococcus sp. NH2-7C
0.21	38456	38456	S	2816912	Lactococcus sp. LG606
0.02	3952	3952	S	2816909	Lactococcus sp. LG1074
0.3	53246	53246	S	1366	Lactococcus raffinolactis
0.14	24867	24522	S	1363	Lactococcus garvieae
0.07	12359	12359	S	1151742	Lactococcus taiwanensis
0.03	5100	1826	S	1281486	Lactococcus formosensis
0.02	3274	3274	S1	2906461	Lactococcus formosensis subsp. formosensis
0.03	4994	4994	S	1940789	Lactococcus petauri
0.01	2271	2271	S	2419773	Lactococcus allomyrinae
0.01	1255	1255	S	2592653	Lactococcus protaetiae
10.03	1805477	101629	G	1301	Streptococcus
9.31	1675725	1657088	S	1308	Streptococcus thermophilus
0.02	2906	2906	S1	1433288	Streptococcus thermophilus MTH17CL396
0.02	2831	2831	S1	1435974	Streptococcus thermophilus TH982
0.01	2610	2610	S1	1423145	Streptococcus thermophilus TH1436
0.01	2065	2065	S1	1433289	Streptococcus thermophilus M17PTZA496
0.01	1724	1724	S1	1435972	Streptococcus thermophilus TH985
0.01	1533	1533	S1	1435981	Streptococcus thermophilus 1F8CT
0.01	1311	1311	S1	1436725	Streptococcus thermophilus TH1477
0.01	968	968	S1	1408178	Streptococcus thermophilus ASCC 1275
0.04	6666	0	G1	119603	Streptococcus dysgalactiae group
0.04	6559	5532	S	1334	Streptococcus dysgalactiae
					Streptococcus dysgalactiae subsp.
0.01	937	937	S1	99822	dysgalactiae
0.02	4477	3234	S	1348	Streptococcus parauberis
0.01	1243	1243	S1	873447	Streptococcus parauberis NCFD 2020

0.01	2491	2392	S	1307		Streptococcus suis
0.01	2343	2285	S	1304		Streptococcus salivarius
0.01	1338	1338	S	1346		Streptococcus iniae
0.01	1207	1207	S	1501662		Streptococcus parasuis
0.01	1188	1126	S	1314		Streptococcus pyogenes
0.01	1181	181	G1	2608887		unclassified Streptococcus
0.01	962	962	S	361101		Streptococcus pseudoporcinus
2.68	482413	79546	F	33958		Lactobacillaceae
1.14	205182	21067	G	2759736		Lactacaseibacillus
0.98	176492	169953	S	1597		Lactacaseibacillus paracasei
0.02	3245	3245	S1	113557		Lactacaseibacillus paracasei subsp. tolerans
						Lactacaseibacillus paracasei subsp.
0.01	1990	1845	S1	47714	paracasei	
0.01	912	912	S1	321967		Lactacaseibacillus paracasei ATCC 334
0.04	7036	6967	S	47715		Lactacaseibacillus rhamnosus
0.42	76333	11957	G	1243		Leuconostoc
0.23	40998	36455	S	1245		Leuconostoc mesenteroides
						Leuconostoc mesenteroides subsp.
0.02	4318	4311	S1	33967	mesenteroides	
0.08	13682	13682	S	2766470		Leuconostoc falkenbergense
0.02	2819	2819	S	33968		Leuconostoc pseudomesenteroides
0.01	1886	1802	S	33964		Leuconostoc citreum
0.01	1525	367	S	136609		Leuconostoc kimchii
0.01	1158	1158	S1	762051		Leuconostoc kimchii IMSNU 11154
0.01	1452	1400	S	1252		Leuconostoc carnosum
0.24	43786	4359	G	2767842		Lactiplantibacillus
0.18	31801	31547	S	1590		Lactiplantibacillus plantarum
0.04	6315	6315	S	60520		Lactiplantibacillus paraplantarum
0.12	20769	24	G	2742598		Limosilactobacillus
0.11	20573	19264	S	1613		Limosilactobacillus fermentum
0.01	1265	1265	S1	1381124		Limosilactobacillus fermentum 3872
0.07	13150	9	G	2767889		Loigolactobacillus
0.05	9527	9527	S	375175		Loigolactobacillus backii
0.02	3593	1041	S	1610		Loigolactobacillus coryniformis
						Loigolactobacillus coryniformis subsp.
0.01	2413	0	S1	115542	torquens	
						Loigolactobacillus coryniformis subsp.
0.01	2413	2413	S2	1423822	torquens DSM 20004 = KCTC 3535	
0.07	11881	84	G	1578		Lactobacillus
0.06	10220	6921	S	1587		Lactobacillus helveticus
0.02	3210	3210	S1	405566		Lactobacillus helveticus DPC 4571
0.05	9591	2006	G	2767885		Latilactobacillus
0.04	6715	6691	S	28038		Latilactobacillus curvatus
0.04	6451	231	G	2767886		Levilactobacillus
0.03	6003	5781	S	1580		Levilactobacillus brevis
0.03	4584	117	G	2767887		Ligilactobacillus
0.02	4152	4152	S	89059		Ligilactobacillus acidipiscis
0.02	2763	83	G	1253		Pediococcus
0.01	1482	1467	S	1255		Pediococcus pentosaceus
0.02	2752	26	G	2767879		Companilactobacillus
0.01	2499	2499	S	938155		Companilactobacillus futsaii
0.01	1875	491	G	46255		Weissella
0.01	1403	56	G	2767893		Lentilactobacillus
0.01	1010	1010	S	152331		Lentilactobacillus parabuchneri
0.01	1076	0	G	2767891		Schleiferilactobacillus
0.01	1076	1076	S	304207		Schleiferilactobacillus harbinensis
0.22	39593	77	F	81852		Enterococcaceae
0.2	36845	3648	G	1350		Enterococcus

0.14	25431	25362	S	1352	Enterococcus faecium
0.01	2295	2127	S	1351	Enterococcus faecalis
0.01	1971	1971	S	1353	Enterococcus gallinarum
0.01	2442	43	G	2737	Vagococcus
0.01	1160	1160	S	2991418	Vagococcus intermedius
0.01	960	0	G1	2648499	unclassified Vagococcus
0.01	960	960	S	2925838	Vagococcus sp. CY52-2
0.06	10253	456	O	1385	Bacillales
0.03	5198	46	F	90964	Staphylococcaceae
0.03	4547	1127	G	1279	Staphylococcus
0.01	1339	1330	S	246432	Staphylococcus equorum
0.01	2502	217	F	186817	Bacillaceae
0.01	1597	100	G	1386	Bacillus
0.01	902	1	F	186820	Listeriaceae
0.03	5429	227	C	186801	Clostridia
0.03	4518	62	O	186802	Eubacteriales
0.02	3495	61	F	216572	Oscillospiraceae
0.02	2882	77	G	216851	Faecalibacterium
0.01	2277	1224	S	853	Faecalibacterium prausnitzii
0.01	1053	1053	S1	657322	Faecalibacterium prausnitzii SL3/3
0.16	29495	26	P	201174	Actinomycetota
0.16	29347	776	C	1760	Actinomycetes
0.14	25614	297	O	85006	Micrococcales
0.08	14491	1	F	85019	Brevibacteriaceae
0.08	14489	4964	G	1696	Brevibacterium
0.04	7355	7355	S	273384	Brevibacterium aurantiacum
0.05	9197	33	F	85020	Dermabacteraceae
0.05	9081	738	G	43668	Brachybacterium
0.03	5217	707	G1	2623841	unclassified Brachybacterium
0.01	2284	2284	S	1903186	Brachybacterium sp. P6-10-X1
0.01	1203	1203	S	2759167	Brachybacterium sp. Z12
0.01	1105	1105	S	1331682	Brachybacterium ginsengisoli
0.01	989	0	O	85011	Kitasatosporales
0.01	989	14	F	2062	Streptomycetaceae
0.01	920	193	G	1883	Streptomyces
0.02	3567	178	P	1224	Pseudomonadota
0.01	2155	209	C	1236	Gammaproteobacteria
0.01	1040	89	O	91347	Enterobacteriales
0.01	1101	0	D1	1783270	FCB group
0.01	1074	0	D2	68336	Bacteroidota/Chlorobiota group
0.01	1058	71	P	976	Bacteroidota
0.01	1607	0	D	2759	Eukaryota
0.01	1607	0	D1	33154	Opisthokonta
0.01	1607	0	K	4751	Fungi
0.01	1596	1	K1	451864	Dikarya
0.01	1574	0	P	4890	Ascomycota
0.01	1571	3	P1	716545	saccharomyceta
0.01	1110	0	P2	147538	Pezizomycotina
0.01	1110	5	P3	716546	leotiomyceta
0.01	1064	0	C	147545	Eurotiomycetes
0.01	1064	3	C1	451871	Eurotiomycetidae
0.01	1056	4	O	5042	Eurotiales
0.01	1038	21	F	1131492	Aspergillaceae
0.01	927	14	G	5073	Penicillium

Anexo 5. Reporte Kraken2 para la muestra C033.

100	25395995	0	R	1	root
100	25395995	0	R1	131567	cellular organisms
99.96	25384930	122121	D	2	Bacteria
99.44	25252693	1022	D1	1783272	Terrabacteria group
99.35	25230400	1417	P	1239	Bacillota
99.33	25226631	141988	C	91061	Bacilli
98.66	25055765	523062	O	186826	Lactobacillales
93.47	23737158	244370	F	1300	Streptococcaceae
75.32	19127359	4326929	G	1357	Lactococcus
51.31	13031047	11955676	S	1358	Lactococcus lactis
4.23	1075371	882190	S1	1360	Lactococcus lactis subsp. lactis
					Lactococcus lactis subsp. lactis bv.
0.35	88110	88110	S2	44688	diacetylactis
					Lactococcus lactis subsp. lactis IO-
0.21	52415	52415	S2	1046624	1
					Lactococcus lactis subsp. lactis
0.08	21538	21538	S2	1117941	NCDO 2118
					Lactococcus lactis subsp. lactis
0.07	16708	16708	S2	684738	KF147
					Lactococcus lactis subsp. lactis
0.04	9534	9534	S2	272623	IL1403
					Lactococcus lactis subsp. lactis
0.02	4862	4862	S2	929102	CV56
5.29	1343779	1086	G1	2643510	unclassified Lactococcus
4.48	1138177	1138177	S	44273	Lactococcus sp.
0.73	186406	186406	S	2879149	Lactococcus sp. NH2-7C
0.04	9029	9029	S	2816909	Lactococcus sp. LG1074
0.02	5845	5845	S	2816912	Lactococcus sp. LG606
0.01	1632	1632	S	3037457	Lactococcus sp. bn62
0.01	1604	1604	S	2816910	Lactococcus sp. LG1267
1.13	288181	250838	S	1359	Lactococcus cremoris
0.15	37343	20	S1	2816960	Lactococcus cremoris subsp. cremoris
					Lactococcus cremoris subsp. cremoris
0.05	13341	13341	S2	1449093	IBB477
					Lactococcus cremoris subsp. cremoris
0.04	9187	9187	S2	1111678	UC509.9
					Lactococcus cremoris subsp. cremoris
0.03	6466	6466	S2	1104322	A76
					Lactococcus cremoris subsp. cremoris
0.02	5971	5971	S2	1295826	KW2
					Lactococcus cremoris subsp. cremoris
0.01	2254	2254	S2	272622	SK11
0.16	39729	39442	S	1363	Lactococcus garvieae
0.12	29835	29835	S	1366	Lactococcus raffinolactis
0.09	23443	8227	S	1281486	Lactococcus formosensis
					Lactococcus formosensis subsp.
0.06	15216	15216	S1	2906461	formosensis
0.08	19892	19892	S	1940789	Lactococcus petauri
0.06	14474	14474	S	1151742	Lactococcus taiwanensis
0.03	7135	7135	S	2419773	Lactococcus allomyrinae
0.01	2233	2233	S	2592653	Lactococcus protaetiae
17.19	4365406	92968	G	1301	Streptococcus
16.74	4251363	4216980	S	1308	Streptococcus thermophilus
0.02	5233	5233	S1	1435972	Streptococcus thermophilus TH985
0.02	4276	4276	S1	1435974	Streptococcus thermophilus TH982
0.02	4235	4235	S1	1433288	Streptococcus thermophilus MTH17CL396

0.02	3830	3830	S1	1433289	Streptococcus thermophilus M17PTZA496
0.01	3611	3611	S1	1435981	Streptococcus thermophilus 1F8CT
0.01	2677	2677	S1	264199	Streptococcus thermophilus LMG 18311
0.01	2675	2675	S1	1051074	Streptococcus thermophilus JIM 8232
0.01	2416	2416	S1	1436725	Streptococcus thermophilus TH1477
0.01	1997	1997	S1	1423145	Streptococcus thermophilus TH1436
0.03	6492	0	G1	119603	Streptococcus dysgalactiae group
0.02	6278	5338	S	1334	Streptococcus dysgalactiae
0.01	2267	2153	S	1304	Streptococcus salivarius
0.01	2123	181	G1	2608887	unclassified Streptococcus
0.01	1587	1587	S	1501662	Streptococcus parasuis
0.01	1309	654	S	1348	Streptococcus parauberis
2.79	709535	16204	F	33958	Lactobacillaceae
2.2	557829	9131	G	2767885	Latilactobacillus
2.13	541220	534960	S	1599	Latilactobacillus sakei
0.02	6260	4895	S1	214326	Latilactobacillus sakei subsp. sakei
0.03	7445	7429	S	28038	Latilactobacillus curvatus
0.36	91905	5108	G	2759736	Lacticaseibacillus
0.34	85520	73397	S	1597	Lacticaseibacillus paracasei
					Lacticaseibacillus paracasei subsp.
0.04	10660	10660	S1	113557	tolerans
0.05	12713	534	G	2767842	Lactiplantibacillus
0.04	9190	9116	S	1590	Lactiplantibacillus plantarum
0.01	2793	2791	S	1589	Lactiplantibacillus pentosus
0.04	10897	46	G	1578	Lactobacillus
0.04	10287	5413	S	1587	Lactobacillus helveticus
0.02	4741	4741	S1	405566	Lactobacillus helveticus DPC 4571
0.02	4574	39	G	2767887	Ligilactobacillus
0.02	4349	4349	S	89059	Ligilactobacillus acidipiscis
0.02	4417	219	G	2767893	Lentilactobacillus
0.01	1734	1734	S	152331	Lentilactobacillus parabuchneri
0.01	3652	165	G	1243	Leuconostoc
0.01	1590	1584	S	33964	Leuconostoc citreum
0.01	3022	6	G	2742598	Limosilactobacillus
0.01	2894	1090	S	1613	Limosilactobacillus fermentum
0.01	1792	1792	S1	1381124	Limosilactobacillus fermentum 3872
0.01	1372	41	G	1253	Pediococcus
0.33	83826	495	F	81852	Enterococcaceae
0.32	81980	1055	G	1350	Enterococcus
0.25	62468	62425	S	1352	Enterococcus faecium
0.03	8362	8362	S	37734	Enterococcus casseliflavus
0.02	5777	5735	S	1351	Enterococcus faecalis
0.01	1793	1793	S	246144	Enterococcus italicus
0.01	2016	7	F	186828	Carnobacteriaceae
0.01	1735	29	G	2747	Carnobacterium
0.01	1354	1299	S	2751	Carnobacterium maltaromaticum
0.11	28878	273	O	1385	Bacillales
0.1	24324	455	F	90964	Staphylococcaceae
0.09	23550	4732	G	1279	Staphylococcus
0.02	5149	5146	S	1290	Staphylococcus hominis
0.01	3704	3403	S	246432	Staphylococcus equorum
0.01	2654	2252	S	1280	Staphylococcus aureus
0.01	1921	1921	S	1288	Staphylococcus xylosus
0.01	1461	1461	S	1282	Staphylococcus epidermidis
0.01	2540	704	F	186817	Bacillaceae
0.01	2091	108	C	186801	Clostridia
0.01	1354	24	O	186802	Eubacteriales
0.08	20092	33	P	201174	Actinomycetota

0.08	19894	656	C	1760	Actinomycetes
0.04	10841	136	O	85006	Micrococcales
0.02	6266	119	F	85023	Microbacteriaceae
0.02	5549	510	G	33882	Microbacterium
0.01	1721	260	G1	2609290	unclassified Microbacterium
0.01	1470	1470	S	82380	Microbacterium oxydans
0.01	1989	3	F	85020	Dermabacteraceae
0.01	1974	168	G	43668	Brachybacterium
0.01	1539	0	F	85019	Brevibacteriaceae
0.01	1537	431	G	1696	Brevibacterium
0.02	4427	37	O	85007	Mycobacteriales
0.01	2726	92	F	1762	Mycobacteriaceae
0.01	2289	154	G	1866885	Mycolicibacterium
0.01	2022	5	O	85009	Propionibacteriales
0.01	1659	36	F	31957	Propionibacteriaceae
0.03	6773	179	P	1224	Pseudomonadota
0.02	4442	172	C	1236	Gammaproteobacteria
0.01	1752	0	O	72274	Pseudomonadales
0.01	1744	5	F	135621	Pseudomonadaceae
0.01	1709	204	G	286	Pseudomonas
0.01	1497	40	C	28211	Alphaproteobacteria
0.01	1594	0	D1	1783270	FCB group
0.01	1575	0	D2	68336	Bacteroidota/Chlorobiota group
0.01	1570	82	P	976	Bacteroidota
0.04	10936	0	D	2759	Eukaryota
0.04	10936	0	D1	33154	Opisthokonta
0.04	10936	4	K	4751	Fungi
0.04	10892	75	K1	451864	Dikarya
0.04	10619	5	P	4890	Ascomycota
0.04	10592	44	P1	716545	saccharomyceta
0.02	6324	36	P2	147537	Saccharomycotina
0.02	4954	2	C	3239874	Pichiomyces
0.02	4916	0	O	2916678	Seriales
0.02	4886	38	F	766764	Debaryomycetaceae
0.02	4483	0	G	4958	Debaryomyces
0.02	4483	0	S	4959	Debaryomyces hansenii
0.02	4483	4483	S1	284592	Debaryomyces hansenii CBS767
0.02	4224	0	P2	147538	Pezizomycotina
0.02	4224	64	P3	716546	leotiomyceta
0.02	3996	0	C	147545	Eurotiomycetes
0.02	3996	16	C1	451871	Eurotiomycetidae
0.02	3958	29	O	5042	Eurotiales
0.02	3907	83	F	1131492	Aspergillaceae
0.01	3658	117	G	5073	Penicillium
0.01	3517	3517	S	36651	Penicillium digitatum

Anexo 6. Reporte Kraken2 para la muestra C083.

100	18855823	0	R	1	root
100	18855823	0	R1	131567	cellular organisms
99.91	18838165	123157	D	2	Bacteria
95.73	18050210	14076	D1	1783272	Terrabacteria group
84.27	15890295	5521	P	1239	Bacillota
84.12	15862214	32914	C	91061	Bacilli
83.71	15783685	228469	O	186826	Lactobacillales
58.44	11020173	1036226	F	33958	Lactobacillaceae
36.58	6898191	163747	G	2767893	Lentilactobacillus
28.79	5428588	5428588	S	152331	Lentilactobacillus parabuchneri
3.65	688552	622694	S	1581	Lentilactobacillus buchneri
					Lentilactobacillus buchneri subsp.
0.23	42929	17543	S1	2737512	silagei
					Lentilactobacillus buchneri subsp.
0.13	25386	25386	S2	1071400	silagei CD034
					Lentilactobacillus buchneri NRRL B-
0.12	22929	22929	S1	511437	30929
2.89	545726	545726	S	33962	Lentilactobacillus kefir
0.33	62464	62464	S	1588	Lentilactobacillus hilgardii
0.04	7965	7965	S	1138822	Lentilactobacillus curieae
0.01	1149	1149	S	2883998	Lentilactobacillus laojiaonis
11.27	2124351	86115	G	2759736	Lacticaseibacillus
10.64	2007112	1912511	S	1597	Lacticaseibacillus paracasei
					Lacticaseibacillus paracasei subsp.
0.32	60148	60148	S1	113557	tolerans
					Lacticaseibacillus paracasei subsp.
0.12	22411	20349	S1	47714	paracasei
					Lacticaseibacillus paracasei subsp.
0.01	2062	2062	S2	537973	paracasei 8700:2
0.04	7859	7859	S1	321967	Lacticaseibacillus paracasei ATCC 334
0.02	4098	4098	S1	1446494	Lacticaseibacillus paracasei N1115
0.1	18820	18465	S	47715	Lacticaseibacillus rhamnosus
0.02	2842	2842	S	2100821	Lacticaseibacillus chiayiensis
0.01	2633	2633	S	3025672	Lacticaseibacillus pabuli
0.01	2467	2467	S	88233	Lacticaseibacillus manihotivorans
0.01	2293	2293	S	1582	Lacticaseibacillus casei
0.01	1059	915	S	57037	Lacticaseibacillus zeae
1.49	280766	16808	G	2767842	Lactiplantibacillus
1.19	225304	215250	S	1590	Lactiplantibacillus plantarum
					Lactiplantibacillus plantarum subsp.
0.02	3294	3245	S1	337330	plantarum
					Lactiplantibacillus plantarum
0.02	2986	2986	S1	1304889	CMPG5300
0.01	2806	2806	S1	1327988	Lactiplantibacillus plantarum 16
0.14	25997	25141	S	1589	Lactiplantibacillus pentosus
0.03	6243	6243	S	60520	Lactiplantibacillus paraplantarum
0.02	4519	4519	S	2993456	Lactiplantibacillus carotarum
0.01	1895	1895	S	271881	Lactiplantibacillus argentoratensis
0.79	149557	3982	G	2767886	Levilactobacillus
0.67	126382	121547	S	1580	Levilactobacillus brevis
0.01	2618	2618	S1	1334191	Levilactobacillus brevis BSO 464
0.01	1213	1213	S1	387344	Levilactobacillus brevis ATCC 367
0.01	1004	1004	S1	1001583	Levilactobacillus brevis KB290
0.03	5442	5442	S	1704076	Levilactobacillus cerevisiae
0.02	4426	4426	S	1054041	Levilactobacillus yonginensis
0.02	3145	3145	S	637971	Levilactobacillus koreensis

0.01	2458	2458	S	2292255		Levilactobacillus suantsaii
0.01	2237	2237	S	380393		Levilactobacillus namurensis
0.01	1485	1485	S	267363		Levilactobacillus zymae
0.5	93727	8514	G	1253		Pediococcus
0.19	36361	36361	S	114090		Pediococcus inopinatus
0.09	16981	16927	S	1255		Pediococcus pentosaceus
0.05	9053	9053	S	51663		Pediococcus damnosus
0.05	8996	8996	S	54062		Pediococcus parvulus
0.04	7042	0	G1	1670797		Pediococcus acidilactici group
0.04	7042	7042	S	1254		Pediococcus acidilactici
0.02	3120	3120	S	319653		Pediococcus ethanolidurans
0.01	2370	2370	S	480391		Pediococcus argentinicus
0.01	1269	838	S	187452		Pediococcus clausenii
0.46	86729	0	G	2767891		Schleiferilactobacillus
0.46	86729	86729	S	304207		Schleiferilactobacillus harbinensis
0.43	81078	7490	G	1578		Lactobacillus
0.19	35622	34134	S	267818		Lactobacillus kefiranofaciens
						Lactobacillus kefiranofaciens subsp.
0.01	1459	1459	S1	190906	kefirgranum	
0.08	15570	12403	S	1587		Lactobacillus helveticus
						Lactobacillus helveticus DSM 20075 =
0.01	1995	1995	S1	585520	CGMCC 1.1877	
0.03	6044	715	G1	2620435		unclassified Lactobacillus
0.01	1777	1777	S	2099788		Lactobacillus sp. CBA3605
0.01	1090	1090	S	2695882		Lactobacillus sp. 3B(2020)
0.02	4101	4101	S	1600		Lactobacillus acetotolerans
0.02	3260	2356	S	1584		Lactobacillus delbrueckii
0.01	1999	988	S	1596		Lactobacillus gasseri
0.01	1011	1011	S1	1380360		Lactobacillus gasseri DSM 14869
0.01	1135	1063	S	1604		Lactobacillus amylovorus
0.01	1017	920	S	2107999		Lactobacillus paragasseri
0.23	44049	6	G	2767892		Secundilactobacillus
0.21	40059	40059	S	240427		Secundilactobacillus paracollinoides
0.02	3984	3984	S	176292		Secundilactobacillus malefermentans
0.23	43473	6427	G	1243		Leuconostoc
0.16	30985	27879	S	1245		Leuconostoc mesenteroides
						Leuconostoc mesenteroides subsp.
0.02	2905	2904	S1	33967	mesenteroides	
0.01	1493	1330	S	33964		Leuconostoc citreum
0.01	1195	1195	S	2766470		Leuconostoc falkenbergense
0.01	1101	334	G1	3016637		Leuconostoc gelidum group
0.22	41752	767	G	2742598		Limosilactobacillus
0.14	27295	23448	S	1613		Limosilactobacillus fermentum
0.02	3384	3384	S1	1381124		Limosilactobacillus fermentum 3872
0.04	7467	7227	S	1598		Limosilactobacillus reuteri
0.01	1448	1446	S	97478		Limosilactobacillus mucosae
0.01	1046	1046	S	2742601		Limosilactobacillus portuensis
0.01	953	953	S	1632		Limosilactobacillus oris
0.15	28419	1713	G	2767885		Latilactobacillus
0.08	15554	15520	S	28038		Latilactobacillus curvatus
0.05	10247	9851	S	1599		Latilactobacillus sakei
0.11	21579	109	G	2767889		Loigolactobacillus
0.09	16153	10091	S	1610		Loigolactobacillus coryniformis
						Loigolactobacillus coryniformis
0.02	4514	0	S1	115542	subsp. torquens	
						Loigolactobacillus coryniformis
0.02	4514	4514	S2	1423822	subsp. torquens DSM 20004 = KCTC 3535	
0.01	1548	0	S1	115541		Loigolactobacillus coryniformis

					subsp. coryniformis	
					Loigolactobacillus coryniformis	
0.01	1548	1548	S2	913848	subsp. coryniformis KCTC 3167 = DSM 20001	
0.02	3885	3885	S	375175	Loigolactobacillus backii	
0.01	1431	1431	S	1607	Loigolactobacillus bifermentans	
0.1	18846	125	G	2767890	Paucilactobacillus	
0.04	8259	0	S	1193095	Paucilactobacillus hokkaidonensis	
					Paucilactobacillus hokkaidonensis JCM	
0.04	8259	8259	S1	1291742	18461	
0.04	7030	7030	S	1296540	Paucilactobacillus nenjiangensis	
0.01	2621	2621	S	152335	Paucilactobacillus suebicus	
0.08	15534	1262	G	2767879	Companilactobacillus	
0.01	2688	2688	S	392416	Companilactobacillus crustorum	
0.01	1845	1845	S	2304606	Companilactobacillus zhachilii	
0.01	1786	0	S	1602	Companilactobacillus alimentarius	
					Companilactobacillus alimentarius DSM	
0.01	1786	1786	S1	1423720	20249	
0.01	1590	1590	S	1007676	Companilactobacillus ginsenosidimutans	
0.01	1360	1360	S	1074467	Companilactobacillus heilongjiangensis	
0.01	1175	1175	S	2714036	Companilactobacillus pabuli	
0.01	1117	1117	S	938155	Companilactobacillus futsaii	
0.07	12975	3048	G	2767888	Liquorilactobacillus	
0.03	5743	5689	S	82688	Liquorilactobacillus nagelii	
0.01	2279	2279	S	259059	Liquorilactobacillus satsumensis	
0.01	1071	815	S	468911	Liquorilactobacillus hordei	
0.06	10814	428	G	2767887	Ligilactobacillus	
0.02	4439	4341	S	1624	Ligilactobacillus salivarius	
0.01	1981	1981	S	89059	Ligilactobacillus acidipiscis	
0.06	10529	477	G	2767881	Fructilactobacillus	
0.02	3205	3205	S	53444	Fructilactobacillus lindneri	
0.01	2630	1802	S	1625	Fructilactobacillus sanfranciscensis	
0.01	1162	1162	S	1614	Fructilactobacillus fructivorans	
0.01	1006	1006	S	2940299	Fructilactobacillus cliffordii	
0.03	6214	1302	G	46255	Weissella	
0.01	1197	1197	S	1249	Weissella paramesenteroides	
0.01	1033	1033	S	1583	Weissella confusa	
0.03	4981	175	G	2767877	Apilactobacillus	
0.01	1801	1801	S	148814	Apilactobacillus kunkeei	
0.01	1176	1176	S	2419772	Apilactobacillus bombintestini	
0.01	982	982	S	1218495	Apilactobacillus apinorum	
0.01	1908	0	G	2978367	Nicoliella	
0.01	1908	1908	S	2925830	Nicoliella spurrieriana	
0.01	1498	4	G	46254	Oenococcus	
0.01	1497	13	G	2767878	Bombilactobacillus	
0.01	1290	0	G	2767882	Furfurilactobacillus	
0.01	1290	1290	S	231049	Furfurilactobacillus rossiae	
0.01	1103	0	G	2767884	Lapidilactobacillus	
0.01	1103	1103	S	51664	Lapidilactobacillus dextrinicus	
0.01	1030	9	G	3118928	Xylocopilactobacillus	
23.62	4452831	63619	F	1300	Streptococcaceae	
21.99	4146891	835725	G	1357	Lactococcus	
8.75	1649109	1595950	S	1359	Lactococcus cremoris	
0.28	53159	569	S1	2816960	Lactococcus cremoris subsp. cremoris	
					Lactococcus cremoris subsp.	
0.16	30244	30244	S2	1104322	cremoris A76	
					Lactococcus cremoris subsp.	
0.06	11325	11325	S2	1295826	cremoris KW2	
0.03	5476	5476	S2	1449093	Lactococcus cremoris subsp.	

					cremoris IBB477	
						Lactococcus cremoris subsp.
0.02	3858	3858	S2	1111678	cremoris UC509.9	
						Lactococcus cremoris subsp.
0.01	1457	1457	S2	272622	cremoris SK11	
7.76	1463804	1317639	S	1358		Lactococcus lactis
0.78	146165	113481	S1	1360		Lactococcus lactis subsp. lactis
						Lactococcus lactis subsp. lactis
0.1	19157	19157	S2	44688	bv. diacetylactis	
						Lactococcus lactis subsp. lactis
0.04	7812	7812	S2	1046624	IO-1	
						Lactococcus lactis subsp. lactis
0.02	2865	2865	S2	684738	KF147	
						Lactococcus lactis subsp. lactis
0.01	1566	1566	S2	1117941	NCDO 2118	
0.59	111778	781	G1	2643510		unclassified Lactococcus
0.53	100515	100515	S	44273		Lactococcus sp.
0.03	6497	6497	S	2879149		Lactococcus sp. NH2-7C
0.01	2347	2347	S	2816912		Lactococcus sp. LG606
0.34	63181	63181	S	1366		Lactococcus raffinolactis
0.04	8331	8163	S	1363		Lactococcus garvieae
0.02	3926	3926	S	1940789		Lactococcus petauri
0.02	3872	0	S	1364		Lactococcus piscium
0.02	3872	3872	S1	297352		Lactococcus piscium MKFS47
0.02	2916	1785	S	1281486		Lactococcus formosensis
						Lactococcus formosensis subsp.
0.01	1131	1131	S1	2906461	formosensis	
0.01	2724	2724	S	1151742		Lactococcus taiwanensis
1.28	242271	10632	G	1301		Streptococcus
1.06	199746	191333	S	1348		Streptococcus parauberis
0.04	8413	8413	S1	873447		Streptococcus parauberis NCFD 2020
0.06	10932	10718	S	1308		Streptococcus thermophilus
0.03	5718	0	G1	119603		Streptococcus dysgalactiae group
0.03	5593	3506	S	1334		Streptococcus dysgalactiae
						Streptococcus dysgalactiae subsp.
0.01	1908	1908	S1	99822	dysgalactiae	
0.01	1586	1564	S	1311		Streptococcus agalactiae
0.01	1585	173	G1	2608887		unclassified Streptococcus
0.01	1176	1176	S	1501662		Streptococcus parasuis
0.01	1018	1018	S	1346		Streptococcus iniae
0.4	75782	250	F	81852		Enterococcaceae
0.37	69067	11754	G	1350		Enterococcus
0.14	25642	25439	S	1351		Enterococcus faecalis
0.06	11112	11062	S	1352		Enterococcus faecium
0.05	9208	9208	S	53345		Enterococcus durans
0.02	2897	31	G1	2608891		unclassified Enterococcus
0.01	1512	1512	S	2230877		Enterococcus sp. DIV2402
0.01	2255	2255	S	160453		Enterococcus gilvus
0.01	1375	1375	S	1354		Enterococcus hirae
0.03	5323	368	G	2737		Vagococcus
0.02	3087	3087	S	81947		Vagococcus lutrae
0.03	4886	20	F	186828		Carnobacteriaceae
0.01	1686	8	G	2747		Carnobacterium
0.01	1053	1053	S	2748		Carnobacterium divergens
0.01	1544	3	F	186827		Aerococcaceae
0.24	45615	1785	O	1385		Bacillales
0.08	15544	76	F	90964		Staphylococcaceae
0.08	14350	3315	G	1279		Staphylococcus

0.04	6821	6794	S	246432	Staphylococcus equorum
0.08	15020	1273	F	186817	Bacillaceae
0.02	4237	958	G	1386	Bacillus
0.01	1117	11	G1	185979	unclassified Bacillus (in: firmicutes)
0.01	1494	10	G	2675232	Neobacillus
0.03	6479	40	F	186822	Paenibacillaceae
0.03	5361	961	G	44249	Paenibacillus
0.01	2247	611	G1	185978	unclassified Paenibacillus
0.01	2427	24	F	186818	Planococcaceae
0.01	1078	149	G	1372	Planococcus
0.01	2425	4	F	186820	Listeriaceae
0.01	2369	437	G	1637	Listeria
0.09	17734	332	C	186801	Clostridia
0.06	11792	110	O	186802	Eubacteriales
0.04	8439	13	F	31979	Clostridiaceae
0.04	8322	283	G	1485	Clostridium
0.02	3648	3638	S	1491	Clostridium botulinum
0.01	2532	2532	S	84032	Clostridium thermosuccinogenes
0.01	1374	27	F	216572	Oscillospiraceae
0.01	2446	0	O	3082720	Peptostreptococcales
0.01	2240	90	F	186804	Peptostreptococcaceae
0.01	1392	89	G	1501226	Romboutsia
0.01	2203	3	O	3085636	Lachnospirales
0.01	1939	235	F	186803	Lachnospiraceae
0.02	3055	0	C	526524	Erysipelotrichia
0.02	3055	4	O	526525	Erysipelotrichales
0.01	1676	0	F	2810281	Turicibacteraceae
0.01	1676	734	G	191303	Turicibacter
0.01	1027	0	F	2810280	Coprobacillaceae
0.01	1048	318	C	909932	Negativicutes
11.35	2139939	2293	P	201174	Actinomycetota
11.3	2131464	83807	C	1760	Actinomycetes
8.59	1620100	29898	O	85006	Micrococcales
7.98	1505155	51756	F	85023	Microbacteriaceae
7.02	1323897	224845	G	33882	Microbacterium
3.13	590165	74022	G1	2609290	unclassified Microbacterium
0.37	69008	69008	S	2014534	Microbacterium sp. PM5
0.21	40346	40346	S	1714373	Microbacterium sp. No. 7
0.14	25873	25873	S	2861281	Microbacterium sp. PAMC22086
0.1	19389	19389	S	3142976	Microbacterium sp. AZCO
0.1	18511	18511	S	2567934	Microbacterium sp. 4R-513
0.09	17819	17819	S	912630	Microbacterium sp. LKL04
0.09	16785	16785	S	3049073	Microbacterium sp. zg-Y1090
0.09	16493	16493	S	3135257	Microbacterium sp. LWH7-1.2
0.08	15769	15769	S	2483401	Microbacterium sp. 10M-3C3
0.08	14783	14783	S	2875948	Microbacterium sp. cx-55
0.08	14744	14744	S	3049072	Microbacterium sp. zg-Y818
0.07	13940	13940	S	3049069	Microbacterium sp. zg-B96
0.07	13220	13220	S	3049071	Microbacterium sp. zg-Y625
0.07	12747	12747	S	3153754	Microbacterium sp. ProA8
0.06	12113	12113	S	3157631	Microbacterium sp. MM2322
0.06	11681	11681	S	1906742	Microbacterium sp. BH-3-3-3
0.06	11527	11527	S	3135264	Microbacterium sp. LWS13-1.2
0.06	11178	11178	S	3140649	Microbacterium sp. che218
0.05	9766	9766	S	2654193	Microbacterium sp. JZ37
0.05	8796	8796	S	3025663	Microbacterium sp. Clip185
0.04	8292	8292	S	2734618	Microbacterium sp. NIBRBAC000506063
0.04	8108	8108	S	3049070	Microbacterium sp. zg-B185

0.04	8082	8082	S	1906274	Microbacterium sp. JZ31
0.04	7626	7626	S	3019890	Microbacterium sp. nov. GSS16
0.04	7079	7079	S	2981139	Microbacterium sp. AB
0.04	7068	7068	S	3050384	Microbacterium sp. ET2
0.04	6870	6870	S	2763257	Microbacterium sp. YJN-G
0.04	6776	6776	S	2995140	Microbacterium sp. SL75
0.04	6738	6738	S	2268461	Microbacterium sp. ABRD28
0.04	6614	6614	S	2909588	Microbacterium sp. KUDC0406
0.03	6330	6330	S	2925844	Microbacterium sp. H1-D42
0.03	6170	6170	S	367477	Microbacterium sp. XT11
0.03	6137	6137	S	3135263	Microbacterium sp. LW014-1.2
0.03	5891	5891	S	3135255	Microbacterium sp. LWH10-1.2
0.03	5712	5712	S	2048898	Microbacterium sp. Y-01
0.03	5295	5295	S	2962064	Microbacterium sp. M28
0.02	4535	4535	S	3135262	Microbacterium sp. LW013-1.2
0.02	4513	4513	S	3135258	Microbacterium sp. LWH11-1.2
0.02	4419	4419	S	3135260	Microbacterium sp. LWH13-1.2
0.02	3796	3796	S	2489212	Microbacterium sp. RG1
0.02	3450	3450	S	2606451	Microbacterium sp. 1S1
0.01	1691	1691	S	2992441	Microbacterium sp. J1-1
0.01	1185	1185	S	3149040	Microbacterium sp. SY138
0.01	1142	1142	S	3035531	Microbacterium sp. BDGP8
0.01	978	978	S	1795053	Microbacterium sp. PAMC 28756
0.01	969	969	S	2070348	Microbacterium sp. SGAir0570
0.67	126553	126553	S	36805	Microbacterium aurum
0.17	31724	31724	S	162426	Microbacterium hominis
0.13	24953	24953	S	273677	Microbacterium oleivorans
0.12	22663	13723	S	2033	Microbacterium testaceum
0.05	8940	8940	S1	979556	Microbacterium testaceum StLB037
0.09	17691	17691	S	344163	Microbacterium terricola
0.09	16225	16225	S	2782168	Microbacterium atlanticum
0.07	13218	13218	S	3079935	Microbacterium limosum
0.07	13066	13066	S	84292	Microbacterium chocolatum
0.07	12597	12597	S	3028316	Microbacterium horticulturae
0.06	12156	12156	S	82380	Microbacterium oxydans
0.06	11957	11957	S	1072463	Microbacterium lemovicicum
0.06	11440	11440	S	2782169	Microbacterium cremeum
0.06	10606	10606	S	1572644	Microbacterium proteolyticum
0.05	10078	10078	S	33883	Microbacterium arborescens
0.05	9878	9878	S	2509458	Microbacterium protaetiae
0.05	9470	9470	S	1678237	Microbacterium rhizosphaerae
0.05	9326	9326	S	3242192	Microbacterium terrisoli
0.05	9216	9216	S	370764	Microbacterium pygmaeum
0.05	8805	8805	S	57043	Microbacterium esteraromaticum
0.05	8754	8754	S	2909587	Microbacterium elymi
0.05	8605	8605	S	2614638	Microbacterium caowuchunii
0.05	8505	8505	S	2782167	Microbacterium luteum
0.04	8182	8182	S	69362	Microbacterium schleiferi
0.04	7311	7311	S	104336	Microbacterium foliorum
0.04	7238	7238	S	904291	Microbacterium sediminis
0.04	7059	7059	S	515415	Microbacterium invictum
0.04	6820	6820	S	2614639	Microbacterium lushaniae
0.03	6060	6060	S	582680	Microbacterium azadirachtae
0.03	5809	5809	S	683047	Microbacterium suwonense
0.03	5514	5514	S	2541726	Microbacterium wangchenii
0.03	5374	5374	S	2851646	Microbacterium galbinum
0.03	5256	5256	S	2782166	Microbacterium abyssi
0.03	5208	5208	S	2851649	Microbacterium sufflavum

0.03	4817	4817	S	156977	Microbacterium resistens
0.02	4658	4658	S	743009	Microbacterium oryzae
0.02	4627	4627	S	273678	Microbacterium hydrocarbonoxydans
0.02	3029	3029	S	1526412	Microbacterium endophyticum
0.02	2847	2847	S	462710	Microbacterium binotii
0.01	2480	2480	S	936337	Microbacterium amylolyticum
0.01	2421	2421	S	199592	Microbacterium paraoxydans
0.01	2329	2329	S	33918	Microbacterium liquefaciens
0.01	1560	1560	S	300019	Microbacterium paludicola
0.01	1505	1505	S	1816425	Microbacterium plantarum
0.17	32764	2527	G	33877	Agromyces
0.03	5537	80	G1	2639701	unclassified Agromyces
0.01	2157	2157	S	2498704	Agromyces sp. LHK192
0.01	1818	1818	S	2932244	Agromyces sp. H17E-10
0.01	1482	1482	S	3156399	Agromyces sp. G08B096
0.02	4139	4139	S	2585717	Agromyces laixinhei
0.02	3774	3774	S	2781962	Agromyces archimandritae
0.02	3626	3626	S	2509455	Agromyces protaetiae
0.01	2645	2645	S	453304	Agromyces aureus
0.01	1970	1970	S	659012	Agromyces soli
0.01	1802	1802	S	2929802	Agromyces larvae
0.01	1657	1657	S	1389020	Agromyces marinus
0.01	1417	1417	S	2080742	Agromyces badenianii
0.01	1279	1279	S	589382	Agromyces flavus
0.01	1249	1249	S	2592652	Agromyces intestinalis
0.01	1142	1142	S	1858653	Agromyces mangrovi
0.07	12687	1367	G	2034	Curtobacterium
0.06	10985	3195	G1	257496	unclassified Curtobacterium
0.05	9992	467	G	55968	Leucobacter
0.01	1840	1	G1	2621730	unclassified Leucobacter
0.01	1097	1097	S	2813744	Leucobacter sp. CX169
0.01	1508	1508	S	1784719	Leucobacter triazinivorans
0.01	1346	1346	S	2932247	Leucobacter allii
0.01	970	970	S	2873270	Leucobacter tenebrionis
0.04	7461	870	G	46352	Agrococcus
0.02	3205	23	G1	2615065	unclassified Agrococcus
0.01	1454	1454	S	399736	Agrococcus jejuensis
0.01	1391	1391	S	3068634	Agrococcus beijingensis
0.04	7430	1569	G	33886	Rathayibacter
0.02	3108	716	G1	2609250	unclassified Rathayibacter
0.04	6915	812	G	337004	Microcella
0.01	1273	1273	S	279828	Microcella alkaliphila
0.01	1203	1203	S	2750620	Microcella indica
0.01	1090	0	G1	2630066	unclassified Microcella
0.01	994	994	S	2994971	Microcella daejeonensis
0.01	971	971	S	2963406	Microcella humidisoli
0.03	5664	47	G	110932	Leifsonia
0.02	4276	830	G1	2663824	unclassified Leifsonia
0.03	4821	799	G	69578	Cryobacterium
0.02	2850	195	G1	2649013	unclassified Cryobacterium
0.02	4686	56	G	2680004	Protaetiibacter
0.01	1866	0	G1	2680006	unclassified Protaetiibacter
0.01	1866	1866	S	2759943	Protaetiibacter sp. SSC-01
0.01	1474	1474	S	2419774	Protaetiibacter intestinalis
0.01	1290	1290	S	2592654	Protaetiibacter larvae
0.02	3709	0	G	881616	Herbiconiux
0.02	3709	346	G1	2618217	unclassified Herbiconiux
0.01	1202	1202	S	2735133	Herbiconiux sp. SALV-R1

0.01	1173	1173	S	2905871	Herbiconiux sp. L3-i23
0.01	988	988	S	3152363	Herbiconiux sp. A18JL235
0.02	3662	1018	G	1573	Clavibacter
0.02	3512	8	G	235888	Salinibacterium
0.02	3206	10	G1	2632331	unclassified Salinibacterium
0.01	1442	1442	S	2708084	Salinibacterium sp. ZJ70
0.02	3081	2	G	256818	Gulosibacter
0.01	2369	2369	S	256821	Gulosibacter molinativorax
0.01	2701	2	G	447237	Fron dih abitans
0.01	1930	3	G1	2626248	unclassified Fron dih abitans
0.01	1279	1279	S	1795630	Fron dih abitans sp. PAMC 28766
0.01	1913	3	G	76634	Mycetocola
0.01	1132	1132	S	2079792	Mycetocola zhujimingii
0.01	1870	658	G	190323	Plantibacter
0.01	1633	0	G	255204	Pseudoclavibacter
0.01	1633	0	G1	2615177	unclassified Pseudoclavibacter
0.01	1633	1633	S	2866588	Pseudoclavibacter sp. Marseille-Q3772
0.01	1578	0	G	518733	Microterricola
0.01	1578	1578	S	412690	Microterricola viridarii
0.01	1421	0	G	1195526	Gryllotalpicola
0.01	1421	1421	S	2419771	Gryllotalpicola protaetiae
0.01	1367	0	G	120212	Subtercola
0.01	1265	0	G	1759331	Cnuibacter
0.01	1265	1265	S	1619308	Cnuibacter physcomitrellae
0.01	1253	0	G	427753	Humibacter
0.01	1253	1253	S	2599293	Humibacter ginsenosidimutans
0.01	1230	0	G	96492	Frigoribacterium
0.01	1230	5	G1	2627005	unclassified Frigoribacterium
0.01	1050	7	G	3110364	Paramicrobacterium
0.18	34618	2294	F	1268	Micrococcaceae
0.05	9824	708	G	1663	Arthrobacter
0.03	6176	561	G1	235627	unclassified Arthrobacter
0.03	5146	394	G	57493	Kocuria
0.01	1739	1739	S	1272	Kocuria varians
0.01	1361	1361	S	72000	Kocuria rhizophila
0.02	3651	244	G	1742992	Paenarthrobacter
0.02	3228	5	G1	2634190	unclassified Paenarthrobacter
0.01	2718	2718	S	2735317	Paenarthrobacter sp. YJN-D
0.02	3562	531	G	1269	Micrococcus
0.01	1420	1420	S	1270	Micrococcus luteus
0.02	2952	36	G	32207	Rothia
0.01	2520	2520	S	37923	Rothia kristinae
0.01	1813	248	G	1742993	Pseudarthrobacter
0.01	984	97	G1	2647000	unclassified Pseudarthrobacter
0.01	1344	278	G	1742989	Glutamicibacter
0.01	1245	0	G	1742990	Paeniglutamicibacter
0.01	1245	0	G1	2639426	unclassified Paeniglutamicibacter
0.01	1191	1191	S	2986919	Paeniglutamicibacter sp. ZC-3
0.06	11221	37	F	85016	Cellulomonadaceae
0.05	9542	814	G	1707	Cellulomonas
0.02	3948	275	G1	2620175	unclassified Cellulomonas
0.01	1043	1030	S	1708	Cellulomonas fimi
0.04	8353	8	F	85019	Brevibacteriaceae
0.04	8197	1994	G	1696	Brevibacterium
0.01	1801	11	G1	2614124	unclassified Brevibacterium
0.01	1671	1671	S	33889	Brevibacterium casei
0.01	1145	1145	S	273384	Brevibacterium aurantiacum
0.03	6306	128	F	85017	Promicromonosporaceae

0.01	2547	1211	G	157920	Cellulosimicrobium
0.01	1672	49	G	186188	Xylanimonas
0.01	1482	23	G	254250	Isoptericola
0.03	4888	0	F	145358	Bogoriellaceae
0.03	4888	17	G	154116	Georgenia
0.02	3989	10	G1	2626815	unclassified Georgenia
0.02	3604	3604	S	2917725	Georgenia sp. TF02-10
0.03	4840	31	F	85020	Dermabacteraceae
0.02	4076	427	G	43668	Brachybacterium
0.01	1738	361	G1	2623841	unclassified Brachybacterium
0.02	4268	31	F	85021	Intrasporangiaceae
0.01	2090	220	G	53457	Janibacter
0.02	3301	12	F	2805590	Ornithinimicrobiaceae
0.01	1821	33	G	265976	Serinicoccus
0.01	1228	1228	S	1078471	Serinicoccus profundus
0.01	1468	13	G	125287	Ornithinimicrobium
0.01	1367	0	F	125316	Beutenbergiaceae
0.01	1130	0	F	145357	Dermacoccaceae
0.01	1018	0	F	2805426	Kytococcaceae
0.01	1018	0	G	57499	Kytococcus
0.01	1018	1018	S	1276	Kytococcus sedentarius
0.01	977	0	F	145360	Sanguibacteraceae
0.01	977	16	G	60919	Sanguibacter
0.96	180887	0	O	85004	Bifidobacteriales
0.96	180887	1051	F	31953	Bifidobacteriaceae
0.94	177780	29325	G	1678	Bifidobacterium
0.34	64830	19215	G1	2608897	unclassified Bifidobacterium
0.09	17125	17125	S	3059038	Bifidobacterium sp. WK041_4_12
0.03	6443	6443	S	3059037	Bifidobacterium sp. WK048_4_13
0.03	5345	5345	S	2983233	Bifidobacterium sp. ESL0790
0.02	2944	2944	S	2983230	Bifidobacterium sp. ESL0775
0.01	2245	2245	S	2983212	Bifidobacterium sp. ESL0682
0.01	2179	2179	S	2983214	Bifidobacterium sp. ESL0690
0.01	2153	2153	S	2983220	Bifidobacterium sp. ESL0728
0.01	2114	2114	S	2983229	Bifidobacterium sp. ESL0769
0.01	1882	1882	S	2983222	Bifidobacterium sp. ESL0732
0.09	17394	17394	S	77635	Bifidobacterium subtile
0.03	6523	5475	S	1694	Bifidobacterium pseudolongum
0.03	5784	5784	S	1684	Bifidobacterium asteroides
0.03	5618	0	S	158787	Bifidobacterium scardovii
					Bifidobacterium scardovii JCM 12489 =
0.03	5618	5618	S1	1150461	DSM 13734
0.03	4840	4840	S	1689	Bifidobacterium dentium
0.02	4477	0	S	78448	Bifidobacterium pullorum
					Bifidobacterium pullorum subsp.
0.02	4477	4477	S1	78344	gallinarum
0.02	4127	4127	S	33905	Bifidobacterium thermophilum
0.02	4080	2728	S	216816	Bifidobacterium longum
					Bifidobacterium longum subsp.
0.01	1110	1108	S1	1682	infantis
0.02	3821	3379	S	1683	Bifidobacterium angulatum
0.02	3749	3749	S	35760	Bifidobacterium choerinum
0.02	3489	3440	S	1685	Bifidobacterium breve
0.02	2850	2850	S	1765219	Bifidobacterium eulemuris
0.02	2829	2829	S	1603886	Bifidobacterium lemorum
0.01	2418	2051	S	1687	Bifidobacterium coryneforme
0.01	2123	0	S	638619	Bifidobacterium actinocoloniiforme
0.01	2123	2123	S1	1437605	Bifidobacterium actinocoloniiforme

DSM 22766					
0.01	1972	1928	S	28026	Bifidobacterium pseudocatenulatum
0.01	1918	886	S	1686	Bifidobacterium catenulatum
0.01	1451	1214	S	28025	Bifidobacterium animalis
0.01	1390	1390	S	1680	Bifidobacterium adolescentis
0.01	960	960	S	762210	Bifidobacterium saguini
0.47	89183	0	O	85011	Kitasatosporales
0.47	89183	1131	F	2062	Streptomycetaceae
0.44	83499	17423	G	1883	Streptomyces
0.22	41692	9943	G1	2593676	unclassified Streptomyces
0.01	1497	1	G1	2838335	Streptomyces aurantiacus group
0.01	943	142	G1	629295	Streptomyces griseus group
0.02	3056	88	G	2063	Kitasatospora
0.01	2279	147	G1	2633591	unclassified Kitasatospora
0.31	58923	2251	O	85007	Mycobacteriales
0.1	19470	1067	F	1762	Mycobacteriaceae
0.05	8896	1027	G	1866885	Mycolicibacterium
0.01	1005	52	G1	2636767	unclassified Mycolicibacterium
0.04	7674	521	G	1763	Mycobacterium
0.01	2745	16	G1	2642494	unclassified Mycobacterium
0.08	15195	625	F	85025	Nocardiaceae
0.04	7441	932	G	1817	Nocardia
0.01	1496	45	G1	2637762	unclassified Nocardia
0.03	5934	1983	G	1827	Rhodococcus
					unclassified Rhodococcus (in: high G+C
0.01	1768	362	G1	192944	Gram-positive bacteria)
0.06	10524	0	F	1653	Corynebacteriaceae
0.06	10524	1512	G	1716	Corynebacterium
0.01	1520	1520	S	1725	Corynebacterium xerosis
0.05	9273	1	F	85026	Gordoniaceae
0.05	9008	2860	G	2053	Gordonia
					unclassified Gordonia (in: high G+C
0.01	1593	3	G1	2657482	Gram-positive bacteria)
0.01	1374	1374	S	249058	Gordonia otitidis
0.01	1211	0	F	85029	Dietziaceae
0.01	1211	102	G	37914	Dietzia
0.21	40104	478	O	85009	Propionibacteriales
0.12	22931	1310	F	31957	Propionibacteriaceae
0.04	8102	1195	G	72763	Tessaracoccus
0.02	2983	2983	S	1332264	Tessaracoccus aquimaris
0.01	1574	1574	S	399497	Tessaracoccus flavescens
0.01	961	961	S	3041766	Tessaracoccus lacteus
0.02	4483	77	G	1912215	Acidipropionibacterium
0.02	3656	3656	S	1749	Acidipropionibacterium jensenii
0.02	4084	10	G	1743	Propionibacterium
0.02	3754	3504	S	1744	Propionibacterium freudenreichii
0.01	1620	0	G	1085622	Propioniciclava
0.01	965	0	G1	2642922	unclassified Propioniciclava
0.01	965	965	S	2760308	Propioniciclava sp. MC1595
0.08	15088	196	F	85015	Nocardioidaceae
0.06	10481	494	G	1839	Nocardioides
0.02	4147	32	G1	2615069	unclassified Nocardioides
0.01	1373	1373	S	110319	Nocardioides sp. CF8
0.01	2422	416	G	2040	Aeromicrobium
0.01	1481	0	F	2726069	Kribbellaceae
0.01	1481	24	G	182639	Kribbella
0.01	1180	248	G1	2644121	unclassified Kribbella
0.1	19210	0	O	85010	Pseudonocardiales

0.1	19210	578	F	2070	Pseudonocardiaceae
0.05	8588	937	G	1813	Amycolatopsis
0.03	5424	819	G1	2618356	unclassified Amycolatopsis
0.01	2605	140	G	1847	Pseudonocardia
0.01	1075	304	G1	2619320	unclassified Pseudonocardia
0.01	1287	6	G	2071	Saccharothrix
0.01	1139	142	G	1835	Saccharopolyspora
0.1	18919	0	O	85008	Micromonosporales
0.1	18919	432	F	28056	Micromonosporaceae
0.05	10122	1593	G	1873	Micromonospora
0.03	5040	904	G1	2617518	unclassified Micromonospora
0.02	3126	96	G	1865	Actinoplanes
0.01	1538	182	G1	2626549	unclassified Actinoplanes
0.01	1788	487	G	35753	Dactylosporangium
0.05	9155	47	O	85012	Streptosporangiales
0.02	3878	52	F	2004	Streptosporangiaceae
0.01	2115	91	G	83681	Nonomuraea
0.01	1033	259	G	2000	Streptosporangium
0.02	2957	38	F	2012	Thermomonosporaceae
0.01	2363	357	G	1988	Actinomadura
0.01	2273	5	F	83676	Nocardiopsaceae
0.01	1679	429	G	2013	Nocardiosis
0.03	5912	0	O	2037	Actinomycetales
0.03	5912	182	F	2049	Actinomycetaceae
0.02	3006	406	G	1654	Actinomyces
0.01	1435	0	O	85013	Frankiales
0.01	1435	0	F	74712	Frankiaceae
0.01	1017	0	O	1643682	Geodermatophilales
0.01	1017	19	F	85030	Geodermatophilaceae
0.02	2979	0	C	1497346	Thermoleophilia
0.01	2708	5	O	588673	Solirubrobacterales
0.01	1007	0	F	320583	Conexibacteraceae
0.01	1007	3	G	191494	Conexibacter
0.01	2030	10	C	84998	Coriobacteriia
0.01	1171	42	O	84999	Coriobacteriales
0.01	1963	39	P	544448	Mycoplasmatota
0.01	1409	2	C	31969	Mollicutes
0.01	1055	0	O	2085	Mycoplasmatales
0.01	1054	0	F	2092	Mycoplasmataceae
0.01	1054	4	G	2093	Mycoplasma
0.01	946	0	G1	2683645	unclassified Mycoplasma
0.01	1956	0	D2	1798711	Cyanobacteriota/Melainabacteria group
0.01	1956	0	P	1117	Cyanobacteriota
0.01	1955	14	C	3028117	Cyanophyceae
0.01	1295	0	P	1297	Deinococcota
0.01	1295	0	C	188787	Deinococci
0.01	1146	0	O	118964	Deinococcales
0.01	1146	0	F	183710	Deinococcaceae
0.01	1146	86	G	1298	Deinococcus
2.87	540806	8487	P	1224	Pseudomonadota
2.33	440281	3990	C	1236	Gammaproteobacteria
1.1	207170	4900	O	91347	Enterobacterales
0.65	123062	19990	F	543	Enterobacteriaceae
0.52	97137	5897	F1	2890311	Klebsiella/Raoultella group
0.44	83466	70943	G	160674	Raoultella
0.06	11450	11275	S	54291	Raoultella ornithinolytica
0.04	7774	3570	G	570	Klebsiella
0.01	2519	2434	S	573	Klebsiella pneumoniae

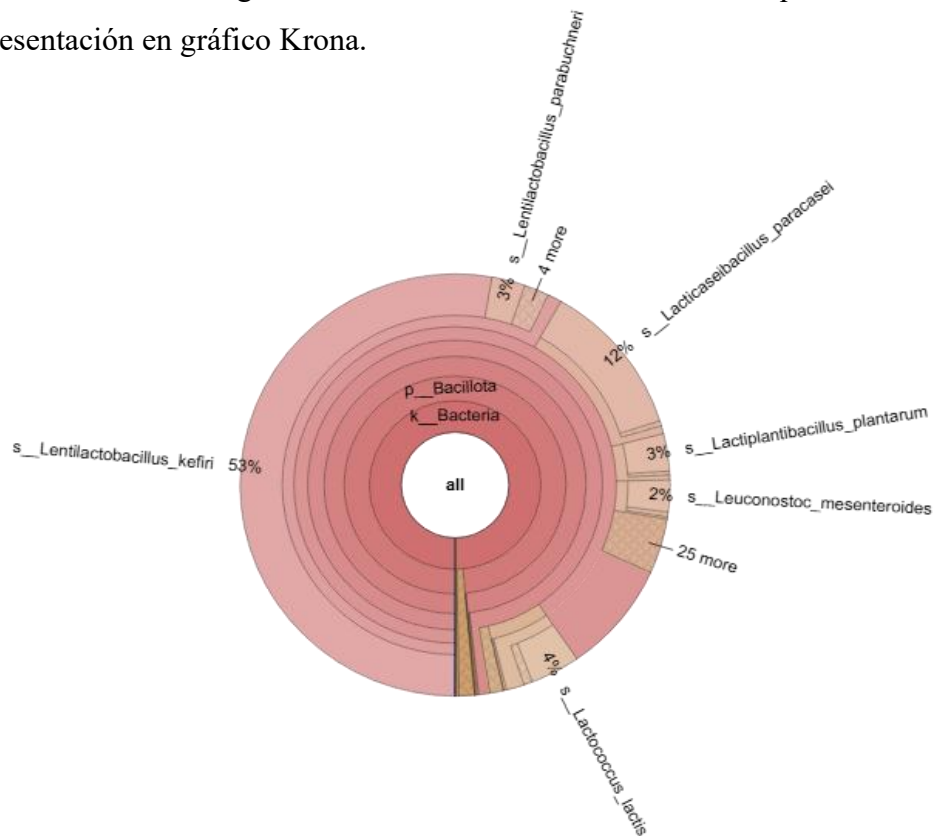
0.01	1472	2	G	1330545	Lelliottia
0.01	1415	1415	S	61646	Lelliottia amnigena
0.01	1181	752	G	544	Citrobacter
0.01	1054	268	G	547	Enterobacter
0.28	52120	138	F	1903411	Yersiniaceae
0.27	51476	18049	G	613	Serratia
0.16	30449	28221	S	614	Serratia liquefaciens
0.01	2228	2228	S1	1346614	Serratia liquefaciens ATCC 27592
0.01	1085	1079	S	615	Serratia marcescens
0.13	24602	995	F	1903412	Hafniaceae
0.12	23348	10170	G	568	Hafnia
0.07	12764	12669	S	569	Hafnia alvei
0.01	1009	19	F	1903414	Morganellaceae
0.53	100751	93	O	135614	Lysobacterales
0.53	99425	1254	F	32033	Lysobacteraceae
0.49	92405	39412	G	40323	Stenotrophomonas
0.24	46093	478	G1	995085	Stenotrophomonas maltophilia group
0.24	45077	43307	S	40324	Stenotrophomonas maltophilia
0.01	1371	1371	S1	391008	Stenotrophomonas maltophilia R551-3
0.03	5515	749	G1	196198	unclassified Stenotrophomonas
0.01	1420	1420	S	2871169	Stenotrophomonas sp. DFS-20110405
0.01	2177	425	G	338	Xanthomonas
0.01	1495	403	G	68	Lysobacter
0.01	1228	30	G	83614	Luteimonas
0.01	1233	20	F	1775411	Rhodanobacteraceae
0.31	58928	10	O	72274	Pseudomonadales
0.31	58460	443	F	135621	Pseudomonadaceae
0.3	57169	15881	G	286	Pseudomonas
0.09	17645	17645	S	244566	Pseudomonas lurida
0.06	11033	2911	G1	196821	unclassified Pseudomonas
0.02	4052	213	G1	136843	Pseudomonas fluorescens group
0.01	1197	1089	S	294	Pseudomonas fluorescens
0.01	1174	1174	S	129817	Pseudomonas brenneri
0.01	2212	283	G1	136841	Pseudomonas aeruginosa group
0.01	1511	1403	S	287	Pseudomonas aeruginosa
0.3	57033	0	O	2887326	Moraxellales
0.3	57033	84	F	468	Moraxellaceae
0.3	56079	17540	G	469	Acinetobacter
0.08	15701	2776	G1	196816	unclassified Acinetobacter
0.02	4560	4560	S	1827285	Acinetobacter sp. MYb10
0.02	3148	3148	S	2929509	Acinetobacter sp. NyZ410
0.01	2827	2827	S	3027470	Acinetobacter sp. TAC-1
0.06	12222	12222	S	106649	Acinetobacter guillouiae
0.03	5525	5495	S	40214	Acinetobacter johnsonii
					Acinetobacter calcoaceticus/baumannii
0.01	1631	269	G1	909768	complex
0.02	3122	0	O	135619	Oceanospirillales
0.01	1678	155	F	28256	Halomonadaceae
0.01	1984	6	O	135622	Alteromonadales
0.01	1722	0	O	135623	Vibrionales
0.01	1722	14	F	641	Vibrionaceae
0.01	1477	192	G	662	Vibrio
0.01	1105	0	O	135624	Aeromonadales
0.01	1101	15	F	84642	Aeromonadaceae
0.01	975	392	G	642	Aeromonas
0.01	1080	0	O	135613	Chromatiales
0.01	969	1	O	135618	Methylococcales
0.01	964	10	F	403	Methylococcaceae

0.32	60305	1945	C	28211	Alphaproteobacteria
0.14	25577	816	O	356	Hyphomicrobiales
0.03	5383	104	F	82115	Rhizobiaceae
0.02	3534	118	F1	227290	Rhizobium/Agrobacterium group
0.01	2006	450	G	379	Rhizobium
0.01	990	9	F1	227292	Sinorhizobium/Ensifer group
0.03	5099	317	F	41294	Nitrobacteraceae
0.02	4078	1117	G	374	Bradyrhizobium
0.01	1811	302	G1	2631580	unclassified Bradyrhizobium
0.02	3227	105	F	69277	Phyllobacteriaceae
0.01	2523	290	G	68287	Mesorhizobium
0.01	1730	388	G1	325217	unclassified Mesorhizobium
0.02	2868	18	F	119045	Methylobacteriaceae
0.01	2192	605	G	407	Methylobacterium
0.01	985	0	F	2831100	Boseaceae
0.01	985	10	G	85413	Bosea
0.06	10458	0	O	204458	Caulobacterales
0.06	10458	60	F	76892	Caulobacteraceae
0.05	9565	1252	G	41275	Brevundimonas
0.02	2945	0	G1	114552	environmental samples
0.02	2945	2945	S	213418	uncultured Brevundimonas sp.
0.01	2334	346	G1	2622653	unclassified Brevundimonas
0.05	9669	76	O	204457	Sphingomonadales
0.04	7510	359	F	41297	Sphingomonadaceae
0.02	4088	306	G	13687	Sphingomonas
0.01	2103	28	G1	196159	unclassified Sphingomonas
0.01	1108	137	G	165697	Sphingopyxis
0.01	1888	86	F	335929	Erythrobacteraceae
0.04	7747	166	O	204455	Rhodobacterales
0.02	4294	95	F	31989	Paracoccaceae
0.01	2019	149	G	265	Paracoccus
0.02	3287	83	F	2854170	Roseobacteraceae
0.02	4188	18	O	204441	Rhodospirillales
0.01	1848	77	F	433	Acetobacteraceae
0.01	1497	16	F	2829815	Azospirillaceae
0.01	1005	197	G	191	Azospirillum
0.17	31651	260	C	28216	Betaproteobacteria
0.15	27705	695	O	80840	Burkholderiales
0.06	11671	516	F	119060	Burkholderiaceae
0.02	4286	1188	G	32008	Burkholderia
0.01	1949	309	G1	87882	Burkholderia cepacia complex
0.01	2705	619	G	1822464	Paraburkholderia
0.01	1484	207	G	106589	Cupriavidus
0.03	5706	336	F	80864	Comamonadaceae
0.01	1875	265	G	34072	Variovorax
0.01	1116	175	G1	663243	unclassified Variovorax
0.02	4404	119	F	506	Alcaligenaceae
0.02	2861	828	G	222	Achromobacter
0.01	2661	51	F	75682	Oxalobacteraceae
0.01	1505	49	F1	2895353	Telluria group
0.01	1608	50	F	2975441	Sphaerotilaceae
0.01	1453	10	O	206389	Rhodocyclales
0.01	1230	4	O	206351	Neisseriales
0.57	108228	5	D1	1783270	FCB group
0.57	107961	3	D2	68336	Bacteroidota/Chlorobiota group
0.57	107651	1809	P	976	Bacteroidota
0.49	92257	0	C	117743	Flavobacteriia
0.49	92257	767	O	200644	Flavobacteriales

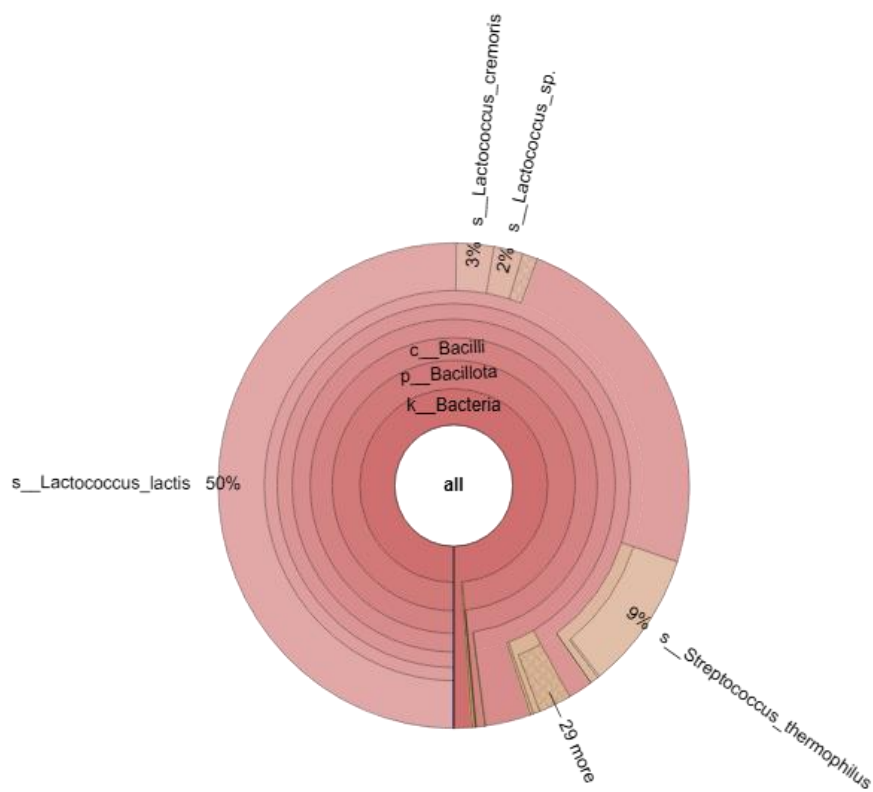
0.46	85940	1840	F	2762318	Weeksellaceae
0.43	80838	1240	F1	2782232	Chryseobacterium group
0.36	68136	6757	G	59732	Chryseobacterium
0.15	28230	28230	S	112234	Chryseobacterium joostei
0.08	14309	1315	G1	2593645	unclassified Chryseobacterium
0.02	3973	3973	S	2487064	Chryseobacterium sp. G0186
0.01	955	955	S	2879938	Chryseobacterium sp. MEB0G06
0.02	3335	3335	S	2754694	Chryseobacterium manosquense
0.01	2688	2688	S	253	Chryseobacterium indologenes
0.01	1036	1036	S	651561	Chryseobacterium arthrosphaerae
0.01	945	945	S	246	Chryseobacterium balustinum
0.05	10309	274	G	2782229	Epilithonimonas
0.04	7949	7949	S	2487072	Epilithonimonas vandammei
0.01	2086	2086	S	1416779	Epilithonimonas zeae
0.01	1153	46	G	2782231	Kaistella
0.01	2086	214	G	308865	Elizabethkingia
0.01	1183	1107	S	1117645	Elizabethkingia anophelis
0.03	5428	154	F	49546	Flavobacteriaceae
0.01	2816	640	G	237	Flavobacterium
0.05	9689	0	C	117747	Sphingobacteriia
0.05	9689	0	O	200666	Sphingobacteriales
0.05	9688	16	F	84566	Sphingobacteriaceae
0.05	8724	227	G	28453	Sphingobacterium
0.04	7631	7631	S	258	Sphingobacterium spiritivorum
0.01	1888	3	C	200643	Bacteroidia
0.01	1479	13	O	171549	Bacteroidales
0.01	1403	0	C	768503	Cytophagia
0.01	1403	13	O	768507	Cytophagales
0.03	4810	3	P	2818505	Myxococcota
0.01	2665	0	P1	3031711	Polyangia
0.01	2018	0	O	3031712	Polyangiales
0.01	1450	3	F	49	Polyangiaceae
0.01	1020	376	G	39643	Sorangium
0.01	2142	0	C	32015	Myxococcia
0.01	2142	0	O	29	Myxococcales
0.01	2142	5	O1	80811	Cystobacterineae
0.01	974	14	F	31	Myxococcaceae
0.02	4002	4	D1	1783257	PVC group
0.02	3051	4	P	203682	Planctomycetota
0.02	2884	16	C	203683	Planctomycetia
0.01	2036	10	P	200940	Thermodesulfobacteriota
0.01	972	0	C	3031449	Desulfovibrionia
0.01	972	0	O	213115	Desulfovibrionales
0.01	1579	0	P	29547	Campylobacterota
0.01	1576	0	C	3031852	Epsilonproteobacteria
0.01	1552	27	O	213849	Campylobacterales
0.01	1095	0	F	2771471	Sulfurimonadaceae
0.01	1094	7	G	202746	Sulfurimonas
0.01	1038	1	P	57723	Acidobacteriota
0.05	9663	0	D	2157	Archaea
0.05	9487	0	P	28890	Euryarchaeota
0.04	8040	2	P1	2290931	Stenosarchaea group
0.04	7234	0	C	183963	Halobacteria
0.04	7234	262	O	2235	Halobacteriales
0.01	2074	17	F	1963268	Haloarculaceae
0.01	1913	13	F	1644061	Natrialbaceae
0.01	1841	20	F	1644056	Haloferacaceae
0.01	1380	1	P1	2283794	Methanomada group

0.04	7995	0	D	2759	Eukaryota
0.04	7995	0	D1	33154	Opisthokonta
0.04	7995	6	K	4751	Fungi
0.04	7537	34	K1	451864	Dikarya
0.04	6826	0	P	4890	Ascomycota
0.04	6794	14	P1	716545	saccharomyceta
0.02	4164	0	P2	147538	Pezizomycotina
0.02	4164	37	P3	716546	leotiomyceta
0.01	2609	1	P4	715989	sordariomyceta
0.01	2559	46	C	147550	Sordariomycetes
0.01	1402	15	C1	222543	Hypocreomycetidae
0.01	965	28	O	5125	Hypocreales
0.01	1111	3	C1	222544	Sordariomycetidae
0.01	1180	0	C	147545	Eurotiomycetes
0.01	1180	2	C1	451871	Eurotiomycetidae
0.01	1159	6	O	5042	Eurotiales
0.01	1076	10	F	1131492	Aspergillaceae
0.01	2616	21	P2	147537	Saccharomycotina
0.01	1695	1	C	4891	Saccharomycetes
0.01	1682	0	O	4892	Saccharomycetales
0.01	1682	15	F	4893	Saccharomycetaceae

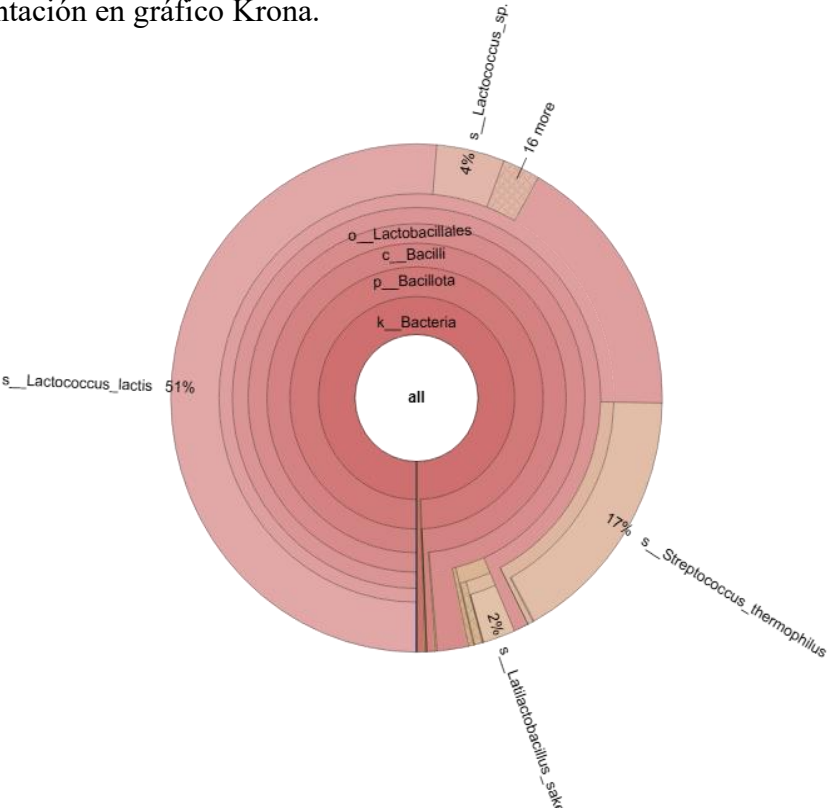
Anexo 7. Perfil metagenómico bacteriano de la muestra de queso C025 mediante representación en gráfico Krona.



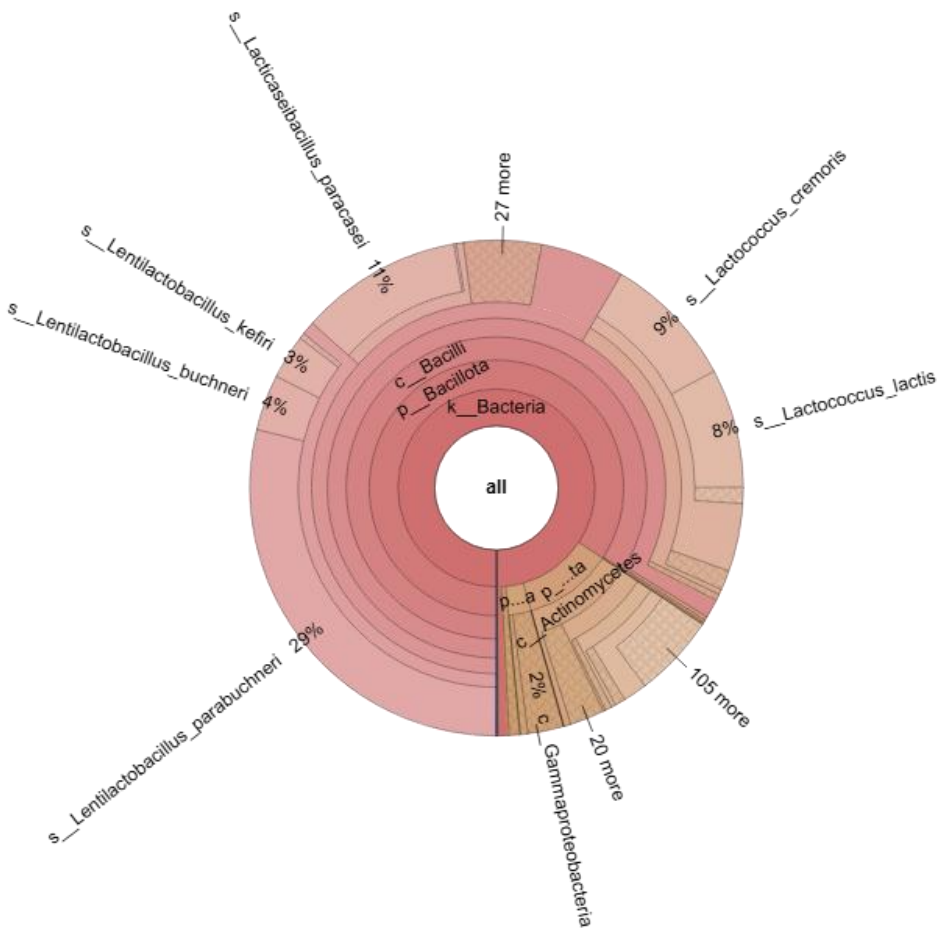
Anexo 8. Perfil metagenómico bacteriano de la muestra de queso C082 mediante representación en gráfico Krona.



Anexo 9. Perfil metagenómico bacteriano de la muestra de queso C033 mediante representación en gráfico Krona.



Anexo 10. Perfil metagenómico bacteriano de la muestra de queso C083 mediante representación en gráfico Krona.



Anexo 12. Índice de viabilidad de *Enterococcus* spp. frente a antibióticos por lote de queso (n = 3)

Enterococcus spp. (IVAs)										
Código	ATB µg/ml	Amp 8	Chlor 64	Eri 16	Tet 16	Strep 512	Gent 128	Ciprof 16	Promedio	SD
CO25	R1	4,60E-04	1,00E-05	1,75E-01	4,00E-01	1,00E-06	1,00E-06	4,00E+00	6,54E-01	1,48E+00
	R2	7,27E-03	4,00E-03	1,18E-01	9,09E-02	4,65E-03	2,00E-04	3,30E-01	7,93E-02	1,21E-01
	R3	1,77E-03	5,89E-06	9,77E-01	3,47E-01	5,89E-06	5,89E-06	7,13E-01	2,91E-01	4,06E-01
	Media	3,17E-03	1,34E-03	4,23E-01	2,79E-01	1,55E-03	6,90E-05	1,68E+00	3,41E-01	6,15E-01
	SD	3,62E-03	2,30E-03	4,80E-01	1,65E-01	2,69E-03	1,14E-04	2,02E+00	3,82E-01	7,43E-01
CO82	R1	1,20E-05	1,20E-05	5,50E-03	7,76E-01	1,20E-05	1,20E-05	3,47E-01	1,61E-01	3,00E-01
	R2	2,95E-05	2,95E-05	8,32E-02	3,55E-01	2,95E-05	2,95E-05	4,47E-01	1,26E-01	1,92E-01
	R3	1,11E-04	1,11E-04	3,33E-02	4,44E-02	1,11E-04	1,11E-04	1,47E-01	3,21E-02	5,38E-02
	Media	5,09E-05	5,09E-05	4,07E-02	3,92E-01	5,09E-05	5,09E-05	3,13E-01	1,07E-01	1,70E-01
	SD	5,29E-05	5,29E-05	3,94E-02	3,67E-01	5,29E-05	5,29E-05	1,53E-01	7,99E-02	1,38E-01
CO33	R1	1,00E-02	1,00E-02	1,20E+00	1,00E-02	1,00E-02	1,00E-02	2,00E-01	2,07E-01	4,43E-01
	R2	1,00E-03	1,00E-03	2,57E+00	1,00E-03	1,00E-03	1,00E-03	1,00E+00	5,11E-01	9,82E-01
	R3	5,49E-05	4,57E-05	4,57E-04	4,53E-02	4,57E-07	9,12E-06	5,49E-01	8,49E-02	2,05E-01
	Media	3,68E-03	3,68E-03	1,26E+00	1,88E-02	3,67E-03	3,67E-03	5,83E-01	2,68E-01	4,86E-01
	SD	5,49E-03	5,49E-03	1,29E+00	2,34E-02	5,51E-03	5,50E-03	4,01E-01	2,47E-01	4,81E-01
CO83	R1	3,55E-02	2,51E-04	5,01E-01	2,95E-01	2,51E-04	2,51E-04	1,10E+00	2,76E-01	4,10E-01
	R2	2,63E-06	2,63E-06	2,63E-06	1,37E-03	2,63E-06	2,63E-06	2,01E+00	2,87E-01	7,59E-01
	R3	3,98E-08	3,98E-08	3,98E-07	3,98E-08	3,98E-08	3,98E-08	2,51E-03	3,59E-04	9,49E-04
	Media	1,18E-02	8,46E-05	1,67E-01	9,88E-02	8,46E-05	8,46E-05	1,04E+00	1,88E-01	3,80E-01
	SD	2,05E-02	1,44E-04	2,89E-01	1,70E-01	1,44E-04	1,44E-04	1,00E+00	2,12E-01	3,67E-01

Anexo 13. Recuento normalizado de genes de resistencia a antibióticos (ARGs) detectados mediante secuenciación metagenómica. (N.D.= No Detectado).

Familia	Gen	C025	C082	C033	C083
AMINOGLYCOSIDE		8,2393E-03	5,7845E-06	6,8154E-06	2,8459E-03
	AAC(2')-I	1,1540E-05	N.D.	6,8154E-06	N.D.
	AAC(6')-I	1,1540E-05	N.D.	N.D.	7,6622E-05
	AAC(6')-II	N.D.	5,7845E-06	N.D.	5,4730E-05
	AAD(9)	1,1540E-05	N.D.	N.D.	N.D.
	AADD	2,3079E-05	N.D.	N.D.	N.D.
	AADE	3,1272E-03	N.D.	N.D.	6,5676E-05
	ACRD	3,4619E-05	N.D.	N.D.	5,2541E-04
	ANT(3")-IIA	N.D.	N.D.	N.D.	7,6622E-05
	ANT(3")-IIC	N.D.	N.D.	N.D.	1,1712E-03
	ANT(9)-I	1,5578E-03	N.D.	N.D.	1,7514E-04
	APH(2")-III	1,8463E-04	N.D.	N.D.	N.D.
	APH(3')-I	N.D.	N.D.	N.D.	1,5324E-04
	APH(3")-I	1,1540E-05	N.D.	N.D.	N.D.
	APH(3')-IIB	N.D.	N.D.	N.D.	6,5676E-05
	APH(3""-III	1,0039E-03	N.D.	N.D.	2,1892E-05
	APH(3')-VI	N.D.	N.D.	N.D.	2,1892E-05
	KASUGAMYCIN _RESISTANCE_P ROTEIN_KSGA	5,7698E-05	N.D.	N.D.	3,0649E-04
	KDPE	3,4619E-05	N.D.	N.D.	1,0946E-04
	STREPTOMYCIN _RESISTANCE_P ROTEIN	2,0541E-03	N.D.	N.D.	2,1892E-05
	CPXA	1,1540E-04	N.D.	N.D.	4,0500E-04
PHENICOL		9,6933E-04			5,3635E-04
	CAT_CHLORAM PHENICOL_ACE TYLTRANSFERA SE	4,6158E-05	N.D.	N.D.	2,1892E-05
	CATB	N.D.	N.D.	N.D.	4,3784E-05
	CATB10	1,1540E-05	N.D.	N.D.	1,4230E-04
	CHLORAMPHEN ICOL_EXPORTE R	4,6158E-05	N.D.	N.D.	3,1743E-04
	FLOR	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-05
	CHLORAMPHEN ICOL_AN.D._FL ORFENICOL_EX PORTER	8,6547E-04	N.D.	N.D.	N.D.
OXAZOLIDINONE		8,0777E-05			
	OPTRA	8,0777E-05	N.D.	N.D.	N.D.
PLEUROMUTILIN		7,3854E-04	1,1569E-05	1,3631E-04	5,5824E-04
	TAEA	7,3854E-04	1,1569E-05	1,3631E-04	5,5824E-04

Familia	Gen	C025	C082	C033	C083
TETRACYCLINE		1,5371E-02	1,6197E-04	2,6580E-04	6,9507E-03
	TAP	N.D.	N.D.	1,3631E-05	N.D.
	TET(42)	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-05
	TET39	N.D.	N.D.	N.D.	3,7216E-04
	TET41	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-05
	TET43	N.D.	N.D.	N.D.	4,3127E-03
	TETA	N.D.	N.D.	N.D.	1,4230E-04
	TETA(48)	1,6155E-04	5,7845E-06	N.D.	5,3635E-04
	TETA(60)	3,3465E-04	1,5040E-04	2,2491E-04	3,8311E-04
	TETB(46)	N.D.	N.D.	N.D.	2,5176E-04
	TETB(60)	1,1540E-05	N.D.	N.D.	2,1892E-05
	TETM	7,8931E-03	N.D.	2,0446E-05	3,1743E-04
	TETS	6,3237E-03	N.D.	N.D.	4,1595E-04
	TETV	N.D.	N.D.	6,8154E-06	N.D.
	TETW	1,3848E-04	5,7845E-06	N.D.	3,2838E-05
	TETX	N.D.	N.D.	N.D.	1,4230E-04
	TETL	4,8466E-04	N.D.	N.D.	N.D.
	TETP	2,3079E-05	N.D.	N.D.	N.D.
MLS		3,9027E-02	1,1810E-01	2,4004E-01	7,8428E-02
	ERM(38)	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-05
	ERMB	2,0656E-03	N.D.	N.D.	6,5676E-05
	ERMA	2,3079E-05	N.D.	N.D.	N.D.
	LLMA_23S_RIBO SOMAL_RNA_M ETHYLTRANSFE RASE	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-05
	LMRC	7,5238E-03	4,7086E-02	9,8475E-02	3,1962E-02
	LMRD	1,1470E-02	5,6185E-02	1,1515E-01	3,8552E-02
	LMRP	1,6386E-03	1,4791E-02	2,1346E-02	5,8889E-03
	LNUA	1,5463E-02	5,7845E-06	5,7590E-03	N.D.
	LNUB	4,6158E-05	N.D.	N.D.	8,7568E-05
	LNUE	1,1540E-05	N.D.	6,8154E-06	N.D.
	LSA	5,4236E-04	5,7845E-06	1,3631E-05	4,0500E-04
	LSAA	2,3079E-05	N.D.	N.D.	1,0946E-05
	LSAE	8,0777E-05	N.D.	N.D.	2,0797E-04
	MACA	N.D.	N.D.	N.D.	1,7514E-04
	MACB	1,1540E-05	N.D.	N.D.	8,6473E-04
	MEFE	N.D.	2,3138E-05	N.D.	2,1892E-05
	MEL	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-05
	MPHC	N.D.	5,7845E-06	N.D.	7,6622E-05

Familia	Gen	C025	C082	C033	C083
	MSRC	N.D.	N.D.	N.D.	5,4730E-05
	OLEC	1,1540E-05	N.D.	N.D.	2,1892E-05
	ERMC	1,1540E-05	N.D.	N.D.	N.D.
	VATE	1,0386E-04	N.D.	N.D.	N.D.
PEPTIDE		3,4619E-04	2,7477E-03	1,6357E-04	1,7951E-03
	EPTA	N.D.	N.D.	N.D.	6,5676E-05
	LISTERIA_MONOCYTOGENES_MPRF	5,7698E-05	N.D.	1,3631E-04	1,0946E-05
	PMRF	5,7698E-05	N.D.	N.D.	2,8459E-04
	UGD	2,3079E-04	2,7477E-03	2,7262E-05	1,2259E-03
	YOJI	N.D.	N.D.	N.D.	2,0797E-04
GLYCOPEPTIDE		1,1540E-04	5,7845E-06		1,1931E-03
	VANRI	2,3079E-05	N.D.	N.D.	N.D.
	VANT	1,1540E-05	N.D.	N.D.	N.D.
	VANR	5,7698E-05	N.D.	N.D.	1,0070E-03
	VANS	2,3079E-05	5,7845E-06	N.D.	1,8608E-04
POLYMYXIN		2,3079E-05			3,9405E-04
	ARNA	2,3079E-05	N.D.	N.D.	3,9405E-04
BETA-LACTAM		6,4622E-04	8,2314E-03	4,0074E-02	1,2807E-03
	AMPC	1,3848E-04	N.D.	N.D.	2,1892E-05
	CGB-1	N.D.	N.D.	N.D.	8,7568E-05
	CLASS_A	1,1540E-05	5,7845E-06	N.D.	N.D.
	CLASS_C	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-04
	IN.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-05
	KLEBSIELLA_PNEUMONIAE_O MPK36	1,1540E-05	N.D.	N.D.	3,2838E-05
	KLEBSIELLA_PNEUMONIAE_O MPK37	6,9238E-05	N.D.	N.D.	3,2838E-05
	MECA	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-05
	METALLO-BETA-LACTAMASE	N.D.	N.D.	N.D.	1,9703E-04
	OKP-B	N.D.	N.D.	N.D.	2,1892E-05
	OKP-B-12	N.D.	N.D.	N.D.	7,6622E-05
	OXA	N.D.	N.D.	N.D.	1,7514E-04
	PBP-1A	2,3079E-05	5,2061E-05	5,7931E-04	4,3784E-05
	PBP-1B	N.D.	4,1649E-04	2,2354E-03	7,6622E-05
	PBP-2X	N.D.	6,3630E-05	3,3395E-04	6,5676E-05
	PENA	3,9235E-04	7,6934E-03	3,7055E-02	1,5324E-04
	PORIN_OMPC	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-05

Familia	Gen	C025	C082	C033	C083
	SHV	N.D.	N.D.	N.D.	4,3784E-05
	TEM	N.D.	N.D.	N.D.	9,8514E-05
BACITRACIN		5,4398E-02	1,5098E-03	4,8866E-03	3,4710E-02
	BACA	5,4386E-02	1,5098E-03	4,8934E-03	3,4699E-02
	BCRA	1,1540E-05	N.D.	N.D.	1,0946E-05
FOSFOMYCIN				6,8154E-06	8,7568E-05
	FOSA	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-05
	FOSA5	N.D.	N.D.	N.D.	4,3784E-05
	FOSA6	N.D.	N.D.	N.D.	2,1892E-05
	FOSB	N.D.	N.D.	6,8154E-06	1,0946E-05
FOSMIDOMYCIN		2,3079E-04			6,5676E-04
	ROSA	1,1540E-04	N.D.	N.D.	2,4081E-04
	ROSB	1,1540E-04	N.D.	N.D.	4,1595E-04
FLUOROQUINOLO NE		2,6541E-04	1,5618E-04	9,7460E-04	1,7514E-03
	EMRR	3,4619E-05	N.D.	N.D.	9,8514E-05
	NORB	N.D.	N.D.	N.D.	2,1892E-05
	PATA	3,4619E-05	N.D.	N.D.	2,0797E-04
	PATB	8,0777E-05	1,5618E-04	9,4734E-04	7,2243E-04
	QNRB	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-05
	QNRB33	N.D.	N.D.	N.D.	3,2838E-05
	QNRD1	N.D.	N.D.	6,8154E-06	N.D.
	QNRD2	N.D.	N.D.	1,3631E-05	1,0946E-05
	MDTK	1,1540E-04	N.D.	N.D.	6,3487E-04
RIFAMYCIN				6,8154E-06	1,0946E-05
	ADP- RIBOSYLATING _TRANSFERASE _ARR	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-05
	RBPA	N.D.	N.D.	6,8154E-06	N.D.
NITROIMIDAZOLE		4,6158E-05			3,5027E-04
	MSBA	4,6158E-05	N.D.	N.D.	3,5027E-04
NUCLEOSIDE		7,2700E-04			2,1892E-05
	SAT-4	7,2700E-04	N.D.	N.D.	2,1892E-05
SULFONAMIDE				1,3631E-05	1,0946E-05
	SUL1	N.D.	N.D.	1,3631E-05	1,0946E-05
DIAMINOPYRIMIDI NE		2,7695E-04			5,4730E-05
	DFRG	2,0771E-04	N.D.	N.D.	N.D.
	DFRE	6,9238E-05	N.D.	N.D.	5,4730E-05
TETRACENOMYCI		1,1540E-05			

Familia	Gen	C025	C082	C033	C083
N_C					
	TCMA	1,1540E-05	N.D.	N.D.	N.D.
TRICLOSAN				1,3631E-05	3,0649E-04
	OPMH	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-04
	TRIC	N.D.	N.D.	1,3631E-05	1,8608E-04
MULTIDRUG		6,9053E-02	1,5861E-02	4,5752E-02	9,2088E-02
	ABCA	2,3079E-05	N.D.	4,0892E-05	N.D.
	ABEM	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-05
	ACRA	1,1540E-05	N.D.	N.D.	1,7514E-04
	ACRB	3,3465E-04	N.D.	N.D.	1,8718E-03
	ACRF	1,0386E-04	N.D.	N.D.	5,4730E-05
	ADEA	N.D.	N.D.	N.D.	2,1892E-05
	ADEB	N.D.	N.D.	N.D.	2,5176E-04
	ADEC	2,3079E-05	1,1569E-05	N.D.	1,2041E-04
	ADEI	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-04
	ADEJ	N.D.	N.D.	N.D.	2,7365E-04
	ADEK	N.D.	N.D.	N.D.	9,8514E-05
	ADEN	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-05
	ADER	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-05
	AMRB	N.D.	N.D.	N.D.	3,2838E-05
	BAER	2,3079E-05	N.D.	N.D.	7,6622E-05
	BAES	1,1540E-05	N.D.	N.D.	1,7514E-04
	BICYCLOMYCIN				
	-				
	MULTIDRUG_EF FLUX_PROTEIN _BCR	1,1540E-05	N.D.	N.D.	1,8608E-04
	CEOB	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-05
	EFMA	6,2083E-03	1,7354E-05	2,0446E-05	3,0539E-03
	EFRA	8,6547E-04	4,6276E-05	4,9071E-04	5,2541E-04
	EFRB	7,8469E-04	1,0470E-03	4,3755E-03	6,6770E-04
	EMRA	4,6158E-05	N.D.	N.D.	2,7365E-04
	EMRB	1,5002E-04	N.D.	N.D.	4,1595E-04
	EMRB- QACA_FAMILY_ MAJOR_FACILIT ATOR_TRANSPOR TER	1,2105E-02	1,1569E-04	2,0310E-03	1,0804E-02
	EMRD	8,0777E-05	N.D.	N.D.	3,6122E-04
	ESCHERICHIA_C OLI_LAMB	1,0386E-04	N.D.	N.D.	2,5176E-04
	GADW	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-05
	MAJOR_FACILIT	1,9156E-03	8,2025E-03	1,6534E-02	7,7826E-03

Familia	Gen	C025	C082	C033	C083
	ATOR_SUPERFA MILY_TRANSPORTER				
	MARA	N.D.	N.D.	N.D.	1,9703E-04
	MARR	N.D.	N.D.	1,3631E-05	4,3784E-05
	MDFA	5,7698E-05	N.D.	N.D.	3,0649E-04
	MDSB	N.D.	N.D.	N.D.	3,2838E-05
	MDSC	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-05
	MDTA	1,1540E-05	N.D.	N.D.	9,8514E-05
	MDTB	1,1540E-05	N.D.	N.D.	2,4081E-04
	MDTC	2,3079E-05	N.D.	N.D.	1,8608E-04
	MDTD	N.D.	N.D.	N.D.	9,8514E-05
	MDTE	2,3079E-05	N.D.	N.D.	6,5676E-05
	MDTF	N.D.	N.D.	N.D.	3,2838E-05
	MDTG	3,4619E-05	N.D.	6,8154E-06	1,6419E-04
	MDTH	9,2317E-05	N.D.	6,8154E-06	2,0797E-04
	MDTL	1,1540E-05	N.D.	N.D.	2,1892E-05
	MEXB	2,3079E-05	N.D.	N.D.	2,8459E-04
	MEXC	N.D.	N.D.	N.D.	2,1892E-05
	MEXD	N.D.	N.D.	N.D.	6,5676E-05
	MEXE	4,6158E-05	N.D.	N.D.	2,6270E-04
	MEXF	N.D.	N.D.	6,8154E-06	1,8608E-04
	MEXI	N.D.	N.D.	N.D.	8,7568E-05
	MEXK	N.D.	N.D.	N.D.	4,3784E-04
	MEXN	N.D.	N.D.	N.D.	5,4730E-05
	MEXP	N.D.	N.D.	N.D.	3,2838E-05
	MEXQ	2,3079E-05	N.D.	N.D.	2,0797E-04
	MEXT	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-04
	MEXW	N.D.	N.D.	N.D.	1,6419E-04
	MEXX	2,3079E-05	N.D.	N.D.	6,5676E-05
	MTRA	5,7698E-05	5,7845E-06	N.D.	9,0851E-04
	MULTIDRUG_A BC_TRANSPORTER	1,3848E-04	1,1569E-05	3,4077E-05	5,5824E-04
	MUXB	N.D.	N.D.	N.D.	5,4730E-05
	NORA	N.D.	N.D.	3,4077E-05	2,1892E-05
	OMP36	N.D.	N.D.	N.D.	6,5676E-05
	OMPF	2,3079E-05	N.D.	N.D.	3,0649E-04
	OMPR	6,9238E-05	N.D.	N.D.	8,3189E-04
	OPMD	N.D.	N.D.	N.D.	2,1892E-05
	OPME	N.D.	N.D.	N.D.	2,1892E-05
	OPRM	N.D.	N.D.	N.D.	1,8608E-04
	OPRN	N.D.	N.D.	6,8154E-06	2,1892E-05

Familia	Gen	C025	C082	C033	C083
	OPRZ	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-05
	OQXA	N.D.	N.D.	N.D.	1,7514E-04
	OQXB	N.D.	N.D.	N.D.	7,6622E-04
	QACG	N.D.	2,3138E-05	5,8340E-03	1,2041E-04
	RAMA	N.D.	N.D.	N.D.	7,6622E-05
	RPOB2	4,5316E-02	6,3803E-03	1,6459E-02	5,3252E-02
	SERRATIA_MAR CESCENS_OMP1	5,7698E-05	N.D.	N.D.	7,6622E-05
	SMEB	N.D.	N.D.	N.D.	5,3635E-04
	SMEC	N.D.	N.D.	N.D.	1,7514E-04
	SMED	N.D.	N.D.	6,8154E-06	2,2986E-04
	SMEE	N.D.	N.D.	N.D.	4,8162E-04
	SMEF	N.D.	N.D.	N.D.	2,1892E-04
	SMER	3,4619E-05	N.D.	N.D.	8,3189E-04
	SMES	N.D.	N.D.	N.D.	3,0649E-04
	POXTA	4,6158E-05	N.D.	N.D.	N.D.
	TOLC	1,2694E-04	N.D.	N.D.	4,3784E-04
UNCLASSIFIED		1,8567E-02	8,4454E-04	1,9424E-03	1,5795E-02
	CAMP- REGULATORY_ PROTEIN	4,6158E-05	N.D.	N.D.	9,8514E-05
	COB(I)ALAMIN_A DENOLSYLTRAN SFERASE	N.D.	N.D.	N.D.	4,3784E-05
	DNA- BIN.D.ING_PROT EIN_H-NS	N.D.	N.D.	N.D.	1,0946E-04
	SDIA	N.D.	N.D.	N.D.	6,5676E-05
	TRANSCRIPTIO NAL_REGULAT ORY_PROTEIN_ CPXR_CPXR	5,7698E-05	N.D.	N.D.	6,7865E-04
	TRUNCATED_P UTATIVE_RESP ONSE_REGULAT OR_ARLR	1,8452E-02	8,4454E-04	1,9424E-03	1,4799E-02
	THIOSTREPTON _RESISTANCE_ METHYLASE_TS NR	1,1540E-05	N.D.	N.D.	N.D.