

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA

Juliana da Silva Oliveira

“Efeito Rebanho” do Uso de Antimicrobianos e Fatores de Risco para Aquisição Nosocomial de Bacilos Gram-Negativos Resistentes aos Carbapenems

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora pelo Programa de Doenças Tropicais.

Orientador: Prof. Assoc. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

- Botucatu, Agosto de 2021 -

Juliana da Silva Oliveira

“Efeito Rebanho” do Uso de Antimicrobianos e Fatores de Risco para Aquisição Nosocomial de Bacilos Gram-Negativos Resistentes aos Carbapenems

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora pelo programa de Doenças Tropicais

Orientador: Prof. Associado Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

Botucatu, Agosto de 2021

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Oliveira, Juliana da Silva.

Efeito rebanho do uso de antimicrobianos e fatores de risco para aquisição nosocomial de bacilos gram-negativos resistentes aos carbapenems / Juliana da Silva Oliveira. - Botucatu, 2021

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

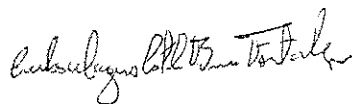
Orientador: Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza
Capes: 40101096

1. antimicrobianos. 2. Carbapenêmicos. 3. Bacilos gram-negativos. 4. Infecção hospitalar. 5. Infecções nosocomiais. 6. Contaminação.

Palavras-chave: Bacilo gram negativo; Carbapenems; Efeito-rebanho.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE JULIANA DA SILVA OLIVEIRA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS, DA FACULDADE DE MEDICINA - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 27 dias do mês de agosto do ano de 2021, às 14:30 horas, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de JULIANA DA SILVA OLIVEIRA, intitulada **"EFEITO DE REBANHO" DO USO DE ANTIMICROBIANOS E FATORES DE RISCO PARA AQUISIÇÃO NOSOCOMIAL DE BACIOS GRAM-NEGATIVOS RESISTENTES AOS CARBAPENÊMICOS**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. CARLOS MAGNO CASTELO BRANCO FORTALEZA (Orientador(a) - Participação Virtual) do(a) Depto. de Infectologia, Dermatologia, Diagnóstico por Imagem e Radioterapia / FM/Botucatu - Unesp, Prof. Dr. EDUARDO ALEXANDRINO SERVOLO DE MEDEIROS (Participação Virtual) do(a) Depto. de Medicina / EPM/São Paulo - Unifesp, Prof. Dr. ELISEU ALVES WALDMAN (Participação Virtual) do(a) Depto. de Epidemiologia / FSP/São Paulo - USP, Profa. Dra. THÁIS GUIMARÃES (Participação Virtual) do(a) Subcomissão de Controle de Infecção Hospitalar do Instituto Central do Hospital das Clínicas (SCCIH-ICHC) / FM/São Paulo - USP, Profa. Dra. SILVIA FIGUEIREDO COSTA (Participação Virtual) do(a) Depto. de Moléstias Infecciosas e Parasitárias / FM/São Paulo - USP. Após a exposição pela doutoranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: APROVADA. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.



Prof. Dr. CARLOS MAGNO CASTELO BRANCO FORTALEZA

SUMÁRIO

RESUMO.....	6
PALAVRAS-CHAVE.....	8
ABSTRACT.....	10
KEYWORDS.....	11
INTRODUÇÃO.....	13
USO DE ANTIBIÓTICOS E RESISTÊNCIA.....	13
EFEITO DE REBANHO.....	15
CAUSALIDADE.....	17
USO DE GRÁFICOS ACÍCLICOS DIRECIONADOS NO RACIOCÍNIO CAUSAL.....	20
MODELO DE CAUSAS SUFICIENTES DE ROTHMANN.....	24
ESTUDOS ECOLÓGICOS <i>VERSUS</i> ESTUDOS DE BASE INDIVIDUAL.....	26
OBJETIVOS.....	29
MÉTODO.....	31
LOCAL DO ESTUDO.....	31
PERÍODO DO ESTUDO.....	32
POPULAÇÃO ALVO.....	32
ASPECTOS OPERACIONAIS E DESFECHOS.....	32
ESTUDO ECOLÓGICO.....	34
ESTUDO DE COORTE.....	35

RESULTADOS.....	39
DISCUSSÃO	50
CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS.....	60

Resumo

RESUMO

Justificativa: Embora o efeito populacional do uso de antimicrobianos sobre a emergência e disseminação de patógenos resistentes, faltam estudos que abordem de forma empírica essa associação.

Objetivo: Medir o impacto da exposição a pacientes ao uso de carbapenems, na aquisição de bacilos Gram-negativos (BGN) resistentes a carbapenems (CR), entre pacientes que não usam carbapenems.

Delineamento: Um estudo ecológico e um estudo de coorte.

Local do Estudo: Duas unidades de terapia intensiva (UTIs) médico-cirúrgicas no interior do Brasil.

Participantes: Pacientes internados em duas UTIs de 2013 a 2018 para os quais carbapenems não foram prescritos.

Métodos: No estudo ecológico, o uso mensal de carbapenems (em dias de terapia [DOT] por 1.000 pacientes-dia) foi testado para correlação linear com a média móvel de dois meses de incidência de infecções ou colonizações por BGN-RC entre os pacientes para os quais os carbapenems não foram prescritos. No estudo de coorte,

esses pacientes foram tratados individualmente para fatores de risco (dados demográficos, intervenções invasivas, uso de antimicrobianos) para infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) ou colonização por BGN-RC, incluindo o tempo de risco e a pressão de carbapenems, descritos como o número agregado de DOTs entre outros pacientes de UTI, durante o tempo de risco. A análise foi realizada em modelos de regressão de Poisson univariados e multivariados.

Resultados: O modelo de regressão linear encontrou associação entre o uso total de carbapenems e a incidência de IRAS ou colonização por BGN-RC (coeficiente, 0,04; intervalo de confiança de 95% [IC], 0,02-0,06; $P = 0,001$). No modelo de coorte, a Razão de Taxa ajustada (RR) para carbapenems em DOT foi de 1,009 (IC de 95%, 1,001-1,018; $P = 0,03$). Outros fatores de risco significativos foram ventilação mecânica e uso prévio de ceftazidima (com ou sem avibactama).

Conclusão: O uso total de carbapenems na UTI foi independentemente associado à aquisição de BGN-RC por pacientes que não usaram carbapenems. Houve evidência de um “efeito de rebanho” do uso de antimicrobianos nas UTIs.

PALAVRAS-CHAVE

Resistência a carbapenem, bacilos Gram-negativos, Estudo ecológico, Efeito de rebanho

Abstract

ABSTRACT

Background: Even though the populational impact of antimicrobial use on the emergence and spread of drug-resistant pathogens has been hypothesized, there has been no empiric studies to corroborate that hypothesis.

Objective: To measure the impact of exposure to patients using carbapenem on the acquisition of carbapenem-resistant (CR) gram-negative bacilli (GNB) among patients not using carbapenems.

Design: An ecological study and a cohort study.

Setting: Two medical surgical intensive care units (ICUs) in inner Brazil. *Participants:* Patients admitted to two ICUs from 2013 through 2018 to whom carbapenem was not prescribed.

Methods: In the ecologic study, the monthly use of carbapenems (in days of therapy [DOT] per 1,000 patient-days) was tested for linear correlation with the two-months moving average of incidence healthcare associated infection (HAI) or colonization by RC-BGN among patients to whom carbapenem was not prescribed. In the cohort study, those patients were addressed individually for risk factors (demographics, invasive interventions, use of antimicrobials) for CR-GNB healthcare-associated infection or colonization, including

time at risk and the carbapenem pressure, described as the aggregate number of DOTs among other ICU patients during time at risk. The analysis was performed in univariate and multivariable Poisson Regression Models.

Results: The linear regression model found association of total carbapenem use and incidence of CR-GNB bloodstream infections (coefficient, 0.04; 95% Confidence Interval [CI], 0.02-0.06; $P=.001$). In the cohort model, the adjusted Rate Ratio (RR) for carbapenem DOT was 1.009 (95%CI, 1.001-1.018; $P=.03$). Other significant risk factors were mechanical ventilation and the previous use of ceftazidime (with or without avibactam).

Conclusion: The total use of carbapenems in the ICU was independently associated with acquisition of CR-GNB by patients who did not use carbapenems. There was evidence for a “herd effect” of antimicrobial use in the ICUs.

KEYWORDS

Carbapenem resistance, Gram-negative bacilli, Ecological study, Herd effect

Introdução

INTRODUÇÃO

USO DE ANTIBIÓTICOS E RESISTÊNCIA

A resistência de bactérias a antimicrobianos representa um risco global à saúde das populações.¹ Microrganismos multidroga-resistentes (MDR) são causa relevante de infecções graves, com opções terapêuticas restritas e elevada mortalidade.² Fenótipos de multidroga-resistência tem emergido com frequência crescente, com rápida disseminação intercontinental.³

Os determinantes desse fenômeno são complexos, e incluem a intensa exposição aos antimicrobianos em cenários que vão da prática clínica⁴ à agricultura e pecuária.^{5,6} Entre agentes MDR de maior relevância clínica, destacam-se os bacilos Gram-negativos resistentes aos carbapenems (BGN-RC).

Essa classe de drogas, por muito tempo considerada “a última opção” para tratamento de infecções graves em serviços de saúde, teve sua eficácia progressivamente reduzida nos últimos anos.⁷ Não por acaso, a Organização Mundial da Saúde (OMS)⁸ e o Centro de Controle de Doenças dos Estados Unidos (CDC)⁹ apontam os BGN-

RC como patógenos prioritários para ações de prevenção e controle e pesquisa de novos antimicrobianos. No Brasil, os BGN-RC são hiperendêmicos como causa de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS, anteriormente denominadas “infecções hospitalares”), especialmente nas Unidades de Terapia Intensiva (UTI).¹⁰ Métodos de barreira (isolamentos, higiene das mãos) e restrição do uso de carbapenems tem sido recomendados como medidas de prevenção e controle desses patógenos.¹¹ Intervenções sobre prescrição de antimicrobianos (carbapenems e outros) fazem parte do conceito de *antimicrobial stewardship* (termo sem tradução exata, mas que pode ser apropriadamente compreendido como um conjunto de ações educativas e restritivas sobre a administração desses medicamentos).¹²

O direcionamento apropriado do *antimicrobial stewardship* requer a compreensão da associação “uso-resistência”. Esta, porém não é linear. Envolve mecanismos de ação direta (individual) e indireta (populacional).⁵ Um deles, proposto em teoria, mas nunca explorado em estudos epidemiológicos de resistência, é o “efeito de rebanho”.¹³

O fenômeno do “efeito de rebanho” é bem conhecido no contexto das imunizações (vacinações) em massa. Frequentemente denominada “imunidade de rebanho”, ela ocorre quando uma grande proporção da população é imunizada, o que afeta a dinâmica de

transmissão de microrganismos. Nesse contexto, mesmo aqueles que não foram imunizados (vacinados) são protegidos devido à interrupção da circulação do agente infeccioso.^{14,15}

EFEITO DE REBANHO

Efeito populacional indireto, também conhecido como “efeito de rebanho”, pode ocorrer como consequência da imunização de uma parcela da população, causando a diminuição da transmissão de uma determinada doença, foco do imunizante, mesmo entre os não vacinados. Em outras palavras, há menor incidência da doença também nas pessoas não vacinadas, como consequência da vacinação.¹⁶

Porém o efeito rebanho também pode acontecer em situações diferentes da citada, quando ocorre algum tipo de intervenção em uma parcela da população e os demais, que não sofreram a intervenção direta, também sofrem as consequências, que podem ser benéficas ou não. Um exemplo é o tratamento precoce da tuberculose pulmonar. Neste caso, não ocorre imunização de

indivíduos, mas a intervenção (o tratamento) protege outros, pois é interrompido o processo de propagação.¹⁶

No caso desta tese, o efeito rebanho é posto como hipótese da consequência da administração de carbapenems (intervenção) em uma parcela da população (expostos), pois, em teoria, os não expostos (não receberam carbapenems) que permanecem no mesmo ambiente de internação dos expostos tem chances aumentadas de evoluírem com colonização ou infecção por bactérias resistentes a carbapenems.

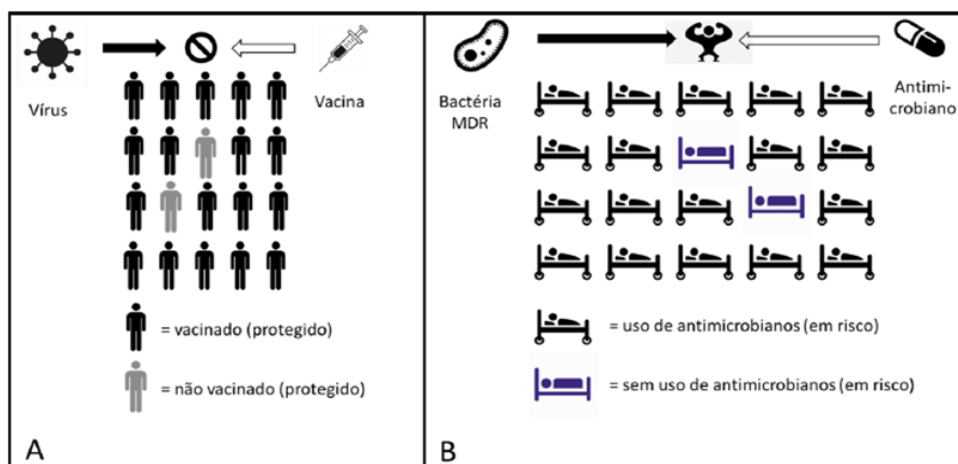


Figura 1. Representação do racional teórico da hipótese deste estudo. Assim como as vacinas impedem a circulação de patógeno na população, protegendo mesmo aqueles não vacinados (A), o uso de antimicrobianos intensifica a circulação de microrganismos multidroga-resistentes (MDR), pondo em risco mesmo aqueles que não utilizaram esses medicamentos (B).

Tentaremos ao longo desta tese demonstrar este “efeito rebanho” e sua posição na cadeia causal de disseminação de BGN-RC.

CAUSALIDADE

Em ensaios clínicos controlados e randomizados (ECR), os fatores causais são facilmente identificados, os vieses são reduzidos^{*}. Porém em muitos dos eventos que se tem interesse em encontrar causas, não há possibilidade em utilizar esta metodologia de estudo e há a necessidade de realizar estudos observacionais.¹⁷

Austin Bradford Hill desenvolveu seus conceitos sobre causalidade durante os anos 1950 e início dos anos 1960, quando realizou estudos observacionais e tentou inferir se a exposição a um determinado local de trabalho poderia causar certo dano à saúde e se fumar poderia causar câncer de pulmão.^{18,19}

^{*} Referimo-nos aqui aos vieses relacionados à validade interna. A validade externa dos ECR tem sido repetidamente questionada na literatura, uma vez que os participantes em geral não representam uma parcela representativa da comunidade (Bluhm R, Borgerson K. Evidence-based medicine. In: Guifford F (Editor). Philosophy of Medicine. Elsevier, 2011: 203-238; Broadben A. Philosophy of Medicine. Oxford University Press, 2019).

Estes conceitos foram tão úteis que, após 70 anos, alguns ainda são utilizados para mostrar que uma exposição pode ter uma relação causal para determinado resultado. No entanto, muito foi feito desde então para melhorar nossa capacidade de estabelecer conexões causais.¹⁷

Hill sugeriu que fossem observados alguns aspectos para distinguir uma associação causal de uma associação não causal. Os aspectos ou “Critérios de Hill” e suas definições são apresentados a seguir¹⁷:

- **Força:** quanto maior o valor da medida de associação (exemplo, “Risco Relativo” ou “*Odds Ratio*”) maior a evidência de causalidade.
- **Consistência:** a observação repetida da associação em diferentes populações reforça a teoria causal.
- **Especificidade:** a relação de uma única causa com um único efeito reforça a causalidade.[†]
- **Temporalidade:** a causa sempre precede o efeito.
- **Gradiente biológico:** quanto maior a exposição à suposta causa, maior a intensidade do efeito.

[†] O critério de especificidade tem sido intensamente criticado por Rothmann, que lembra o exemplo do tabagismo, que é associado a múltiplos desfechos (não tem especificidade) e nem por isso é menos causal. Lash TL, VanderWeelen TJ, Haneuse S, Rothman KJ. *Modern Epidemiology*. 4ª ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2021.

- **Plausibilidade:** a causa proposta é biologicamente plausível.
- **Coerência:** a causa proposta é coerente com o conhecimento estabelecido.
- **Evidência experimental:** estudos em que se manipula a causa para detectar efeito (exemplo, ECR) tem maior poder de identificar causas que aqueles observacionais.
- **Analogia:** a associação causa e efeito proposta encontra analogia com outros fenômenos já estabelecidos.[‡]

Considera-se que o quarto aspecto, a temporalidade, é essencial para explicações causais, pois a causa deve preceder o efeito. Porém, dentre os aspectos colocados, não há critério necessário e suficiente para determinar se uma associação observada é causal. Em outras palavras, *somente o cumprimento dos critérios de Hill é insuficiente para afirmação definitiva de uma relação causal.*

Esta afirmação vai de encontro com as colocações de muitos estudiosos que criticam a ideia de encontrar causas para efeitos.¹⁸ É verdade que estudos observacionais são carregados de vieses e fatores confundidores e por isso há a necessidade de lançar mão de artifícios de estatística, como regressão logística, para tratá-los.¹⁷

[‡] Rothmann é particularmente mordaz na crítica a esse critério: “a depender da criatividade do pesquisador, encontra-se analogia em qualquer coisa” (referência acima).

USO DE GRÁFICOS ACÍCLICOS DIRECIONADOS NO RACIOCÍNIO CAUSAL

O uso de gráficos acíclicos direcionados ou *directed acyclic graph* (DAGs) está se tornando cada vez mais comum para inferência causal em epidemiologia, pois auxiliam na compreensão conceitual, identificação de fatores confundidores e vieses.^{18,19}

Os modelos DAG podem codificar sucintamente nossas informações sobre associações e independências entre variáveis. Eles são modelos que explicam essas associações e independências quando a presença de uma seta é considerada como implicando a presença de um mecanismo causal que vai da variável pai à variável filho. Especificamente, um gráfico é causal se cada seta representa a presença de um efeito da variável pai (causal) na variável filha (afetada). Todas as setas estão, portanto, na direção temporal: uma variável pai sempre ocorre antes de uma variável filha.

Em um gráfico causal, um caminho direcionado representa um caminho causal, e uma seta X para Y representa um efeito direto de X em Y dentro do gráfico - o que significa que a seta representa um efeito que não é transmitido (mediado) através de qualquer outra

variável no gráfico. A ausência de uma seta de X para Y no gráfico corresponde à hipótese nula causal de que nenhuma alteração da distribuição de X poderia alterar a distribuição de Y, quando todas as outras variáveis no gráfico são fixas (figura 2).¹⁹

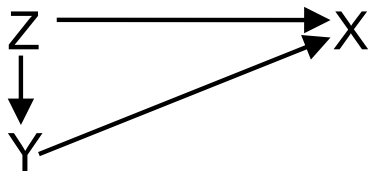


Figura 2: Demonstração de Gráfico Acíclico Direcionado (DAG)

Diversos aspectos dos DAGs merecem discussão pormenorizada, e estão diretamente vinculados ao racional teórico desta tese^{20,21}:

- Variáveis parentais e variáveis filhas: refletem uma relação direcionada (figura 3).

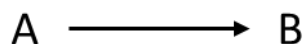


Figura 3: Demonstração de parentalidade em um DAG.

- Colisores: variáveis-“filhas” que estão associadas a duas ou mais variáveis parentais (figura 4).

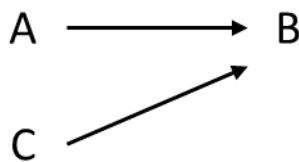


Figura 4: Neste DAG, a variável B é um colisor das variáveis A e C, que apresentam ambas uma relação causal.

- Variáveis d-unidas e d-separadas: em um DAG complexo, esses termos representam a participação ou não em um mesmo caminho causal (figura 5).

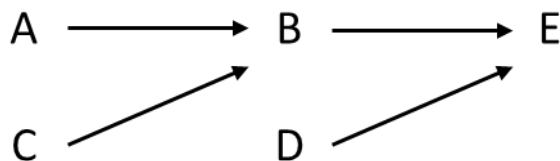


Figura 5: No caminho causal apresentado acima, A e C são “d-unidas” com B, B e E são “d-unidas” com E, porém C é “d-separada” de D, ou seja, as duas variáveis não tem nenhuma relação causal entre si.

- Diferença entre “caminho causal” e “confundimento”: um caminho causal representa uma sequência de causas, enquanto um confundimento ocorre quando uma variável não analisada e associada tanto à causa quanto ao desfecho é a que de fato atua no vínculo causal (Figura 6).

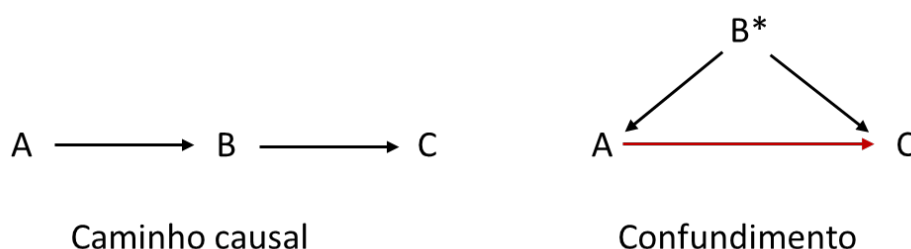


Figura 6. No DAG à esquerda, A e B são de fato associados a C, por uma sequência de causas. No da direita, identificamos estatisticamente uma associação entre A e C (mostrada em vermelha), que são de fato d-separadas, ou seja, não associadas. Porém uma variável não levada em conta, B, é d-unida tanto a A quanto a C. Chamamos B de confundidor e a associação espúria entre A e C de “confundimento”.

Chamamos especial atenção à diferença apresentada na figura 6. Modelos multivariados são em geral aplicados para identificar e corrigir confundimentos. Porém se alimentadas com variáveis de um “caminho causal”, tenderá a analisa-las como se fossem concorrentes, uma confundindo a outra. Essa é uma demonstração da importância dos modelos gráficos para guiar análises estatísticas e sua interpretação.²⁰

MODELO DE CAUSAS SUFICIENTES DE ROTHMANN

O modelo de causas de componentes suficientes (*sufficient-component cause* - SCC), de Rothmann conceitua causalidade como um conjunto de diferentes componentes como causa para a ocorrência de um resultado. O conjunto destes componentes necessários é denominado de causa suficiente. Isto é, cada causa suficiente é concebida como um conjunto de componentes (causas componentes), considerando que, se todos os componentes estiverem presentes, a causa é suficiente e o resultado ocorre.¹⁸ Assim, cada evento é consequência de um “modelo suficiente”, e se um componente existe em todos os modelos suficientes é chamado de “necessário” (figura 7).

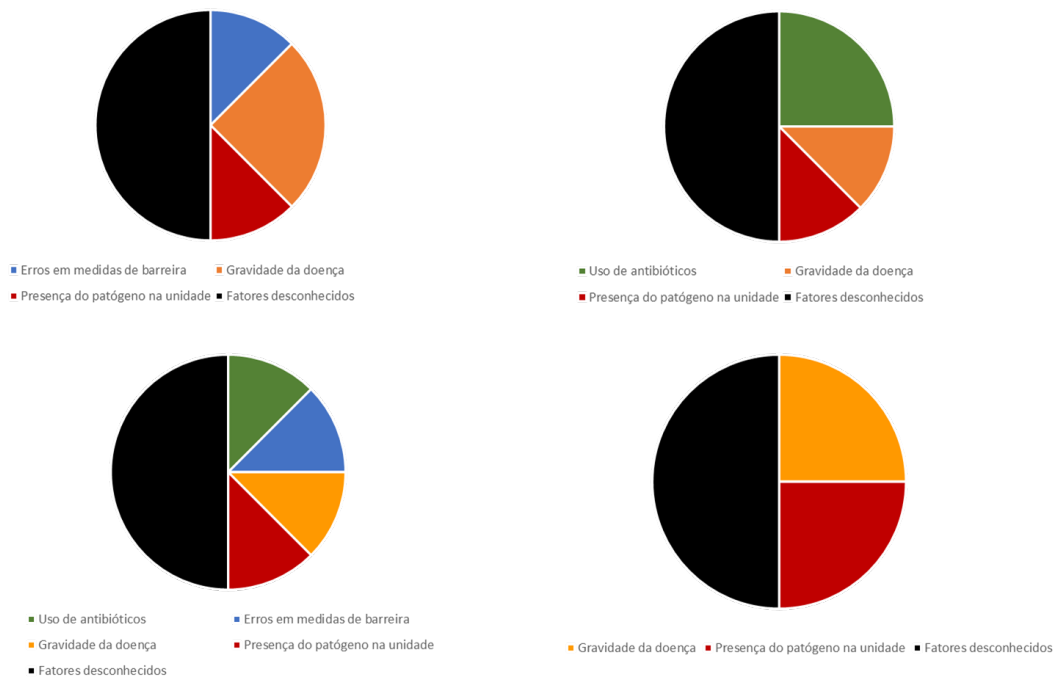


Figura 7. A figura representa diversos modelos de causas suficientes para aquisição de patógeno multidroga-resistente em uma Unidade de Terapia Intensiva. Note-se que em todos os modelos há uma grande quantidade de fatores desconhecidos (mostrados em preto). Porém os fatores diferentes se combinaram diversamente para gerar o efeito (ou seja, são diferentes “modelos suficientes”. Por outro lado, a presença do patógeno circulando na unidade (mostrada em vermelho) faz parte de todos os modelos suficientes, e é por isso chamada de “componente necessário”.

ESTUDOS ECOLÓGICOS *VERSUS* ESTUDOS DE BASE INDIVIDUAL

Um estudo ecológico ou agregado concentra-se na comparação de grupos, ao invés de indivíduos. Este tipo de estudo é criticado por ser carregado de vieses, fatores confundidores, classificação incorreta dentro dos grupos e a possibilidade de migração entre grupos.²²

O principal problema do estudo ecológica é que a agregação de dados reduz informações e essa perda geralmente impede a identificação de associações de interesse no modelo de nível individual subjacente.²³

Talvez a melhor solução para esses problemas seja incorporar medidas de nível individual e ecológicas na mesma análise. ^{22,23} Morgenstern, em 1995 já referiu o “efeito rebanho”, no caso de vacinação, como exemplo de estudo no qual pode-se extrair dados individuais de resposta imunológica, e também realizar estudos ecológicos relacionados aos indivíduos que foram beneficiados da proteção vacinal sem terem recebido o imunizante.²³

Este exemplo foi seguido para o desenvolvimento deste estudo, porém outro tipo de “efeito rebanho” foi tratado, como referimos anteriormente.

Objetivos

OBJETIVOS

- Identificar o “efeito de rebanho”, definido como impacto da exposição a pessoas em uso de **carbapenems**, sobre o risco de aquisição de bacilos Gram-negativos resistentes (BGN-RC), em pacientes que não utilizaram essa classe de medicamentos.
- Identificar outros fatores de risco associados à aquisição de BGN-RC em pacientes que não receberam **carbapenems** durante a internação.

Método

MÉTODO

LOCAL DO ESTUDO

O estudo foi realizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, localizado no interior de São Paulo e referência para uma região com cerca 500 mil habitantes.

Anteriormente à pandemia de COVID-19, o hospital tinha 500 leitos e cinco unidades de terapia intensiva (UTIs): neonatal, pediátrica, coronariana e duas médico-cirúrgicas de adultos. Nosso estudo abordou com especial ênfase essas últimas duas UTIs, que apresentam em conjunto 24 leitos.

O hospital conta com Comissão de Controle de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde, constituída nos moldes da Portaria do Ministério da Saúde de número 2.616, de 1998. Conta também com laboratório de microbiologia próprio.

PERÍODO DO ESTUDO

O estudo abordou pacientes internados no período entre 2013 e 2018, e os patógenos por eles adquiridos nesse intervalo.

POPULAÇÃO ALVO

Uma vez que estávamos interessados em efeitos indiretos do uso de carbapenems, nossa população alvo foram aqueles pacientes internados em UTIs médico-cirúrgicas de adultos *que não receberam carbapenems durante o período de risco*, ou seja, no período contido entre a admissão e a alta ou entre a admissão e a identificação de colonização ou infecção por BGN-RC.

ASPECTOS OPERACIONAIS E DESFECHOS

Durante todo o período do estudo, os pacientes que eram admitidos em UTIs eram submetidos a culturas de vigilância (*swabs* nasais, orofaríngeos e retais) para busca ativa de *Staphylococcus aureus*

resistentes à meticilina (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, MRSA), enterococcus resistentes à vancomicina (*Vancomycin-resistant enterococci*, VRE) e BGN-RC (incluindo *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e enterobactérias). Além disso, culturas clínicas eram colhidas conforme indicação dos médicos assistentes. Para efeito dos nossos desfechos, consideramos tanto os resultados das culturas de vigilância quanto das clínicas, desde que coletados após dois dias de internação nas UTIs.

ESTUDO ECOLÓGICO

Em uma primeira fase do nosso estudo, utilizamos uma abordagem ecológica para identificar o impacto do uso global de carbapenems nas UTIs sobre a incidência agregada de BGN-RC em pacientes que não fizeram uso desses antibióticos.

O uso agregado mensal dos carbapenems (Imipenem, Meropenem e Ertapenem) foi caracterizado a partir das prescrições diárias, coletadas no prontuário eletrônico. O valor foi expresso em dias de terapia (*Days of therapy*, DOT) por 1.000 pacientes dias.

De forma análoga, a incidência foi obtida a partir dos prontuários e arquivos laboratoriais, excluindo duplicidades (definidas como duas culturas positivas para um mesmo patógeno em intervalo inferior a 30 dias). O valor quantitativo obtido foi a incidência por 1.000 pacientes-dia.

Compreendendo a temporalidade essencial à interpretação de associação como possível causalidade, utilizamos como variável independente (possível causa) o uso de carbapenems em um determinado mês, e como desfecho a média de incidência de BGN-

RC nos pacientes *naïve* para uso desses agentes naquele mês e no imediatamente posterior (ou seja, uma média móvel de dois meses).

O procedimento analítico utilizado no estudo de coorte foi a regressão linear, realizada no *software* SPSS 27 (IBM, Armonk, NY).

ESTUDO DE COORTE

A abordagem de riscos individuais foi realizada para com o objetivo de complementar e explorar de forma mais minuciosa a associação que conjecturamos (entre exposição a pacientes utilizando carbapenems e aquisição de BGN-RC por aqueles *naïve* para esses antimicrobianos). A coorte teve delineamento não-concorrente (retrospectivo), e seu racional teórico é apresentado na figura 8.

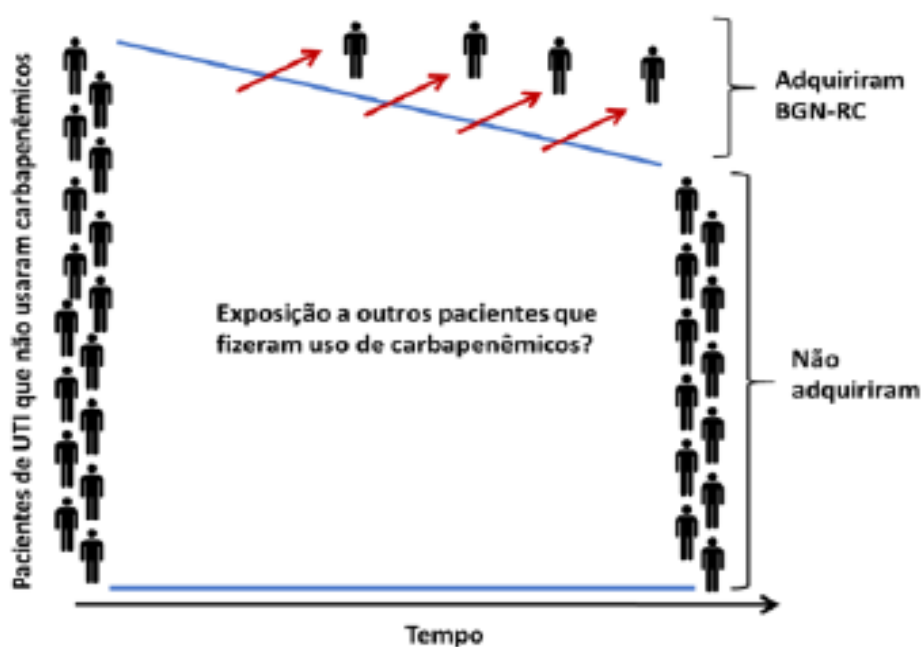


Figura 8. Delineamento dos estudos de coorte e caso-controle para identificação do “efeito de rebanho” (impacto da exposição a pacientes em uso de carbapenems sobre o risco de aquisição de BGN-RC em indivíduos que não utilizaram essa classe de antibióticos.)

O critério de inclusão para esta coorte foi admissão em uma das UTIs do estudo no período de 2013 até 2018, a não utilização de carbapenems durante o período de exposição, ausência de infecção ou colonização por BGN-RC antes da admissão e mais de 2 dias de internação na UTI.

Foi realizada extensa coleta de dados de prontuários, incluindo: dados demográficos, comorbidades (descritas como categorias de Classificação Internacional de Doenças, décima revisão [CID 10]²⁴ e

Índice de Comorbidade de Charlson²⁵), procedimentos e dispositivos invasivos e antimicrobianos utilizados.

Para quantificar o impacto a exposição dos pacientes *naïve* a outros utilizando carbapenems, estabelecemos um indicador chamado "Pressão de Carbapenems" (CP). Este foi definido como a soma de DOTs de carbapenems de todos os outros pacientes da UTI presentes *durante o período de risco desse paciente* (ver acima a definição de "período de risco").

Modelos uni e multivariáveis (multivariados) de Regressão de Poisson foram aplicados. A seleção de variáveis para os modelos multivariáveis foi realizada da seguinte forma: um modelo inicial incluiu todas as variáveis com valor P univariado abaixo de 0,1. Variáveis que apresentaram $P < 0,05$ foram incluídos em novos modelos, até que todas as variáveis tivessem $P < 0,05$.

O modelo foi então repetido, adicionando individualmente todas as outras variáveis. Essas variáveis eram mantidos no modelo se apresentassem $P < 0,05$ ou alterassem o *Risk Ratio* (RR) de qualquer variável significativa em mais de 10%. O tempo em risco e a "Pressão de Carbapenems" foram forçados em todos os modelos. Todas as análises da coorte foram realizadas no *software* STATA 16 (StataCorp, College Station, TX, USA).

Resultados

RESULTADOS

No período do estudo, 2.509 pacientes foram admitidos nas UTIs do estudo por dois ou mais dias. Destes, apenas 579 não usaram carbapenems durante o tempo de risco, portanto atenderam aos critérios de inclusão. Desses pacientes, 110 (19,0%) apresentaram algum tipo de infecção ou colonização por BGN-RC (densidade de incidência, 11,41 por 1.000 pacientes-dia). A figura 9 apresenta a distribuição de gêneros e/ou espécies.

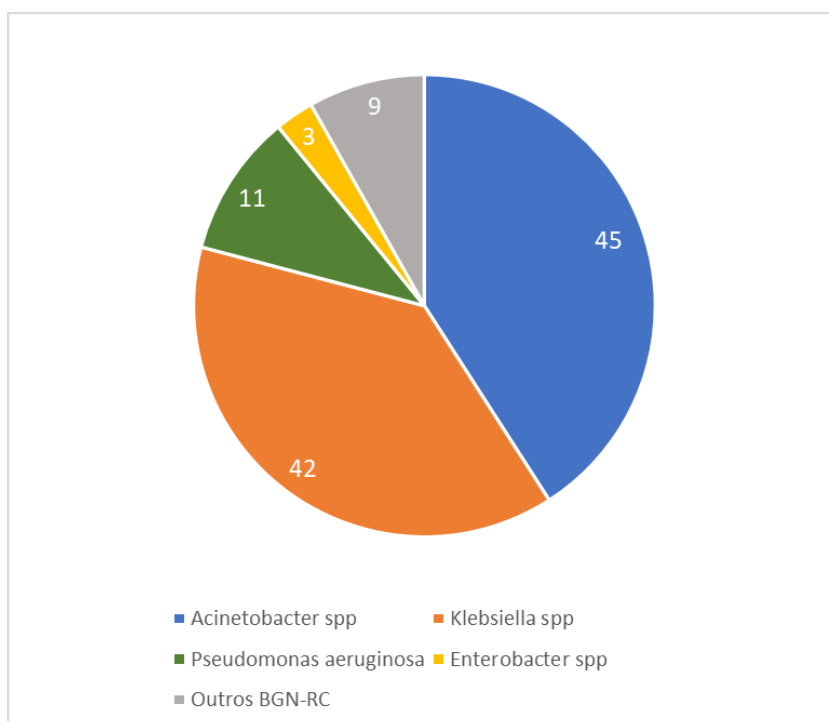


Figura 9. Distribuição dos 110 BGN-RC isolados de pacientes *naive* para carbapenems.

No estudo ecológico, o modelo de regressão linear mostrou correlação significativa entre uso de carbapenems e média móvel de incidência de BGN-RC em pacientes *naive* nos dois meses subsequentes (coeficiente linear= +0,04; intervalo de confiança [IC] 95%= +0,02 a +0,06; p-valor=0,001), conforme a figura 10.

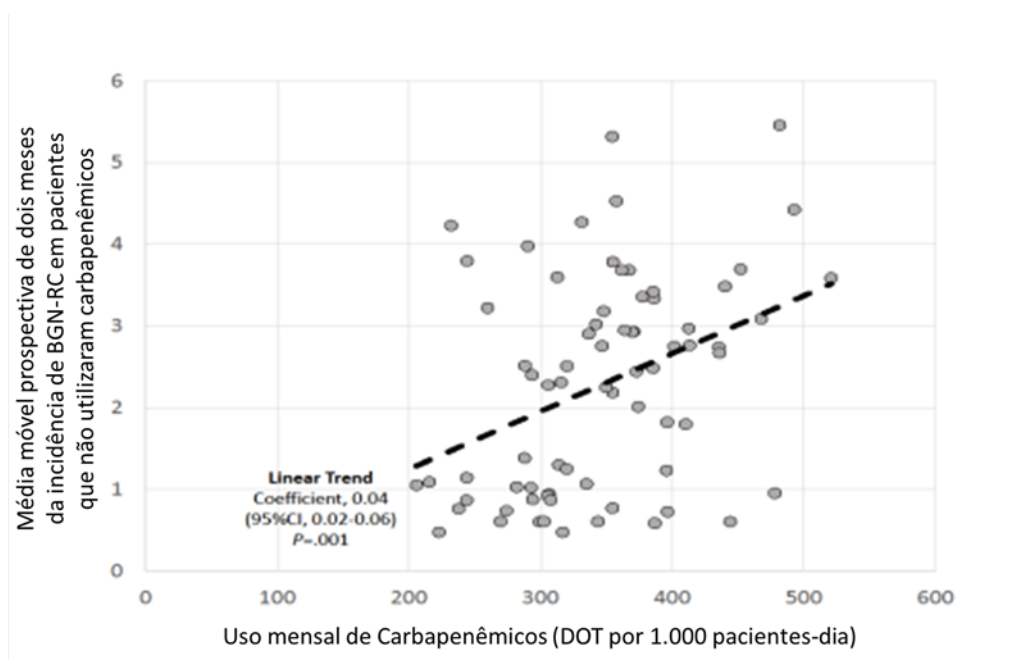


Figura 10. Regressão linear mostrando correlação entre uso agregado de carbapenems em UTIs e a incidência de Bacilos Gram-Negativos Resistentes a Carbapenems (BGN-RC) entre pacientes *naïve* (que não utilizaram esses antimicrobianos).

Quanto ao estudo de coorte, a tabela 1 apresenta os resultados obtidos na análise univariada. Chama atenção de imediato a “Pressão de Carbapenems”, cuja mediana foi de 52 (quartis, 30 a 89,5) para casos e 42 (quartis, 29-66) para controles, um achado estatisticamente significativo ($p=0,006$).

Tabela 1. Análise univariada (modelo de Regressão de Poisson) de fatores de risco para aquisição de Bacilos Gram-negativos resistentes aos carbapenems por pacientes de Unidades de Terapia Intensiva que não fizeram uso desses antimicrobianos.

Fatores de Risco	Casos (110)	Controles (257)	Risco Relativo (IC95%)	P
<i>Dados demográficos</i>				
Sexo feminino	43 (39,1)	206 (44,5)	0,84 (0,57 - 1,23)	0,36
Idade em anos, mediana (quartis)	43 (53,5 - 72,5)	62 (48,0 - 72,75)	1,01 (0,99 - 1,02)	0,11
<i>Comorbidades</i>				
Diabetes mellitus	27 (24,5)	106 (23,0)	1,07 (0,69 - 1,65)	0,76
Doença cardíaca	20 (18,2)	96 (20,8)	0,87 (0,54 - 1,42)	0,59
Doença Pulmonar	15 (13,6)	76 (16,5)	0,83 (0,50 - 1,44)	0,52
Doença hepática	8 (7,3)	25 (5,4)	1,27 (0,62 - 2,62)	0,51

Doença renal	6 (5,5)	49 (10,6)	0,54 (0,24 - 1,23)	0,15
Neoplasia sólida	27 (24,5)	96 (20,9)	1,18 (0,77 - 1,83)	0,45
Linfoma/Leucemia	1 (0,9)	6 (1,3)	0,74 (0,10 - 5,30)	0,77
Doença do Sistema Nervoso Central	25 (22,7)	70 (15,2)	1,48 (0,95 - 2,31)	0,09
Trauma	6 (5,5)	26 (5,6)	0,97 (0,43 - 2,22)	0,95
Índice de Charlson, mediana (quartis)	1 (0 -3)	2 (0 -3)	0,93 (0,84 - 1,03)	0,15
<i>Dados da internação</i>				
Transferência de outro hospital	28 (25,5)	96 (20,8)	1,23 (0,80 - 1,90)	0,34
Internação no ano anterior	25 (23,6)	97 (21,4)	1,11 (0,71 - 1,74)	0,65
<i>Procedimentos e dispositivos invasivos</i>				
Cirurgia	68 (61,8)	307 (66,9)	0,84 (0,57 - 1,23)	0,37
Ventilação mecânica	90 (81,8)	280 (60,5)	2,47 (1,52 - 4,00)	0,001

Catéter venoso central	94 (85,5)	380 (82,6)	1,19 (0,70 - 2,02)	0,52
Sonda vesical de demora	104 (94,5)	411 (88,8)	1,95 (0,86 - 4,44)	0,11
<i>Imunossupressão</i>				
Uso de esteróides	44 (41,1)	135 (29,7)	1,50 (1,01 - 2,19)	0,04
Uso de outros imunossupressores	5 (4,7)	19 (4,2)	1,10 (0,45 - 2,71)	0,83
<i>Uso de antimicrobianos</i>				
Ampicilina	6 (5,5)	3 (0,6)	1,78 (0,78 - 4,05)	0,17
Amoxicilina-Clavulanato	17 (15,5)	65 (14,0)	1,10 (0,65 - 1,84)	0,73
Oxacilina	2 (1,8)	8 (1,7)	1,04 (0,26 - 4,22)	0,96
Piperacilina-tazobactam	5 (4,5)	28 (6,)	0,78 (0,32 - 1,90)	0,59
Cefazolina	15 (13,6)	108 (23,3)	0,58 (0,34 - 1,00)	0,048
Cefuroxima	8 (7,3)	37 (8,0)	0,93 (0,45 - 1,89)	0,82

Ceftriaxona	7 (6,4)	21 (4,5)	1,32 (0,62 - 2,85)	0,48
Ceftazidima (± avibactam)	2 (1,8)	1 (0,2)	5,25 (0,73 - 37,59)	0,01
Cefepima	56 (50,9)	152 (32,9)	1,81 (1,25 - 2,64)	0,002
Gentamicina	1 (0,9)	3 (0,6)	1,31 (0,18 - 9,35)	0,79
Ciprofloxacina	10 (9,1)	49 (10,6)	0,87 (0,46 - 1,67_	0,68
Leflofloxacina	5 (4,5)	21 (4,6)	1,00 (0,41 - 2,44)	0,99
Vancomicina	19 (17,3)	42 (9,1)	1,75 (1,07 - 2,87)	0,03
Linezolida	1 (0,9)	1 (0,2)	2,62 (0,37 - 18,76)	0,34
Azithromicina	8 (7,3)	38 (8,2)	0,90 (0,44 - 1,84)	0,77
Clarithromicina	3 (2,7)	4 (0,9)	2,27 (0,72 - 7,14)	0,16
Clindamicina	5 (4,5)	19 (4,1)	1,09 (0,44 - 2,67)	0,85
Metronidazol	26 (23,6)	96 (20,7)	1,15 (0,74 - 1,78)	0,55

Anfotericina B	1 (0,9)	3 (0,6)	1,31 (0,18 - 9,35)	0,79
Antifúngicos azólicos	3 (2,7)	11 (2,4)	1,12 (0,35 - 3,53)	0,85
<i>Dados de exposição</i>				
Tempo sob risco em dias, mediana (quartis)	5 (3 - 9,5)	5 (3 - 7)	1,03 (1,00 - 1,07)	0,09
“Pressão de Carbapenems” em DOTs, mediana (quartis)	52 (30 - 89,5)	42 (29 - 66)	1,006 (1,002 - 1,009)	0,006

Nota. Números entre parêntese indicam proporção (%) exceto quando especificados. “Tempo sob risco” foi contado do dia da admissão na UTI até a alta ou até a coleta de exames positivos para bacilos Gram-negativos resistentes aos carbapenems. “Pressão de Carbapenems” corresponde à soma de dias de terapia (DOTs) com carbapenems de todos os outros pacientes internados nas UTIs durante o tempo sob risco de cada paciente. IC, Intervalo de Confiança.

Na análise multivariada (tabela 2), aos fatores frequentemente associados a risco (ventilação mecânica, uso de ceftazidima) somou-se o achado da Pressão de Carbapenems, sendo que cada DOT a mais dos demais pacientes aumentava em 0,9% o risco de aquisição de um BGN-RC pelos pacientes *naïve*.

Tabela 2. Modelo final multivariável de regressão de Poisson de fatores de risco para aquisição de infecção ou colonização por BGN-RC em pacientes sem uso de carbapenems em duas unidades de terapia intensiva médico-cirúrgica para adultos no Brasil.

Fatores de risco	Risco Relativo (IC95%)	P
Ventilação mecânica	2,37 (1,42-3,93)	<0,001
Uso de cefazolina	0,66 (0,37-1,14)	0,14
Uso de ceftazidima	11,15 (1,42-86,84)	0,02
Tempo sob risco	0,93 (0,84-1,02)	0,11
Pressão de Carbapenems (DOTs)	1,009 (1,001-1,018)	0,03

Nota. IC, intervalo de confiança; DOTs (*days of therapy*, dias de terapia com carbapenems dos demais pacientes internados nas UTIs).

É importante enfatizar, mais uma vez, que a “Pressão de Carbapenems” foi associada ao desfecho tanto na univariada (Risco Relativo [RR], 1,006; IC 95%, 1,002-1,009; $P = 0,006$) quanto na multivariada (RR, 1,009; 95%, 1,001-1,018; $P = 0,03$).

Discussão

DISCUSSÃO

O "efeito rebanho" é frequentemente aplicado para relacionar a proteção de pessoas não imunes contra uma doença específica quando a maioria das outras pessoas na população está imune (daí o termo usual, "Imunidade de rebanho"), seja por infecção natural²⁶ ou vacinação em massa.^{27,28}

Tem sido uma questão central nos debates epidemiológicos do COVID-19 em todo o mundo.^{29,30} Com menos frequência, proteção de rebanho foi abordada em outras intervenções, como melhorias em saneamento e higiene.³¹

Atualmente, há evidências escassas (se houver) sobre o "efeito de rebanho" em estudos de controle de infecção ou resistência antimicrobiana, exceto para abordagens da resistência antimicrobiana na agricultura.³²

Conforme hipótese lançada por Lipsich & Samore¹³, o "efeito rebanho" do uso de antimicrobianos se refere ao aumento do risco de aquisição de organismos resistentes por pessoas expostas ao uso em massa de antibióticos. Esses efeitos indiretos podem ser

relevantes na prevenção do surgimento e disseminação de organismos multirresistentes.

Este estudo enfocou uma lacuna nas abordagens epidemiológicas de resistência aos antimicrobianos em ambientes de saúde. Houve interesse específico no impacto indireto do uso de antimicrobianos nas infecções causadas por BGN-RC, que são hiperendêmicas em UTIs no Brasil.^{33,34}

Como esperado³⁵, encontramos não apenas um uso massivo de carbapenems, também uma incidência relevante de BGN-RC, mesmo entre pacientes para os quais os carbapenems não foram prescritos.

Os resultados deste trabalho fornecem evidências de associação do uso geral de carbapenems em UTIs e incidência de infecções e colonizações por BGN-RC entre pacientes que não usam esses antimicrobianos.

O uso de antimicrobianos parece ser um importante fator indireto na resistência aos carbapenems, ambos de perspectivas coletivas e individuais. Isso está de acordo com as recomendações atuais de estudos epidemiológicos, que enfatizam a relevância dos estudos ecológicos complementados com informações de nível individual.^{36,37}

Estudos anteriores demonstraram o impacto da pressão de colonização sobre a propagação do BGN-RC^{38,39,40} no entanto, a abordagem atual aponta para a causalidade como um *continuum* de fatores, ligando às exposições aos resultados.⁴¹

Em um gráfico acíclico direcionado (figura 11), a pressão de colonização pode ser um vértice intermediário entre o uso de antimicrobianos e aquisição de organismos resistentes aos antimicrobianos por pacientes não expostos ao antibiótico de interesse.⁴²

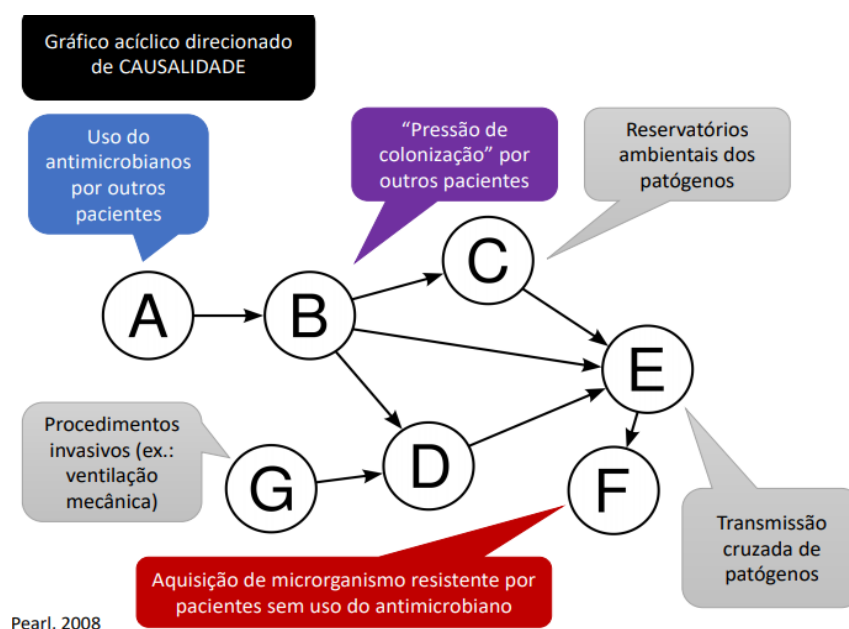


Figura 11. Proposta de um gráfico acíclico direcionado (DAG) de causalidade para aquisição de microrganismos resistente por paciente sem uso do antimicrobiano.

De forma análoga, podemos expressar essa causalidade em um semi-hipotético modelo de causas suficientes²⁰ (figura 12).

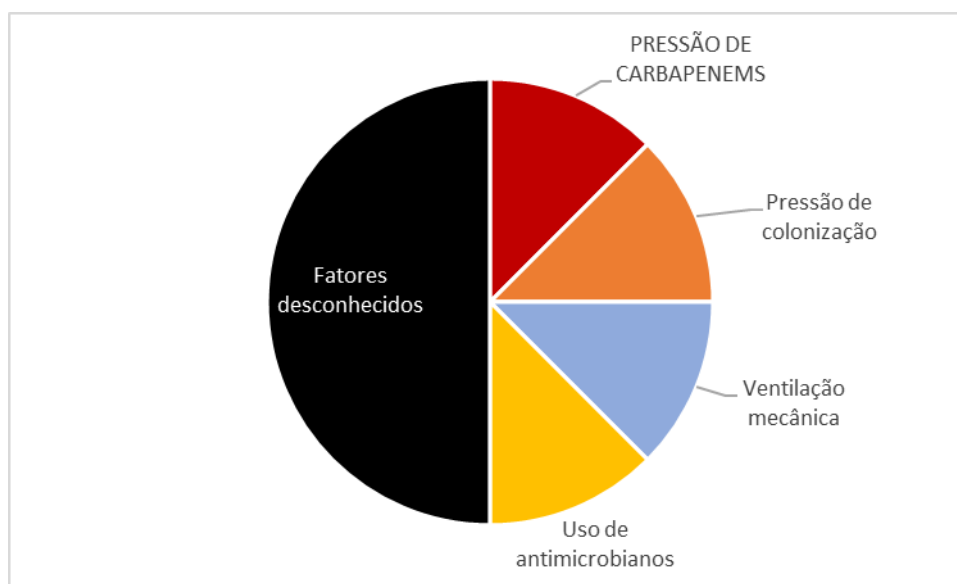


Figura 12. Proposta de um modelo de causas suficientes de Rothman para aquisição de microrganismos resistente por paciente sem uso do antimicrobiano de interesse. A “pressão de carbapenems” mede a intensidade da exposição ao uso de carbapenems, enquanto a “pressão de colonização” mede a intensidade da exposição a outros pacientes carreando o patógeno.³²

Por fim, podemos submeter nossa hipótese causal às normas heurísticas de Bradford Hill^{18,19}, conforme mostrado na tabela 3.

Tabela 3. Intrepretação dos resultados deste estudo à luz dos critérios de causalidade de Bradford Hill.

Critério	Compatibilidade	Comentário
Força de associação	moderada	Em que pesem os valores modestos de coeficiente de correlação e risco relativo, o p-valor foi baixo.
Consistência	Não se aplica	Uma única população foi estudada
Especificidade	Moderada	A associação foi um dos poucos fatores significantes em modelos.
Temporalidade	Alta	Os resultados são coerentes com a linha do tempo, a causa precedendo o efeito.
Dose-resposta	Alta	Os achados mostram associações crescentes exposição-efeito, especialmente no estudo ecológico
Plausibilidade	Alta	Os achados são coincidentes com o construto teórico biológico do estudo.
Coerência	Alta	Os achados são coerentes com as hipóteses já levantadas por outros pesquisadores. ¹³
Analogia	Alta	Em que pesem os limites desse critério, nossos achados tem analogia com aqueles que apontam associação entre pressão de colonização e risco. ^{13,38}

Como podemos observar, os resultados são consistentes com construções teóricas de causalidade, utilizadas para propor intervenções baseadas na prescrição de antimicrobianos para prevenir resistência.²⁰

As intervenções devem ser voltadas para a coletividade, focando não apenas em formulários de antimicrobianos, mas também em determinantes ambientais (como reservatórios inanimados⁴³, ocupantes anteriores do leito⁴⁴ e até clima⁴⁵).

Ainda assim, nossos resultados são coerentes com estudos anteriores, apontando para a relevância ecológica do controle de antibióticos (*antimicrobial stewardship*).^{46,47,48}

Este estudo tem várias limitações, principalmente devido às características observacionais, retrospectivas e abordagens parcialmente ecológicas.^{49,37} Não abordamos diretamente as intervenções sobre a prescrição de antimicrobianos. Além disso, não analisamos o impacto de reservatórios ambientais. No entanto, também apresenta fortalezas. Foi realizada uma extensa revisão de prontuários, o que nos permitiu testar o impacto da “pressão de carbapenems”. Utilizamos, como proposto por autores modernos, abordagens ecológicas e individuais simultaneamente, que nos permitiram inferir causalidade em uma perspectiva populacional.¹³

Conclusão

CONCLUSÃO

- Em estudo ecológico, encontrou-se correlação significativa entre uso global de carbapenems e incidência agregada de bacilos Gram-negativos resistentes a esses antimicrobianos em duas unidades de terapia intensiva (UTIs) clínico cirúrgicas.
- Em acompanhamento de coorte de pacientes internados nessas UTIs e que não usaram carbapenems, a intensidade da exposição ao uso dessa classe por outros internados simultaneamente foi fortemente associada ao risco de aquisição de bacilos Gram-negativos resistentes a carbapenems.
- O nosso estudo reforça a importância de realizar simultaneamente abordagens ecológicas e individuais, quando se pretende estudar impactos que se dão no âmbito coletivo.
- Os achados descritos acima são coerentes com modelos de representação e critérios de causalidade atualmente empregados em epidemiologia.

- Foi, portanto, encontrada evidência de “efeito de rebanho” do uso de carbapenems sobre a disseminação de resistência microbiana em UTIs.

Referências

REFERÊNCIAS

1. Bassetti M et al. Antimicrobial resistance in the next 30 years, humankind,vbugs and drugs: a visionary approach. *Intensive Care Med.* 2017;43:1464-1475.
2. Hawkey PM et al. Treatment of infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria: report of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy/Healthcare Infection Society/British Infection Association Joint Working Party. *J Antimicrob Chemother.* 2018;73(suppl_3):iii2-iii78.
3. Gelband H, Laxminarayan R. Tackling antimicrobial resistance at global and local scales. *Trends Microbiol.* 2015;23:524-6.
4. Jørgensen PS et al. Use antimicrobials wisely. *Nature.* 2016;537:159-61.

5. Holmes AH et al. Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. *Lancet*. 2016;387:176-87.
6. McEwen SA, Collignon PJ. Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. *Microbiol Spectr*. 2018;6. doi: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017.
7. Nordmann P et al. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! *Trends Mol Med*. 2012;18:263-72.
8. World Health Organization. <http://www.who.int/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>. WHO: Geneva, 2017.
9. Centers for Disease Control and Prevention. The AMR challenge. <https://www.cdc.gov/drugresistance/intl-activities/amr-challenge.html>. CDC: Atlanta, 2018.
10. Cerqueira GC et al. Multi-institute analysis of carbapenem resistance reveals remarkable diversity, unexplained

- mechanisms, and limited clonal outbreaks. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2017;114:1135-1140.
11. Wilson APR et al. Prevention and control of multi-drug-resistant Gram-negative bacteria: recommendations from a Joint Working Party. *J Hosp Infect* 2016; 92(Suppl_1):S1-S44.
 12. Wong D, Spellberg B. Leveraging antimicrobial stewardship into improving rates of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Virulence*. 2017;8:383-390.
 13. Lipsitch M, Samore MH. Antimicrobial use and antimicrobial resistance: a population perspective. *Emerg Infect Dis*. 2002;8:347-54.
 14. Brewer NT, Moss JL. Herd immunity and the herd severity effect. *Lancet* 2015;15:p868-p869.
 15. Metcalf CJE et al. Understanding Herd Immunity. *Trends Immunol*. 2015;36:753-755.

16. John, T.J., Samuel, R. Herd immunity and herd effect: new insights and definitions. *Eur J Epidemiol* 16, 601–606 (2000).
17. Kamangar F. Causality in Epidemiology. *Arch Iran Med*. 2012; 15(10): 641 – 647.
18. Hill AB. The environment and disease: association or causation? *Proc R Soc Med*. 1965;58:295–300.
19. Doll R, Hill AB. Mortality in relation to smoking: Ten years' of observations of British doctors. *Br Med J*. 1964; 1: 1399 – 1410.
20. Lash TL, VanderWeelen TJ, Haneuse S, Rothman KJ. *Modern Epidemiology*. 4^a ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2021.
21. Pearl J. *Causality*. 2^a ed. Cambridge: Cambridge University; 2009.

22. Hal Morgenstern. Ecologic Studies in Epidemiology: Concepts, Principles, and Methods. Annual Review of Public Health 1995 16:1, 61-81.
23. Jonathan Wakefield. Ecologic Studies Revisited. Annu. Rev. Public Health 2008. 29:75–90.
24. World Health Organization. ICD-10 Version: 2019. Online: <https://icd.who.int/browse10/2019/en>.
25. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. J Chronic Dis. 1987;40:373-83.
26. Ribeiro GS, Hamer GL, Diallo M, Kitron U, Ko AI, Weaver SC. Influence of herd immunity in the cyclical nature of arboviruses. Curr Opin Virol. 2020;40:1-10.
27. Lahariya C. Vaccine epidemiology: A review. J Family Med Prim Care. 2016;5:7- 15.

28. Fine P, Eames K, Heymann DL. "Herd immunity": a rough guide. *Clin Infect Dis.* 2011;52:911-6.
29. Redwan EM. COVID-19 pandemic and vaccination build herd immunity. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2021;25:577-579.
30. Tkachenko AV, Maslov S, Elbanna A, Wong GN, Weiner ZJ, Goldenfeld N. Timedependent heterogeneity leads to transient suppression of the COVID-19 epidemic, not herd immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2021;118:e2015972118.
31. Fuller JA, Eisenberg JN. Herd Protection from Drinking Water, Sanitation, and Hygiene Interventions. *Am J Trop Med Hyg.* 2016;95:1201-1210.
32. Call DR, Davis MA, Sawant AA. Antimicrobial resistance in beef and dairy cattle production. *Anim Health Res Rev.* 2008;9:159-67.
33. Labarca JA, Salles MJ, Seas C, Guzmán-Blanco M. Carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter*

- baumannii in the nosocomial setting in Latin America. Crit Rev Microbiol. 2016;42:276-92.
34. Sampaio JL, Gales AC. Antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae in Brazil: focus on β -lactams and polymyxins. Braz J Microbiol. 2016;47 (Supl 1):31-37.
35. Braga IA, Campos PA, Batistão DWDF, Gontijo Filho PP, Ribas RM. Using point prevalence survey to define burden of antimicrobial use among adult intensive care units in Brazil. Infect Dis (Lond). 2019;51:459-462.
36. Morgenstern H. Ecologic studies in epidemiology: concepts, principles, and methods. Annu Rev Public Health. 1995;16:61-81.
37. Wakefield J. Ecologic studies revisited. Annu Rev Public Health. 2008;29:75-90.
38. Castelo Branco Fortaleza CM, Moreira de Freitas F, da Paz Lauterbach G. Colonization pressure and risk factors for acquisition of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a

- medical surgical intensive care unit in Brazil. *Am J Infect Control*. 2013;41:263-5.
39. DalBen MF, Basso M, Garcia CP, et al. Colonization pressure as a risk factor for colonization by multiresistant *Acinetobacter* spp and carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in an intensive care unit. *Clinics (Sao Paulo)*. 2013;68:1128-33.
40. Ajao AO, Harris AD, Roghmann MC, Johnson JK, Zhan M, McGregor JC, Furuno JP. Systematic review of measurement and adjustment for colonization pressure in studies of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, vancomycin-resistant enterococci, and *Clostridium difficile* acquisition. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2011;32:481-9.
41. Pearl J. Causality. Models, reasoning and inference. 2nd Edition. Cambridge: Cambridge University Press, 2009.
42. Pearl J. Causal diagrams for empirical research. *Biometrika*. 1995;82:669–88.
43. Morgan DJ, Rogawski E, Thom KA, et al. Transfer of multidrug-resistant bacteria to healthcare workers' gloves and gowns after

- patient contact increases with environmental contamination. *Crit Care Med*. 2012;40:1045-51.
44. Ajao AO, Johnson JK, Harris AD, et al. Risk of acquiring extended-spectrum β lactamase-producing *Klebsiella* species and *Escherichia coli* from prior room occupants in the intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2013;34:453- 8.
45. Fortaleza CM, Caldeira SM, Moreira RG, et al. Tropical healthcare epidemiology: weather determinants of the etiology of bloodstream infections in a Brazilian hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2014;35:85-8.
46. Tacconelli E. Antimicrobial use: risk driver of multidrug resistant microorganisms in healthcare settings. *Curr Opin Infect Dis*. 2009;22:352-8.
47. Davey P, Marwick CA, Scott CL, et al. Interventions to improve antibiotic prescribing practices for hospital inpatients. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Feb 9;2(2):CD003543.
48. Álvarez-Marín R, López-Cerero L, Guerrero-Sánchez F, et al. Do specific antimicrobial stewardship interventions have an impact on carbapenem resistance in Gram-negative bacilli? A multicentre quasi-experimental ecological study: time-trend

analysis and characterization of carbapenemases. *J Antimicrob Chemother.* 2021 Mar 26: dkab073. doi: 10.1093/jac/dkab073. Epub ahead of print.

49. Harris AD, Karchmer TB, Carmeli Y, Samore MH. Methodological principles of case-control studies that analyzed risk factors for antibiotic resistance: a systematic review. *Clin Infect Dis.* 2001;32:1055-61.