

# Polymicrobiële infecties: invloeden van de ecologische gemeenschap op het verloop van infecties

Polymicrobial infections: the influence of the ecological community on the development of infections

ir. L.E. Zandbergen<sup>1,3</sup>, dr. ir. M.G.J. de Vos<sup>2,3</sup>

## SAMENVATTING

Polymicrobiële infecties worden veroorzaakt door een microbiële gemeenschap. De microben in de gemeenschap kunnen invloed hebben op een infectie door interactie met de gastheer, de pathogenen of met beide. Microben kunnen ecologische interacties met elkaar aangaan, waardoor ze elkaars groei, virulentie of gevoeligheid voor antibiotica veranderen. Daarnaast kunnen interacties tussen een microbe en de gastheer zorgen voor een betere overleving van een andere microbe, zoals een pathogeen, door bijvoorbeeld het verminderen van immuunreacties of het schaden van gastheercellen. Hierdoor worden infecties complexer, wat mogelijk gevolgen heeft voor antibioticabehandelingen. Het is daarom relevant om polymicrobiële infecties vanuit een ecologisch perspectief te benaderen.

(TIJDSCHR INFECT 2020:15(6):221-6)

## SUMMARY

Polymicrobial infections are caused by a microbial community. The microbes in the community can affect the interaction with the host, pathogens or both. Ecological interactions between individual microbes can affect their growth, virulence and sensitivity to antibiotics. In addition, interactions between a microbe and its host can lead to increased survival of other microbes, such as pathogens, by for example decreasing the immune responses or damaging host cells. Such interactions potentially increase the complexity of infections, which can have consequences for antibiotic treatments. Therefore, it is relevant to approach polymicrobial infections from an ecological perspective.

## INLEIDING

Aan het einde van de 19<sup>e</sup> eeuw ontwikkelden Robert Koch en Friedrich Loeffler een aantal criteria, die later bekend werden onder de naam postulaten van Koch, om te bepalen of een microbe de oorzaak is van een bepaalde infectie.<sup>1</sup> Hierbij wordt gekeken of de microbe altijd aanwezig is bij patiënten met dezelfde soort infectie en of de microbe de ziekte bij een gastheer kan veroorzaken. Sindsdien zijn de

criteria aangepast en uitgebreid, maar de relatie tussen gastheer en microbe staat nog steeds centraal bij het bepalen van de oorzaak van een infectie. Deze methode beschouwt infecties voornamelijk als monomicrobieel van oorsprong. Dit is het geval voor een groot aantal infecties, maar steeds meer data tonen aan dat infecties ook polymicrobieel van aard kunnen zijn.<sup>2</sup> De etiologie van dergelijke polymicrobiële infecties is complexer, omdat het niet alleen een interactie

<sup>1</sup>PhD-student, <sup>2</sup>assistent-professor, <sup>3</sup>Groningen Institute for Evolutionary Life Sciences, Rijksuniversiteit Groningen, Groningen.

Correspondentie graag richten aan: mw. dr. ir. M.G.J. de Vos, Rijksuniversiteit Groningen, Groningen Institute for Evolutionary Life Sciences, Nijenborgh 7, 9747 AG Groningen, tel.: 050 363 321 69, e-mailadres: m.g.j.de.vos@rug.nl

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

**Trefwoorden:** antibioticaresistentie, ecologie, polymicrobiële infectie, virulentie.

**Keywords:** antibiotic resistance, ecology, polymicrobial infection, virulence.

ONTVANGEN 28 MAART 2019, GEACCEPTTEERD 31 JULI 2019.

tussen de gastheer en de microbe betreft, maar mogelijk ook interacties tussen de verschillende soorten microben. Deze infecties zijn daarom in potentie ook moeilijker te behandelen, zeker in een tijd waarin antibioticaresistentie steeds meer voorkomt. Het is daarom goed om te onderzoeken welke processen invloed hebben op pathogenen bij een polymicrobiële infectie.

Voordat hierop wordt ingegaan, wordt hier eerst de term ‘polymicrobiële infectie’ gedefinieerd. In dit artikel wordt met een polymicrobiële infectie een infectie bedoeld die wordt veroorzaakt door een microbe die pathogeen wordt in aanwezigheid van een andere microbe of microbiële gemeenschap, alsook een infectie waarbij meerdere microben gezamenlijk een infectie veroorzaken.

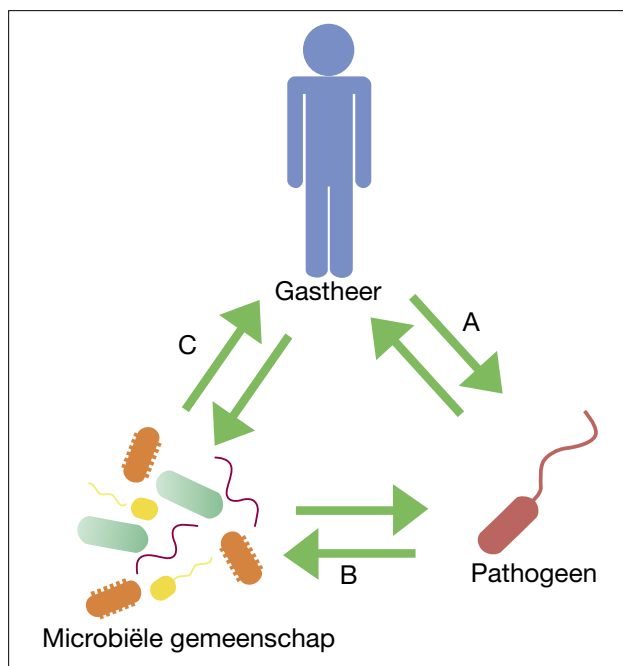
Dit artikel bespreekt vanuit een ecologisch perspectief een aantal voorbeelden van interacties tussen microben bij infecties, en wat voor consequenties deze interacties kunnen hebben op de gezondheid en behandeling van hun gastheer.

**INTERACTIE MICROBE-GASTHEER**

Niet alle infecties hebben een polymicrobiële oorsprong. Ongecompliceerde urineweginfecties worden bijvoorbeeld bij jongere mensen meestal slechts door 1 bacteriesoort veroorzaakt; in de meeste gevallen door een uropathogene *Escherichia coli* (UPEC). UPEC-bacteriën gaan op meerdere manieren een interactie aan met de gastheer (zie *Figuur 1A*).<sup>3</sup> Vaak is deze ‘gastheer’ overigens een ‘gastvrouw’, omdat ongecompliceerde urineweginfecties veel vaker bij vrouwen voorkomen dan bij mannen.<sup>4</sup> Op de eerste plaats kunnen UPEC-bacteriën zich hechten aan het epitheel van de blaaswand, wat ervoor zorgt dat ze niet uit de blaas spoelen tijdens het urineren.<sup>5</sup> De gastheer reageert hierop door de aangehechte bacteriën op te nemen in het overgangsepitheel. Het humane, aangeboren immuunsysteem reageert vervolgens op de aanwezigheid van UPEC door de herkenning van de bacteriële lipopolysacchariden, wat leidt tot een ontsteking van het weefsel en vernietiging van de bacteriën. Als reactie op de herkenning van het immuunsysteem kunnen UPEC-bacteriën verschillende signaalroutes onderdrukken om hun overlevingskansen te vergroten, zoals de NF-κB-signaalroute.<sup>6</sup> Tijdens een infectie spelen dus veel processen een rol, zowel bij de gastheer als bij de pathoogeen.

**ACHTERGROND VOOR POLYMICROBIËLE SAMENLEVINGEN EN INFECTIES**

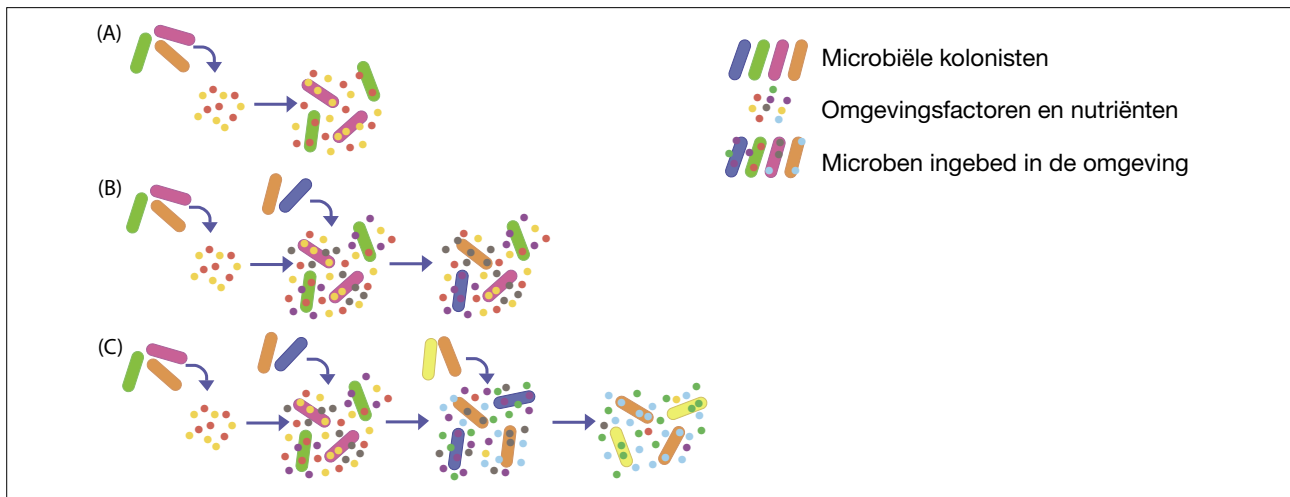
Pathogenen die een gastheer binnendringen, komen meestal ergens terecht waar al andere microben leven. Deze zijn bijvoorbeeld onderdeel van de microbiota (zie *Figuur 1B*), of ze zijn niet de enige microben die een locatie koloniseren. De microben in de microbiota hebben hun eigen plek in de



**FIGUUR 1.** Interacties microbe-microbe-gastheer: **(A)** interacties tussen gastheer en pathoogeen, **(B)** interacties tussen pathogenen en de commensale bacteriën van de microbiota, **(C)** interacties tussen de commensalen en de gastheer. Microben, andere microben en gastheer kunnen elkaar beïnvloeden via interacties, maar dit is niet altijd met dezelfde sterkte.

levensgemeenschap (niche). De ecologische niche omvat de milieucondities waaraan een ecosysteem moet voldoen om een gezonde populatie van een soort te onderhouden. Verschillende milieucondities kunnen beperkend zijn voor de groei van microben, zoals de zuurgraad of een gebrek aan bruikbare voedingsstoffen, en ook de aanwezigheid van andere microben. Als verschillende soorten microben dezelfde voedingsstof nodig hebben om te overleven, dan ontstaat competitie. De uitkomst van competitie kan de verdwijning van een soort betekenen, overleving van beide soorten met minder optimale groei, of de aanpassing van 1 of beide soorten naar een andere ecologische niche. Om een grotere kans op overleving te hebben, specialiseren microben zich vaak in een bepaalde niche waar minder competitie voorkomt, bijvoorbeeld door het creëren van sideroferen om meer toegang tot ijzer te krijgen in ijzerarme omgevingen.<sup>8</sup> De uitscheiding van (voedings)stoffen in het ecosysteem kan ook leiden tot nieuwe niches waarin weer andere microben kunnen floreren.

Meerdere hypothesen zijn gebaseerd op kennis uit de ecologie over hoe polymicrobiële samenlevingen worden gevormd.<sup>9</sup> Volgens de eerste hypothese worden gemeenschappen gevormd door wat in het lokale milieu beschik-



**FIGUUR 2.** Verschillende hypothesen over de vorming van polymicrobiële samenlevingen. **(A)** De beschikbare nutriënten en bestaande milieufactoren bepalen welke microben in de omgeving kunnen leven. **(B)** Net als bij A bepalen de bestaande milieufactoren en beschikbare nutriënten welke microben de omgeving kunnen koloniseren, maar deze kolonisten brengen veranderingen aan in het lokale milieu, wat ervoor zorgt dat ook andere microben in de omgeving kunnen leven. **(C)** Het lokale milieu verandert continu en hierdoor ook de beschikbare nutriënten en omgevingsfactoren. Hierdoor zullen ook de microbiële samenlevingen continu veranderen.

baar is (zie *Figuur 2A*).<sup>10</sup> De tweede hypothese gaat hier verder op in en stelt dat de eerste organismen die aanwezig zijn in het milieu de omgeving veranderen en op die manier bepalen welke andere soorten er ook kunnen leven (zie *Figuur 2B*).<sup>11</sup> De laatste hypothese stelt dat het lokale milieu continu verandert, en dus ook de beschikbare niches.<sup>12</sup> Hierdoor kunnen ook nieuwe bacteriën gevormde niches bezetten (zie *Figuur 2C*). Kortom: als een pathogeen arriveert in een microbiële ecosysteem in het lichaam, dan zal deze afhankelijk van het menselijk milieu en van de gevestigde microbiële gemeenschap kunnen overleven of niet.

Verder kunnen microben ook het humane immuunsysteem beïnvloeden, waar andere microben mogelijk weer van kunnen profiteren. De interacties tussen een pathogeen, de microbiële gemeenschap en de gastheer zijn erg belangrijk voor het ontstaan van infecties. Hier worden verschillende interacties besproken met ondersteuning van bestaande voorbeelden.

### INTERACTIE MICROBE-MICROBE

Bij een polymicrobiële infectie is het mogelijk dat een bacteriesoort een positieve interactie aangaat met een andere bacteriesoort, wat ervoor zorgt dat de pathogeen sneller groeit of meer kan produceren, zoals andere nutriënten of signaalmoleculen. Dit kan leiden tot een ernstigere infectie. Hier is dan niet noodzakelijk sprake van een directe invloed op de virulentie per bacterie, maar op de groei van de pathogeen. Zo kan in een polymicrobiële wondinfectie *Enterococcus faecalis* onder ijzerlimiterende condities L-ornithine uitscheiden, een meta-

boliet die de productie van de enterobactinsiderofoor verhoogt bij de pathogeen *E. coli*. Door de verhoogde productie van de siderofoor groeit *E. coli* beter, wat zorgt voor meer biofilmformatie. Dit leidt vervolgens tot een betere overleving van de pathogeen in de gastheer.<sup>8</sup>

De aanwezigheid van andere microben kan ook nadelig zijn voor een pathogeen. Dit wordt veroorzaakt door actieve aanvallen of onderdrukking van de groei door een andere bacteriesoort, zoals door het produceren van antimicrobiële middelen of door competitie voor nutriënten, waardoor de ecologische niche niet beschikbaar is.<sup>13,14</sup> Bekend is het gebruik van probiotica, waarbij bacteriën bescherming kunnen bieden tegen andere ziekmakende bacteriën. Een voorbeeld is het toedienen van de *E. coli* Nissle 1917-stam om de kolonisatie van *Salmonella typhimurium* in de darmen te belemmeren. Beide bacteriën gebruiken sideroforen om aan hun ijzerbehoefte te voldoen. De *E. coli*-stam kan hierbij *S. typhimurium* wegconcurreren door het ijzer efficiënter weg te vangen.<sup>15</sup> Andere bacteriën kunnen ook de pathogenese onderdrukken door het signaalsysteem van de pathogeen te inhiberen. Zo kan *Bacillus subtilis* de kolonisatie van de pathogeen *Staphylococcus aureus* in de darmen en neus tegengaan. Fengycinen, lipopeptiden die geproduceerd worden door *B. subtilis*, inhiberen het 'quorum sensing'-systeem van *S. aureus*. 'Quorum sensing' is het mechanisme waarmee bacteriën hun genexpressie, en daardoor hun gedrag, op elkaar kunnen afstemmen via signaalmoleculen. Afhankelijk van de populatiegrootte worden deze signaalmoleculen geproduceerd. Doordat de pathogeen niet meer de cor-

recte signalen door kan geven aan zijn soortgenoten, wordt zijn groei belemmerd. Zo leidt de inhibitie van dit signaal-systeem tot kleinere populaties van de pathoogeen en daarmee tot onderdrukking van de pathogenese.<sup>16</sup>

**INTERACTIE MICROBE-MICROBE-GASTHEER**

Een pathoogeen in zijn biotische en abiotische leefomgeving, en de interacties die daarbij horen, wordt het pathobioom genoemd.<sup>17</sup> Verschillende factoren kunnen invloed hebben op het pathoogeen worden van een microbe, waaronder de invloed van andere soorten op de productie van virulentiefactoren. Deze invloeden hebben vervolgens weer een effect op de gastheer (zie *Figuur 1A-C*). Zo reageert *Pseudomonas aeruginosa* in huidwonden op de aanwezigheid van peptidoglycanen van grampositieve bacteriën. De peptidoglycanen stimuleren de productie van antimicrobiële middelen en toxinen van *P. aeruginosa* met een werking tegen grampositieve prokaryoten en eukaryoten. Dit leidt niet alleen tot een vermindering van grampositieve bacteriën in de wond, maar ook tot een toegenomen lysis van gastheercellen.<sup>18</sup> In de long kunnen de microbiota ook invloed hebben op de pathogenese van *P. aeruginosa*, via het ‘quorum sensing’-mechanisme. Bacteriën die bij gezonde individuen gevonden worden in de luchtwegen, zoals *Staphylococcus* spp. en *Streptococcus* spp., verhogen de expressie van virulentiegenen van *P. aeruginosa* via ‘quorum sensing’-signaalmoleculen, wat zorgt voor verhoogde longschade bij co-infecties met *P. aeruginosa*.<sup>19</sup>

Pathogenen kunnen het immuunsysteem activeren, wat leidt tot een immunoreactie waarbij de pathoogeen wordt gedood of gestopt. Diverse pathogenen hebben echter manieren om het immuunsysteem te ontwijken of te inhiberen. Het is ook mogelijk dat de pathoogeen wordt beschermd door een ander organisme. Een voorbeeld hiervan speelt zich wederom af in de longen, waar de kans op een pneumonie veroorzaakt door *P. aeruginosa* verhoogd is in aanwezigheid van *Candida albicans*. Ondanks dat het immuunsysteem een verhoogde reactie geeft als beide microben aanwezig zijn, is in dit geval de overleving van de pathoogeen groter. *C. albicans* is namelijk in staat om de productie van reactieve zuurstofcomponenten (‘reactive oxygen species’) door de macrofagen in de longblaasjes te belemmeren, waardoor de groei van *P. aeruginosa* minder wordt geremd.<sup>20</sup> Een co-infectie kan ernstige gevolgen hebben voor patiënten. Een voorbeeld hiervan is invasieve pulmonale aspergillose in combinatie met een influenzapneumonie, waarbij de mortaliteit van niet-immuungecompromitteerde patiënten op de IC oploopt tot 50%.<sup>21</sup> Mogelijk komt dit doordat influenza necrose kan veroorzaken van het bronchiale slijmvlies en fagocytose door alveolaire macrofagen kan onderdrukken.

Hierdoor kan *Aspergillus* de luchtwegen gemakkelijker binnendringen en de macrofagen omzeilen.<sup>22</sup>

Bij recidiverende urineweginfecties spelen andere microben eveneens een rol bij de interactie tussen gastheer en microbe; een microbe van het vaginaal microbiom, *Gardnerella vaginalis*, kan apoptose van het blaasepitheel induceren, waarin zich UPEC bevinden. Deze inductie leidt tot een exfoliatie van de epitheelcellen en het opnieuw vrijkomen van *E. coli*. *G. vaginalis* kan dus zorgen voor een opleving van recidiverende urineweginfecties zonder zelf pathoogeen te zijn.<sup>7</sup>

**EFFECT VAN MICROBIËLE INTERACTIES OP DE BEHANDELING VAN INFECTIES**

Een groeiend probleem bij het behandelen van bacteriële infecties is antibioticaresistentie. De evolutie van resistentie, waardoor het antibioticum niet meer effectief werkt, is mogelijk via genetische veranderingen, bijvoorbeeld door de overdracht van resistentiegenen of mutaties in het genoom. Daarnaast kan de overleving van pathogenen in aanwezigheid van antibiotica ook worden verhoogd door omgevingsfactoren, bijvoorbeeld door de levensgemeenschap van de pathoogeen. De tolerantie voor een antibioticum kan bijvoorbeeld worden verhoogd als een microbesoort een andere soort beschermt door afscherming of het inactiveren van het antibioticum. In het geval van een polymicrobiële infectie waarbij sprake is van een biofilm van *S. aureus* en *C. albicans*, kan *S. aureus* toleranter zijn voor vancomycine. Als dit gebeurt, is de concentratie vancomycine niet hoog genoeg om de infectie te genezen en is er, naast vancomycine, ook een fungicide nodig om de groei van *C. albicans* te hinderen.<sup>23</sup> Daarnaast is het mogelijk dat de pathoogeen ingebed is in een gemeenschap, zoals een pathogene *E. coli* in de darmflora. Dit heeft tot gevolg dat de minimale inhiberende concentratie (MIC) voor antibiotica wordt verhoogd. Een verhoging van de MIC kan worden veroorzaakt door een beschermend effect van de levensgemeenschap, zoals de vorming van biofilms, of door de intra- en extracellulaire chemische modificatie van het antibioticum door leden van de microbiële gemeenschap.<sup>24</sup> Een verandering van de gevoeligheid voor antibiotica is onder andere gezien voor pathogenen geïsoleerd uit urineweginfecties, waarbij de tolerantie voor antibiotica verhoogd was als deze samen groeiden met bepaalde andere microben, zoals een pathogene *S. aureus* die samen groeide met *Proteus mirabilis*.<sup>25</sup> De moleculaire mechanismen van deze tolerantie-interacties zijn nog niet voor alle bacteriën opgehelderd. Een risico dat ontstaat wanneer de evolutionaire selectieve druk te laag is om de groei van een pathoogeen te inhiberen of de pathoogeen te doden is dat de pathoogeen genetisch resistent kan worden tegen het antibioticum, waardoor de bacterie minder gevoelig of ongevoelig is voor het antibioticum.<sup>26</sup>

## AANWIJZINGEN VOOR DE PRAKTIJK

- 1 Infecties worden niet noodzakelijk door slechts 1 microbe veroorzaakt. Microben uit de omgeving kunnen een rol spelen bij het verloop van een infectie.**
- 2 Microben uit een levensgemeenschap in een gastheer kunnen de sensitiviteit van pathogenen voor antibiotica veranderen.**
- 3 Diagnosen waarbij alleen wordt geselecteerd voor de (bekende) pathogeen missen mogelijk informatie over de microbiële omgeving, die de behandeling kan beïnvloeden.**

## EFFECTIVITEIT BEHANDELING

De manier waarop microben een interactie met elkaar aangaan, kan ook verklaren waarom sommige behandelingen effectief zijn of juist niet. Het is bijvoorbeeld mogelijk dat een infectie na een behandeling terugkomt. Deze kan worden veroorzaakt door dezelfde bacteriesoort(en), ondanks dat de symptomen waren afgenomen of zelfs verdwenen. De bacterie heeft dan in kleine aantallen de behandeling overleefd, wat kan gebeuren als deze bijvoorbeeld een biofilm heeft gevormd met andere bacteriën, of omdat populaties worden beschermd door de ecologische gemeenschap waarin deze leven.<sup>25</sup> Na de behandeling kunnen de overgebleven pathogenen zich weer vermeerderen. Omdat deze een plaats in het ecosysteem hadden ingenomen, hun eigen niche, hebben ze de ruimte om zich weer te vermeerderen tot een grotere populatie. Daarnaast is het mogelijk dat, ondanks dat een pathogeen in isolatie vatbaar is voor een antibioticum, deze behandeling niet aanslaat. Interacties met de omgeving kunnen een rol spelen bij het overleven van zulke behandelingen. Dit geeft een indicatie dat de behandelmethode gebaseerd op metingen in isolatie niet altijd optimaal zijn.

## 'METAGENOMIC SEQUENCING'

Een nieuwe strategie voor de diagnostiek van (polymicrobiële) infecties is het gebruik van 'metagenomic sequencing'.<sup>27</sup> 'Metagenomic sequencing' haalt het kweken van bacteriën weg uit het proces en bekijkt ongeselecteerd de aanwezige microben in een monster van een patiënt, door het analyseren van al het aanwezige DNA in het monster. Het is minder selectief dan kweken, omdat met de huidige technieken nog niet alle bacteriën kunnen worden gekweekt. Met kweken worden vooral de bacteriën vermeerderd die goed groeien in het kweekmedium.

Daarnaast heeft '(meta)genomic sequencing' de potentie om te laten zien welke antibioticaresistenties in de microbiële samenleving aanwezig zijn.<sup>28</sup> Voor deze methode is echter nog meer informatie vereist over de codering van antimicrobiële resistentie in het DNA.<sup>29</sup> De causaliteit tussen de infectie en de geïdentificeerde micro-organismen is ook hier niet

helemaal duidelijk. Het is bijvoorbeeld mogelijk dat microben die in de geïdentificeerde gemeenschap aanwezig zijn, geen rol spelen bij de polymicrobiële infectie. Daarnaast is het (nog) niet mogelijk om met '(meta)genomic sequencing' de gevoeligheid voor antibiotica aan te tonen, terwijl kweekproeven daar juist geschikt voor zijn.<sup>30</sup> Methoden met '(meta)genomics' zullen dus in eerste instantie voornamelijk kunnen worden gebruikt ter aanvulling op de huidige kweekmethoden.

## CONCLUSIE

De omgeving kan op veel manieren invloed hebben op het verloop van een infectie. Verscheidene ecologische processen kunnen ervoor zorgen dat de groei en virulentie van een pathogeen wordt versterkt of verzwakt. Voorbeelden zijn microben die metabolieten uitscheiden waar pathogenen van profiteren, microben die onderdelen van het immuunsysteem kunnen onderdrukken waardoor pathogenen meer ruimte hebben om te groeien, of microben die pathogenen kunnen beschermen tegen antibiotica. Het is daarom relevant om infecties te bekijken vanuit een ecologisch perspectief om polymicrobiële samenlevingen beter te begrijpen. Voor de behandeling van polymicrobiële infecties zullen de diagnostiek en behandelingen zo ingesteld moeten zijn dat deze rekening houden met de omgevingsfactoren die invloed kunnen hebben. Het is daarom nog een opgave om beter inzicht te krijgen in welke factoren belangrijk zijn voor specifieke infecties. Dit vraagt om een interdisciplinaire aanpak, zodat in de toekomst de effectiviteit van behandelingen kan worden verhoogd en de kans op antibioticaresistentie wordt verlaagd.

## REFERENTIES

1. Koch R. An address on bacteriological research. *Br Med J* 1890;2:380.
2. Brogden KA, Guthmiller JM, Taylor CE. Human polymicrobial infections. *Lancet* 2005;365:253-5.
3. Kau AL, Hunstad DA, Hultgren SJ. Interaction of uropathogenic *Escherichia coli* with host uroepithelium. *Curr Opin Microbiol* 2005;8:54-9.
4. Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Am J Med* 2002;113:5-13.

5. Mulvey MA, Schilling JD, Hultgren SJ. Establishment of a persistent *Escherichia coli* reservoir during the acute phase of a bladder infection. *Infect Immun* 2001;69:4572-9.
6. Tato CM, Hunter CA. Host-pathogen interactions: subversion and utilization of the NF- $\kappa$ B pathway during infection. *Infect Immun* 2002;70:3311-7.
7. Gilbert NM, O'Brien VP, Lewis AL. Transient microbiota exposures activate dormant *Escherichia coli* infection in the bladder and drive severe outcomes of recurrent disease. *PLoS Pathog* 2017;13:e1006238.
8. Keogh D, Tay W, Ho Y, et al. Enterococcal metabolite cues facilitate interspecies niche modulation and polymicrobial infection. *Cell Host Microbe* 2016;20:493-503.
9. De Vos MG, De Visser JA, Rossen JW, et al. Polymicrobiële infecties: ecosystemen met bijzondere eigenschappen. *Ned Tijdschr Geneesk* 2018;162:36-8.
10. Cavender-Bares J, Kozak KH, Fine PV, et al. The merging of community ecology and phylogenetic biology. *Ecol Lett* 2009;12:693-715.
11. Walter J, Ley R. The human gut microbiome: ecology and recent evolutionary changes. *Annu Rev Microbiol* 2011;65:411-29.
12. Emerson BC, Gillespie RG. Phylogenetic analysis of community assembly and structure over space and time. *Trends Ecol Evol* 2008;23:619-30.
13. Markelova NY. Predacious bacteria, *Bdellovibrio* with potential for biocontrol. *Int J Hyg Environ Health* 2010;213:428-31.
14. Kamada N, Chen GY, Inohara N, et al. Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota. *Nat Immunol* 2013;14:685.
15. Deriu E, Liu JZ, Pezeshki M, et al. Probiotic bacteria reduce *Salmonella typhimurium* intestinal colonization by competing for iron. *Cell Host Microb* 2013;14:26-37.
16. Plewngam P, Zheng Y, Nguyen TH, et al. Pathogen elimination by probiotic *Bacillus* via signalling interference. *Nature* 2018;562:532.
17. Vayssier-Taussat M, Albina E, Citti C, et al. Shifting the paradigm from pathogens to pathobiome: new concepts in the light of meta-omics. *Front Cell Infect Microbiol* 2014;4:29.
18. Korgaonkar A, Trivedi U, Rumbaugh KP, et al. Community surveillance enhances *Pseudomonas aeruginosa* virulence during polymicrobial infection. *P Natl Acad Sci* 2013;110:1059-64.
19. Duan K, Dammel C, Stein J, et al. Modulation of *Pseudomonas aeruginosa* gene expression by host microflora through interspecies communication. *Mol Microbiol* 2003;50:1477-91.
20. Roux D, Gaudry S, Dreyfuss D, et al. *Candida albicans* impairs macrophage function and facilitates *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia in rat. *Crit Care Med* 2009;37:1062-7.
21. Shah MM, Hsiao EI, Kirsch CM, et al. Invasive pulmonary aspergillosis and influenza co-infection in immunocompetent hosts: case reports and review of the literature. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2018;91:147-52.
22. Clancy CJ, Nguyen MH. Acute community-acquired pneumonia due to *Aspergillus* in presumably immunocompetent hosts: clues for recognition of a rare but fatal disease. *Chest* 1998;114:629-34.
23. Harriott MM, Noverr MC. Ability of *Candida albicans* mutants to induce *Staphylococcus aureus* vancomycin resistance during polymicrobial biofilm formation. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54:3746-55.
24. Klümper U, Recker M, Zhang L, et al. Selection for antibiotic resistance is reduced when embedded in a natural microbial community. *ISME J* 2019;529651.
25. De Vos MG, Zagorski M, McNally A, et al. Interaction networks, ecological stability, and collective antibiotic tolerance in polymicrobial infections. *P Natl Acad Sci* 2017;114:10666-71.
26. Andersson DI, Hughes D. Evolution of antibiotic resistance at non-lethal drug concentrations. *Drug Resist Updat* 2012;15:162-72.
27. Janes VA, Matamoros S, Willemse N, et al. Metagenomic sequencing to replace semi-quantitative urine culture for detection of urinary tract infections: a proof of concept. *bioRxiv* 2017:178178.
28. Nakamura S, Maeda N, Miron IM, et al. Metagenomic diagnosis of bacterial infections. *Emerg Infect Dis* 2008;14:1784.
29. Jia B, Raphenya AR, Alcock B, et al. CARD 2017: expansion and model-centric curation of the comprehensive antibiotic resistance database. *Nucleic Acids Res* 2016:gkw1004.
30. Andersen SB, Shapiro BJ, Vandenbroucke-Grauls C, et al. Microbial evolutionary medicine: from theory to clinical practice. *Lancet Infect Dis* 2019;19:E273-83.