

วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเอชอีวี

37

วรมันต์ ไวดาบ

บทนำ

ไซโตเมกาโลไวรัส (Cytomegalovirus; CMV) จัดอยู่ในกลุ่ม β -herpesvirus ซึ่งประกอบด้วย human herpesvirus 6A (HHV-6A), HHV-6B, HHV-7 CMV เป็น double stranded DNA virus ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 200-300 นาโนเมตร ลักษณะโครงสร้างของเชื้อเป็น DNA สายตรงคู่ (linear, double-stranded DNA) อยู่ภายในเปลือก (capsid) รูปทรง 20 เหลี่ยมซึ่งประกอบด้วย 162 capsomeres CMV เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อฉวยโอกาสที่พบในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่อง โดยเฉพาะผู้ป่วยที่มีการทำงานของ T lymphocyte ผิดปกติ เช่น ผู้ติดเชื้อเอชไอวี ผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ ผู้ป่วยปลูกถ่ายไขกระดูก นอกจากนี้ CMV เป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อแต่กำเนิดในทารก (congenital CMV infection) ทำให้เกิดความผิดปกติทางระบบประสาท ภาวะปัญญาอ่อน และหูหนวก¹ ในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันปกติส่วนใหญ่มีการติดเชื้อโดยไม่แสดงอาการหรือแสดงอาการ mononucleosis² ในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่องมักแสดงอาการตามอวัยวะที่มีการติดเชื้อ เช่น จอประสาทตาอักเสบ ปอดอักเสบ ตับอักเสบ ทางเดินอาหารอักเสบ CMV ถ่ายทอดทางการสัมผัสกับสารคัดหลั่ง เช่น เลือด น้ำลาย ปัสสาวะ น้ำนม น้ำอสุจิ น้ำจากช่องคลอดหรือจากการรับอวัยวะปลูกถ่ายของผู้ติดเชื้อ การป้องกันการติดเชื้อ CMV ทำโดยการล้างมือ หลีกเลี่ยงการสัมผัสสารคัดหลั่งของผู้ติดเชื้อ ยาต้านไวรัสมีข้อบ่งชี้ในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่องที่ติดเชื้อ CMV หรือผู้ป่วยภูมิคุ้มกันปกติที่มีอาการของโรครุนแรง ปัจจุบันยังไม่มีวัคซีนป้องกันการติดเชื้อ CMV ที่รับรองให้ใช้ใน

มนุษย์ การพัฒนาวัคซีนเพื่อใช้ป้องกันการติดเชื้อ CMV ยังอยู่ในขั้นตอนของการศึกษาวิจัย

โรคติดเชื้อ CMV

ระบาดวิทยา: อุบัติการณ์และปัจจัยเสี่ยง

การติดเชื้อ CMV พบได้ในประชากรทุกเชื้อชาติและทุกรัฐ ทั้งในประเทศพัฒนาแล้วและประเทศกำลังพัฒนา ปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อความชุกของโรคที่เพิ่มขึ้น เช่น ทารกที่รับนมจากมารดาที่ติดเชื้อ CMV เด็กที่อยู่ในสถานรับเลี้ยงเด็ก การมีเพศสัมพันธ์ตั้งแต่อายุน้อย การมีคู่นอนหลายคน ทารกน้ำหนักน้อยกว่า 1,250 กรัม ที่ได้รับการถ่ายเลือดหรือเลี้ยงด้วยนมแม่^{1,3,4} ในประเทศไทยพบแนวโน้มความชุกของการติดเชื้อ CMV เพิ่มขึ้น การศึกษาโดยการตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อเชื้อ CMV ในผู้บริจาคเลือด พบเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 47 ในปี ค.ศ. 1981 เป็นร้อยละ 71.8 ในปี ค.ศ. 1998 โดยพบการติดเชื้อในเพศหญิงมากกว่าเพศชายโดยเฉพาะในหญิงตั้งครรภ์ ประชากรในกลุ่มอายุ 20-25 ปีเป็นกลุ่มอายุที่พบการติดเชื้อมากที่สุด³ สำหรับทารกที่เกิดจากมารดาติดเชื้อเอชไอวี มีความชุกของการติดเชื้อ CMV สูงกว่าในกลุ่มทารกที่เกิดจากมารดาไม่ติดเชื้อเอชไอวี⁴

พยาธิกำเนิด

ปัจจุบันพยาธิกำเนิดของการติดเชื้อ CMV ในมนุษย์ยังไม่สามารถทราบได้อย่างชัดเจน เนื่องจากการติดเชื้อ CMV ในมนุษย์มีความซับซ้อน เป็นปฏิสัมพันธ์ระหว่างกลไกป้องกันของโฮสต์ (host defense mechanism) และ

ไวรัส เชื้อ CMV มีถิ่นหลายชนิดที่รบกวนระบบภูมิคุ้มกันของมนุษย์ขณะที่ไวรัสมีการแบ่งตัว การติดเชื้อในคนที่ภูมิคุ้มกันปกติจะไม่แสดงอาการ แต่การติดเชื้อยังคงอยู่อย่างต่อเนื่องซ่อนเร้น (persistent latent infection) ขั้นตอนการติดเชื้อ CMV เริ่มจากการเกาะติด (attachment) ระหว่างเปลือกไวรัส (envelop) กับเยื่อหุ้มเซลล์ของมนุษย์ เชื้อเข้าสู่เซลล์โดยอาศัย glycoprotein gB และ gH บริเวณเปลือกของไวรัส ซึ่งเป็นตำแหน่งเป้าหมายของ neutralizing antibody หลังจากนั้นจะมีการปล่อย viral genome เข้าสู่นิวเคลียส เมื่อเซลล์ติดเชื้อไวรัสจะมีการ transcription ของยีนเพื่อสร้าง CMV โปรตีน โดยในทันทีแรกหลังจากเข้าสู่เซลล์จะมีการสร้าง α (immediate early) proteins และเริ่มขบวนการแบ่งตัว ต่อมาจะสร้าง β (delayed early) proteins เพื่อสร้างเอนไซม์ทำหน้าที่ควบคุมการแบ่ง DNA ของไวรัสในช่วงหลัง (late phase หรือ γ phase) จะเข้าสู่วงจรการแบ่งตัว มีการสร้างโปรตีนเพิ่ม DNA ของไวรัสรวมตัวเป็น nonenveloped particles ภายในนิวเคลียส โดยมีลักษณะเฉพาะเป็น "owl's eye" หรือ intranuclear inclusion¹ การติดเชื้อ CMV พบได้ในหลายอวัยวะ เช่น ต่อม้ำลาย ปอด ไต ตับ ตับอ่อน ต่อมอดรีนอล เยื่อบุลำไส้ หลังการติดเชื้อสามารถแยกเชื้อไวรัสได้จากสารคัดหลั่งเช่น น้ำลาย ปัสสาวะ น้ำตา น้ำอสุจิ สารคัดหลั่งบริเวณปากมดลูก และน้ำนม โดย viral shedding เกิดประมาณ 4-6 สัปดาห์หลังรับเชื้อ การ shedding ของไวรัสจะคงอยู่เป็นเวลานานจากเดือนจนถึงปี

การติดเชื้อ CMV สามารถแบ่งออกเป็น การติดเชื้อปฐมภูมิ (primary infection) เป็นการติดเชื้อที่ผู้ป่วยไม่เคยมีการติดเชื้อมาก่อน ไม่มีภูมิต่อเชื้อ CMV (seronegative) และการติดเชื้อทุติยภูมิ (secondary infection) เป็นการติดเชื้อที่เกิดจากการกระตุ้นของเชื้อ CMV ที่ซ่อนเร้นอยู่หรือการติดเชื้อ CMV สายพันธุ์อื่นในผู้ที่มีภูมิต่อเชื้อ CMV แล้ว การติดเชื้อปฐมภูมิมักมีการแบ่งตัวของไวรัสจำนวนมาก และโรคที่เกิดจะมีความรุนแรงกว่าการติดเชื้อทุติยภูมิ⁵

ในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่อง เช่น ผู้ได้รับยาเคมีบำบัด ผู้ปลูกถ่ายอวัยวะ ผู้ป่วยเอดส์ จะพบไวรัสในเลือด

เป็นเวลานาน (persistent viremia) และมีอาการแสดงของการติดเชื้อ CMV หลายรูปแบบ จากการศึกษาพบว่าภูมิคุ้มกันชนิดแอนติบอดีเป็นกลไกสำคัญในการควบคุมการติดเชื้อ แม้ว่าจะไม่สามารถป้องกันการเป็นกลับซ้ำ (reactivation) หรือติดเชื้อใหม่ (reinfection) ในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่องได้¹ ในส่วนของภูมิคุ้มกันชนิดฟิงเซลล์ (cell mediated immune response) พบว่าความบกพร่องต่อการตอบสนองของลิมโฟไซต์ต่อเชื้อ CMV และการลดลงของ CMV-specific cytotoxic T lymphocyte มีความสัมพันธ์กับอัตราการตายที่เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยปลูกถ่ายไขกระดูกที่ติดเชื้อ CMV⁶ ขณะที่จำนวน CD4 ที่ต่ำกว่า 100 เซลล์/ลบ.มม. เป็นปัจจัยเสี่ยงสำคัญของการเกิดโรค CMV ในผู้ป่วยเอดส์⁷

อาการทางคลินิก

• การติดเชื้อ CMV แต่กำเนิด

ทารกที่ติดเชื้อ CMV แต่กำเนิดจะพบความผิดปกติในหลายระบบของร่างกายเช่นเดียวกับการติดเชื้อ CMV ในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง ในทารกที่ติดเชื้อ CMV แต่กำเนิดพบความผิดปกติของระบบประสาทส่วนกลางมากที่สุดตัวอย่าง เช่น microcephaly, intracranial calcification พบโปรตีนในน้ำไขสันหลังสูง พยาธิกำเนิดที่สำคัญได้แก่ การเกิด cytomegalic cell การตายของเซลล์ในระบบประสาทบางส่วน รวมถึงการตายของเซลล์บริเวณจอประสาทตา กลไกที่เชื้อ CMV ทำลายสมองที่กำลังพัฒนาของทารกประกอบด้วย การทำลายเซลล์จากการติดเชื้อโดยตรง การขัดขวาง neuronal migration ของเซลล์ประสาท การสูญเสีย neuronal stem cell และทำให้เกิดความผิดปกติของเส้นเลือด การสูญเสียการได้ยินจากการติดเชื้อ CMV แต่กำเนิด มีความสัมพันธ์กับความผิดปกติของกระดูก Temporal และความบกพร่องของ cochlear, vestibular, และ auditory canal (Mondini dysplasia) อย่างไรก็ตามทารกที่ติดเชื้อ CMV แต่กำเนิดอาจไม่แสดงอาการสมองถูกทำลายจนถึงช่วงต้นของวัยเด็ก ความผิดปกติของระบบอื่นที่พบในการติดเชื้อ CMV แต่กำเนิด

ได้แก่ การอักเสบของระบบทางเดินอาหารเช่น ตับ ตับอ่อน ต่อมน้ำลาย การอักเสบของระบบทางเดินหายใจ และการอักเสบของระบบทางเดินปัสสาวะ

อาการของทารกที่ติดเชื้อ CMV แต่กำเนิด ได้แก่ น้ำหนักตัวน้อยจากการคลอดก่อนกำหนด หรือ intrauterine growth retardation จุดเลือดออกใต้ผิวหนัง ตัวเหลือง ตับม้ามโต อาการและอาการแสดงทางระบบประสาทส่วนกลางได้แก่ ศีรษะเล็ก ซึม ตัวอ่อนปวกเปียก ตูดนมไม่ดี ชัก optic atrophy การได้ยินลดลง และ intracranial calcification การตรวจทางห้องปฏิบัติการ พบการเพิ่มขึ้นของ ALT เกร็ดเลือดต่ำกว่า 100,000/ลบ.มม. ระดับ direct bilirubin สูง

การติดเชื้อ CMV แต่กำเนิดเกิดได้จากทั้งการติดเชื้อปฐมภูมิและการเป็นกลับซ้ำของเชื้อผลการติดตามในระยะยาวพบว่า ทารกที่ติดเชื้อ CMV แต่กำเนิดชนิดปฐมภูมิ มีความรุนแรงของความผิดปกติด้านการได้ยินและพัฒนาการมากกว่าทารกที่ติดเชื้อจากการเป็นกลับซ้ำ การติดเชื้อในไตรมาสแรกของการตั้งครรภ์ มีความเสี่ยงต่อการเกิดความผิดปกติมากกว่าการติดเชื้อในไตรมาสหลัง นอกจากนี้ยังพบว่าภูมิคุ้มกันของมารดาต่อเชื้อ CMV ลดความเสี่ยงในการเกิดโรค CMV แต่กำเนิดได้ 3-4 เท่า⁸

• การติดเชื้อระหว่างการคลอดและหลังคลอด

ทารกมีโอกาสติดเชื้อ CMV ระหว่างการคลอดจากการสัมผัสสารคัดหลั่งปนเปื้อนเชื้อในช่องคลอดมารดา และติดเชื้อหลังคลอดจากการรับนมมารดาที่ติดเชื้อ ทารกกลุ่มนี้มักไม่แสดงอาการทางคลินิกยกเว้นในทารกคลอดก่อนกำหนดซึ่งอาจพบอาการผิดปกติทางระบบทางเดินหายใจ² ทารกที่ติดเชื้อสามารถแพร่เชื้อได้เป็นปีหลังการติดเชื้อ ทำให้เป็นแหล่งโรคที่สำคัญของเด็กโตและผู้ดูแล¹

• ภาวะโมโนนิวคลีโอสิส (mononucleosis syndrome)

ภาวะโมโนนิวคลีโอสิสมักพบในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันปกติที่ติดเชื้อ CMV อาการที่พบได้แก่ ไข้สูง อาจมีไข้มากกว่า 2 สัปดาห์ ปวดศีรษะ ปวดเมื่อยตามตัว อ่อนเพลีย ต่อมน้ำเหลืองโต โดยทั่วไปแยกจากการติดเชื้อ Epstein-

Barr Virus (EBV) ได้ยาก อย่างไรก็ตามมักไม่พบ tonsillar patch และม้ามโตในผู้ป่วยโมโนนิวคลีโอสิสที่ติดเชื้อ CMV ซึ่งอาการแสดงดังกล่าวพบได้บ่อยในการติดเชื้อ EBV¹ การตรวจทางห้องปฏิบัติการจากการตรวจนับเม็ดเลือดพบเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte และ atypical lymphocyte เพิ่มขึ้น พบการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ hepatic transaminase แต่ไม่สูงเกิน 300 IU/L อาจพบภาวะเหลืองในผู้ป่วยบางราย ผลการตรวจ heterophile antibody ให้ผลลบ

อาการและอาการแสดงของผู้ป่วยโมโนนิวคลีโอสิสจากการติดเชื้อ CMV ในเด็กมีความแตกต่างจากผู้ใหญ่ โดยผู้ป่วยเด็กจะพบไข้ได้น้อยกว่าในผู้ใหญ่ (ร้อยละ 49 ในเด็ก และร้อยละ 94 ในผู้ใหญ่) ขณะที่ผู้ป่วยเด็กจะพบตับม้ามโตได้มากกว่าในผู้ใหญ่¹

ภาวะโมโนนิวคลีโอสิสจะหายได้เองในผู้ที่มิภูมิคุ้มกันปกติโดยไม่มีภาวะแทรกซ้อน อย่างไรก็ตามอาจพบภาวะนี้ได้นานถึง 4 สัปดาห์

• จอประสาทตาอักเสบ

จอประสาทตาอักเสบจากเชื้อ CMV พบได้บ่อยที่สุดในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่องโดยเฉพาะผู้ป่วยเอดส์ ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้สูญเสียการมองเห็นเนื่องจากเซลล์ของจอประสาทตาถูกทำลาย ผู้ป่วยบางรายอาจไม่แสดงอาการให้เห็นจนกระทั่งเมื่อเป็นมาแล้ว การวินิจฉัยจอประสาทตาอักเสบจากเชื้อ CMV ประกอบด้วยอาการสูญเสียการมองเห็น เห็นวัตถุลอยไปมา มองเห็นภาพไม่ชัดร่วมกับการตรวจจอประสาทตาพบ retinal necrosis สุดท้ายจะเกิดการหลุดลอกของจอประสาทตาซึ่งมีผลทำให้ตาบอดในที่สุด

• การอักเสบของระบบทางเดินอาหาร

ผู้ป่วยหลอดอาหารอักเสบจากเชื้อ CMV มีอาการกลืนเจ็บและกลืนลำบาก ตรวจร่างกายจากการส่องกล้องพบแผลตื้นจำนวนมากร่วมกับรอยแดงบริเวณหลอดอาหาร การวินิจฉัยทำได้โดยการตรวจชิ้นเนื้อหลอดอาหาร พบ intranuclear inclusion หรือเพาะเชื้อ CMV ได้จากเนื้อเยื่อหลอดอาหาร

ผู้ป่วยลำไส้ใหญ่อักเสบจากเชื้อ CMV มีอาการถ่าย

อุจจาระเหลวเป็นน้ำปริมาณมาก หรือถ่ายอุจจาระเป็นเลือด ร่วมกับอาการไข้ การวินิจฉัยโดยการส่องกล้องทางทวารหนัก พบรอยโรคลักษณะ plaque-like pseudomembranes ร่วมกับแผลกึ่งกร่อนบริเวณลำไส้ใหญ่ ในผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรงอาจพบการทะลุหรือเน่าตายของลำไส้ได้

ผู้ป่วยดับอีกเสบจาก CMV แต่มักไม่มีอาการ หรืออาการไม่รุนแรงในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันปกติ ผู้ป่วยอาจมีอาการไข้ อ่อนเพลีย น้ำหนักลด เหลือง ตับโต การตรวจทางห้องปฏิบัติการพบเอนไซม์ตับเพิ่มขึ้นเล็กน้อย การตรวจชิ้นเนื้อดับพบลักษณะ mononuclear cells infiltration, scattered microscopic granuloma และ giant cells อาจแยกเชื้อได้จากเนื้อเยื่อดับ

• ปอดอักเสบ

ปอดอักเสบจากเชื้อ CMV เป็นภาวะแทรกซ้อนที่รุนแรงที่สุดของโรค CMV ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไขกระดูก พบได้น้อยในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันปกติ อัตราการเสียชีวิตของโรคสูงแม้ว่าได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัส ผู้ป่วยจะมาด้วยอาการไอ หายใจหอบเหนื่อย อาการขาดออกซิเจน ภาพถ่ายรังสีปอดพบลักษณะเป็น interstitial pneumonitis การวินิจฉัยจากการตรวจชิ้นเนื้อปอดพบ intracellular inclusion body หรือแยกเชื้อได้จากเนื้อเยื่อปอด

• สมออักเสบ

ภาวะสมออักเสบพบได้ไม่บ่อยในผู้ป่วยติดเชื้อ CMV ที่มีภูมิคุ้มกันปกติ อาการที่พบได้แก่ แขนขาอ่อนแรง ประสาทสัมผัสผิดปกติ ปวดศีรษะอย่างรุนแรง แพ้แสง ซึมลง พบอาการผิดปกติของ pyramidal tract การตรวจน้ำไขสันหลังพบเซลล์ชนิดลิมโฟไซต์เพิ่มขึ้น วินิจฉัยจากการตรวจพบ DNA ของ CMV ในน้ำไขสันหลังร่วมกับอาการทางคลินิก

• การติดเชื้อในโรงพยาบาล

เกิดจากการรับผลิตภัณฑ์ของเลือดที่มีเม็ดเลือดขาวและจากการปลูกถ่ายอวัยวะหรือไขกระดูกของผู้ติดเชื้อ ความเสี่ยงของการติดเชื้อจะเพิ่มขึ้นกรณีที่ได้รับเลือดหรืออวัยวะไม่มีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ CMV หรือได้รับเลือดหรืออวัยวะจากผู้ให้ที่ตรวจพบภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ CMV (R+ หรือ D+)

• โรคติดเชื้อ CMV ในผู้ป่วยเอชไอวี/เอดส์

CMV เป็นเชื้อไวรัสฉวยโอกาสที่สำคัญในผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีระดับ CD4 ต่ำกว่า 50 /ลบ.มม. ทารกที่ติดเชื้อเอชไอวีร่วมกับ CMV มีความสัมพันธ์กับการดำเนินโรคที่รวดเร็วมากขึ้น ในผู้ป่วยเอดส์ผู้ใหญ่พบการอักเสบของจอประสาทตาจากเชื้อ CMV บ่อยที่สุดประมาณร้อยละ 85 อาจพบการอักเสบของหลอดอาหารและลำไส้ ขณะที่โรคติดเชื้อจาก CMV พบได้น้อยกว่าในผู้ป่วยเอชไอวีเด็ก มีการศึกษาพบว่าปริมาณ DNA ของ CMV ในพลาสมาของผู้ป่วยเอดส์มีความสัมพันธ์กับการดำเนินโรคที่เร็วขึ้น⁹

• โรคติดเชื้อ CMV ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ

ผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะที่มีภูมิคุ้มกันต่อ CMV ทั้งผู้ให้หรือผู้รับ มีโอกาสพบการติดเชื้อประมาณร้อยละ 50-100 หลังการปลูกถ่ายอวัยวะและได้รับยากดภูมิคุ้มกันซึ่งเกิดจากการเป็นกลไกซ้ำของไวรัสที่ซ่อนเร้นโดยจะพบไวรัสในกระแสเลือด viral shedding และอาการของการติดเชื้อ CMV ระหว่าง 4-12 สัปดาห์หลังจากการปลูกถ่ายอวัยวะ อาการ อาการแสดงและผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่บ่งชี้ถึงการติดเชื้อ CMV ได้แก่ ไข้ ปวดเมื่อยตามร่างกาย ปวดข้อ เม็ดเลือดขาวต่ำ หรือ pancytopenia ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการพบการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ตับ อาจพบภาวะแทรกซ้อนที่รุนแรง เช่น ปอดอักเสบ จอประสาทตาอักเสบ แผลในทางเดินอาหาร นอกจากนี้การติดเชื้อ CMV มีผลทางอ้อม ได้แก่ เพิ่มความเสี่ยงของการติดเชื้อฉวยโอกาส เช่น *Pneumocystis jirovecii*, *Aspergillus spp.* การทำงานของอวัยวะปลูกถ่ายลดลงจนอาจปฏิเสธอวัยวะที่ได้รับ

• โรคติดเชื้อ CMV ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไขกระดูก

ผู้ป่วยปลูกถ่ายไขกระดูกที่มีอาการจากการติดเชื้อ CMV พบการอักเสบของปอดและทางเดินอาหารมากที่สุด โดยการอักเสบของปอดที่พบมีความรุนแรงเป็นสาเหตุการเสียชีวิตที่สำคัญ

การวินิจฉัย

การตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM และ IgG โดยวิธี enzyme immunoassay ไม่ช่วยในการวินิจฉัยการติดเชื้อ CMV ในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่อง แต่สามารถใช้คัดกรองการติดเชื้อในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันปกติได้ โดยให้การวินิจฉัยการติดเชื้อปฐมภูมิเมื่อผล CMV IgG เปลี่ยนจากลบเป็นบวก การวินิจฉัยการติดเชื้อปฐมภูมิในหญิงตั้งครรภ์ทำโดยการคัดกรองด้วย CMV IgM และยืนยันการตรวจด้วย IgG antibody avidity testing

การวินิจฉัยการติดเชื้อ CMV แต่กำเนิดทำได้โดยการแยกเชื้อไวรัสจากสารน้ำหรือสารคัดหลั่งในร่างกายภายใน 3 สัปดาห์แรกของชีวิต ตัวอย่างที่ดีที่สุดคือ ปัสสาวะ และสารคัดหลั่งจากช่องปาก วิธีการแยกเชื้อจากการเพาะเชื้อในเนื้อเยื่อใช้เวลาอย่างน้อย 2 สัปดาห์ ผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ CMV จะพบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์มีลักษณะเฉพาะ (typical cytopathic change) ปัจจุบันการตรวจหา DNA ของเชื้อ CMV จากสารคัดหลั่งเป็นที่ยอมรับและใช้กันอย่างแพร่หลาย การวินิจฉัยการติดเชื้อ CMV ของทารกในครรภ์สามารถทำได้โดยการตรวจน้ำคร่ำ การเพาะเชื้อ หรือการตรวจ PCR การตรวจพบเชื้อหลังอายุ 3 สัปดาห์ จะไม่สามารถแยกได้ว่าการติดเชื้อเกิดขึ้นตั้งแตอยู่ในครรภ์หรือรับเชื้อภายหลังซึ่งอาจเกิดระหว่างการคลอดหรือจากการรับนมมารดา

ในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่อง การพบเชื้อ CMV ในสารคัดหลั่งเช่น ปัสสาวะหรือน้ำลาย อาจไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค CMV เนื่องจากสามารถพบ viral shedding ได้ในผู้ป่วยติดเชื้อที่ไม่มีอาการ ขณะที่การพบ DNA ของเชื้อ CMV ปริมาณมากในเลือดมีความสัมพันธ์กับโรค CMV มากกว่าการพบเชื้อ CMV จากสารคัดหลั่ง นอกจากนี้การติดเชื้อ CMV ชนิดปฐมภูมิมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค ดังนั้นการพบเชื้อ CMV ในผู้ป่วยที่มีผลแอนติบอดีต่อ CMV เป็นลบมาก่อนจึงช่วยสนับสนุนการวินิจฉัยการติดเชื้อ CMV ในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่อง การตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgG ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะและ

ผู้ป่วยปลูกถ่ายไขกระดูกก่อนการปลูกถ่าย จึงมีความสำคัญเพื่อใช้สนับสนุนการวินิจฉัยการติดเชื้อ CMV

การหาปริมาณเชื้อ CMV ด้วยการเพาะเชื้อจากเลือดเป็นวิธีที่ไม่เหมาะสม เนื่องจากขาดความไวในการวินิจฉัยและใช้เวลานานเป็นสัปดาห์ ปัจจุบันการตรวจวัดปริมาณเชื่อนิยมใช้วิธี PCR เพื่อวัดปริมาณ DNA ของเชื้อ CMV การตรวจอื่นได้แก่ antigenemia assay เป็นการตรวจหาโปรตีน pp65 ในเม็ดเลือดขาวที่ติดเชื้อ CMV โดยการย้อมด้วย monoclonal antibody และดูด้วยกล้องฟลูออเรสเซนซ์ การตรวจ nucleic acid sequence-based amplification (NASBA) และ real-time PCR สามารถนำมาใช้ในการวินิจฉัยได้

การรักษา

การรักษาผู้ป่วยติดเชื้อ CMV ที่มีภูมิคุ้มกันปกติโดยทั่วไปภาวะโมโนนิวคลีโอสิสสามารถหายเองได้จึงไม่มีข้อบ่งชี้ในการใช้ยาต้านไวรัสเพื่อรักษาภาวะโมโนนิวคลีโอสิสในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันปกติ อย่างไรก็ตามมีรายงานการใช้ยาต้านไวรัสในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันปกติที่มีการติดเชื้อ CMV ชนิดรุนแรง

• การรักษาผู้ป่วยติดเชื้อ CMV แต่กำเนิด

ไม่มีคำแนะนำการใช้ยาต้านไวรัสเพื่อรักษาทารกที่ติดเชื้อ CMV แต่กำเนิด อย่างไรก็ตามมีการศึกษาเปรียบเทียบการใช้ยา ganciclovir ขนาด 12 มก./กก./วัน ทางเส้นเลือด แบ่งให้วันละสองครั้ง ในทารกติดเชื้อ CMV แต่กำเนิดที่มีอาการรุนแรงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ เทียบกับยาหลอกพบว่า กลุ่มที่ได้ยา ganciclovir มีการได้ยินดีขึ้นร้อยละ 68 เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้ยาหลอก (ร้อยละ 21) เมื่อติดตามผู้ป่วยที่อายุมากกว่า 1 ปี 10 อย่างไรก็ตามยาด้านไวรัสไม่มีผลต่อการดำเนินโรคและผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ เช่น จำนวนเกร็ดเลือดและผลการทำงานของตับ ผลข้างเคียงของยา ganciclovir ที่สำคัญได้แก่ระดับเม็ดเลือดขาวนิวโทรฟิลต่ำ ทำให้ผู้ป่วยบางส่วนต้องปรับลดขนาดหรือหยุดยา การใช้ยา ganciclovir เพื่อรักษาทารกแรกเกิดที่มีจอประสาทตาอักเสบจากเชื้อ CMV

พบว่ามีการดำเนินโรคเพิ่มขึ้นหลังจากหยุดยา นอกจากนี้มีผลการทดลองในสัตว์พบว่า ganciclovir มีพิษต่อระบบสืบพันธุ์ และอาจก่อมะเร็งได้ อย่างไรก็ตามมีผู้เชี่ยวชาญแนะนำให้ใช้ ganciclovir ในการรักษาทารกติดเชื้อ CMV แต่กำเนิดที่มีอาการรุนแรงเนื่องจากมีข้อมูลสนับสนุนว่าการรักษามีประโยชน์มากกว่าความเสี่ยงที่เกิดจากยา สำหรับยา valganciclovir ชนิดรับประทานมีข้อจำกัดเนื่องจากขาดการศึกษาทางเภสัชจลศาสตร์และการศึกษาทางคลินิกในการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อ CMV แต่กำเนิด

• การรักษาผู้ป่วยติดเชื้อ CMV ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง

- ผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี ผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีผู้ใหญ่ เด็กและวัยรุ่นที่มีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ CMV และมีระดับเม็ดเลือดขาว CD4 ต่ำกว่า 50 เซลล์/ลบ.มม. มีคำแนะนำให้ยา ganciclovir เพื่อป้องกันโรค CMV และให้ตรวจตาเพื่อค้นหาและให้การรักษาผู้ป่วยที่มีจอประสาทตาอักเสบจากเชื้อ CMV พิจารณาหยุดยา ganciclovir ได้เมื่อตรวจพบระดับเม็ดเลือด CD4 เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นเวลามากกว่า 6 เดือนหลังจากได้ยาด้านไวรัส กรณีผู้ป่วยเกิดจอประสาทตาอักเสบจากเชื้อ CMV พิจารณาให้การรักษาด้วย ganciclovir ขนาด 7.5-15 มก./กก./วัน ทางหลอดเลือดดำ แบ่งให้วันละสามครั้ง นาน 14-21 วัน หรือจนกว่าอาการจะดีขึ้น ตามด้วยการให้ยา maintenance ขนาด 5-6 มก./กก./วัน 5-7 วันต่อสัปดาห์เพื่อป้องกันการกลับเป็นซ้ำ⁵ ทางเลือกอื่นในการป้องกันการกลับเป็นซ้ำได้แก่ การใช้ ganciclovir implant ร่วมกับ ganciclovir ชนิดรับประทาน สำหรับยาด้านไวรัสอื่น เช่น cidofovir และ foscarnet ยังมีข้อจำกัด ในทารกที่เกิดจากมารดาติดเชื้อเอชไอวี หรือทารกติดเชื้อเอชไอวีที่มีโรคจากเชื้อ CMV ร่วม แนะนำให้รักษาด้วย ganciclovir ขนาด 6 มก./กก. ทางเส้นเลือดทุก 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 6 สัปดาห์

• ผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ การให้ยาด้านไวรัส CMV ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะมีข้อบ่งชี้ในการป้องกัน และการรักษาการติดเชื้อ CMV การให้ยาด้านไวรัสเพื่อทำให้ระดับ

DNA ของเชื้อ CMV ลดลง สามารถป้องกันการเกิดโรค CMV ได้ (preemptive therapy) มีการศึกษาพบว่า การให้ยา ganciclovir สามารถป้องกันการเกิดโรค CMV ได้ในเวลา 100 วันหลังการปลูกถ่ายไขกระดูก¹¹ อย่างไรก็ตาม ยาด้านไวรัสสามารถป้องกันการเกิดโรคจากเชื้อ CMV ได้ในระยะแรก (early onset) แต่ไม่สามารถป้องกันโรคในระยะหลัง (late onset) ได้ ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะที่เกิดโรค CMV แนะนำให้รักษาด้วยยา ganciclovir ขนาด 5 มก./กก. ทางเส้นเลือดทุก 12 ชั่วโมง จนอาการและผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการดีขึ้นและระดับไวรัสในเลือดลดลง ระยะเวลาดำเนินการรักษานี้เฉลี่ยประมาณ 2 สัปดาห์ หลังควบคุมโรคได้พิจารณาลดขนาดยา ganciclovir เหลือวันละครั้ง 5 วันต่อสัปดาห์ หรือให้ยา ganciclovir หรือ valganciclovir รับประทานวันละครั้ง

การให้ยาป้องกันโรค CMV ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะพิจารณาในผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรค CMV เช่น ผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะจากผู้ให้ที่มีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อโดยผู้รับไม่มีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ CMV (D+/R-) และผู้รับอวัยวะที่มีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ CMV (R+) แม้ว่าการป้องกันโรคด้วยยาด้านไวรัสสามารถป้องกันการเกิดโรคได้แต่ความเสี่ยงของการเกิดเชื้อไวรัสต่อยาจะเพิ่มขึ้น

• การป้องกัน

การถ่ายทอดเชื้อ CMV เกิดจากการสัมผัสสารคัดหลั่งที่ปนเปื้อนเชื้อ การล้างมือและการรักษาอนามัยส่วนบุคคลจึงเป็นวิธีการป้องกันการถ่ายทอดเชื้อที่สำคัญ สำหรับการถ่ายทอดเชื้อ CMV ภายในโรงพยาบาลส่วนใหญ่เกิดจากการรับเลือด สามารถป้องกันโดยการกรองเม็ดเลือดขาว หรือการใช้ผลิตภัณฑ์ของเลือดจากผู้บริจาคที่มีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ CMV เป็นลบ

Passive immunization

CMV immunoglobulin มีการศึกษา randomized, placebo-controlled clinical trials พบว่าการใช้ CMV immunoglobulin (CMV IGIV) สามารถป้องกันการเกิดโรค

CMV ในผู้ป่วยผู้ใหญ่ที่ปลูกถ่ายไต โดยไม่ลดอัตราการติดเชื้อ¹ อย่างไรก็ตาม CMV IGIV ไม่ช่วยป้องกันการเกิดโรค CMV ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไขกระดูก สำหรับการป้องกันการถ่ายทอดเชื้อ CMV จากมารดาสู่ทารกมีการศึกษาแสดงว่าการใช้ CMV IGIV สามารถป้องกันการติดเชื้อของทารกและลดความเสี่ยงของการเกิดความผิดปกติจากการติดเชื้อ CMV แต่กำเนิดได้¹²

วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อเอชอีบีวี

ปัจจุบันยังไม่มีวัคซีนป้องกัน CMV ที่ได้รับการรับรอง วัคซีนป้องกันการติดเชื้อ CMV อยู่ระหว่างขั้นตอนการพัฒนาเพื่อใช้ป้องกันโรคในกลุ่มเสี่ยง

- **วัตถุประสงค์หลักของการพัฒนาวัคซีน**

เนื่องจากเชื้อ CMV เป็นสาเหตุสำคัญของโรคติดเชื้อที่ก่อให้เกิดความเจ็บป่วยรุนแรงในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันปกติ และเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่อง การพัฒนาวัคซีนป้องกันโรค CMV จึงถูกจัดลำดับความสำคัญในการพัฒนาเป็นลำดับแรก วัตถุประสงค์หลักของการพัฒนาวัคซีนคือการป้องกันโรค CMV ในกลุ่มเสี่ยง ได้แก่ ผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ ผู้ป่วยปลูกถ่ายไขกระดูก หญิงตั้งครรภ์ที่มีความเสี่ยงต่อการถ่ายทอดเชื้อ CMV สู่ทารก อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังไม่มีวัคซีนใดมีประสิทธิภาพสูงพอในการป้องกันโรค CMV

วัคซีนป้องกันการติดเชื้อ CMV ที่มีการศึกษาพัฒนาในปัจจุบันสามารถจำแนกออกตามหลักการที่ใช้พัฒนาออกเป็น

1. Live attenuated virus vaccine

วัคซีน CMV สายพันธุ์ Towne มีการศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตพบว่า วัคซีนไม่ลดการติดเชื้อ CMV แต่ลดความรุนแรงของโรค CMV เมื่อเทียบกับยาหลอก^{13,14} อย่างไรก็ตามวัคซีน Towne ไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อ CMV ในผู้หญิงทำงานในสถานเลี้ยงเด็กที่ไม่มีภูมิต่อเชื้อ CMV ไม่มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดโรคในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะอื่น

เนื่องจากวัคซีนมีประสิทธิภาพในการสร้างภูมิคุ้มกันต่ำเมื่อเทียบกับการติดเชื้อตามธรรมชาติ จึงมีการพัฒนาวัคซีนชนิด chimeric ซึ่งเป็นวัคซีนที่ประกอบด้วยเชื้อ CMV 2 สายพันธุ์ ได้แก่ เชื้อสายพันธุ์ Towne และ เชื้อสายพันธุ์ Toledo ขณะนี้วัคซีนอยู่ระหว่างการศึกษาคงความปลอดภัยและระดับภูมิคุ้มกันจากวัคซีน¹⁵

2. Subunit vaccine

Purified recombinant glycoprotein B (วัคซีน gB) เป็นวัคซีนที่เลือกส่วน glycoprotein B บริเวณเปลือกของไวรัส ซึ่งเป็นตำแหน่งเป้าหมายของ neutralizing antibody จากการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า วัคซีนมีประสิทธิภาพในการป้องกันการติดเชื้อ CMV แต่กำเนิด สำหรับการศึกษานในมนุษย์อยู่ในระยะที่ 2 เป็นการศึกษาในหญิงตั้งครรภ์โดยใช้วัคซีน gB ที่มี MF59 เป็น adjuvant พบว่าวัคซีนมีประสิทธิภาพในการป้องกันการติดเชื้อ CMV อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับยาหลอก¹⁶

3. DNA vaccine

ปัจจุบันมีการศึกษาประสิทธิภาพและความปลอดภัยของวัคซีน DNA ทั้งในมนุษย์และสัตว์ทดลอง จากการศึกษาในหนูตะเภาพบว่าการให้วัคซีน gB DNA ก่อนการตั้งครรภ์สามารถป้องกันการถ่ายทอดเชื้อ CMV ไปยังลูกหนูได้บางส่วน¹⁷ มีการศึกษาระยะที่ 1 ของวัคซีนชนิด bivalent CMV DNA พบว่ามีความปลอดภัยและสร้างภูมิคุ้มกันได้ดี¹⁸ นอกจากนี้มีการศึกษาโดยใช้วัคซีนสายพันธุ์ Towne ฉีดกระตุ้นกลุ่มศึกษาที่ได้วัคซีน DNA ที่ประกอบด้วย pp65, IE1, และ gB พบว่า มีการตอบสนองต่อ pp65 T cell และแอนติบอดี gB เร็วขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการให้วัคซีนสายพันธุ์ Towne เพียงชนิดเดียว¹⁹ ขณะนี้วัคซีน DNA อยู่ระหว่างการประเมินเพื่อนำมาใช้ป้องกันการติดเชื้อ CMV ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไขกระดูก

4. Vector system

หลักการของวัคซีน vector คือการปรับเปลี่ยนพันธุกรรมของเชื้อไวรัสชนิดอื่นเพื่อกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ CMV ปัจจุบันมีวัคซีนที่อยู่ในขั้นตอนการ

พัฒนา 2 ชนิดได้แก่ modified vaccinia virus Ankara MVA²⁰ และ alphavirus vector ที่ attenuated variant ของ Venezuelan equine encephalitis virus ผลการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่าสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ทั้งชนิด humoral และ cellular^{21,22}

วัคซีนในอนาคต

การพัฒนาวัคซีนป้องกันการติดเชื้อ CMV ในอนาคตมีเป้าหมายในการเพิ่มการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน โดยการหาส่วนประกอบของเชื้อที่เหมาะสมเพื่อนำมาพัฒนาวัคซีน เนื่องจากภูมิคุ้มกันที่ได้จากวัคซีนสายพันธุ์ Towne และ subunit ที่มีอยู่ในปัจจุบันอยู่ในระดับต่ำกว่าการติดเชื้อตามธรรมชาติ การพัฒนาวัคซีนจึงมุ่งเน้นวัคซีนที่สร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ CMV มากขึ้นโดยเฉพาะการสร้างภูมิคุ้มกันชนิด humoral

เอกสารอ้างอิง

1. Pass RF. Cytomegalovirus in Long SS, Lary K Pickering LK, Prober CG, editors. Long: Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases 3rd ed. Philadelphia: Elsevier Inc;2009. p.1029-36.
2. American Academy of Pediatrics. Cytomegalovirus infection. In: Pickering LK, Baker CJ, Kimberlin DW, Long SS, editors. Red Book: 2009 Report of the Committee on Infectious Diseases. 28th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 2009. p. 275-80.
3. Amarapal P, Tantivanich S, Balachandra K. Prevalence of cytomegalovirus in Thai blood donors by monoclonal staining of blood leukocytes. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2001;32:148-53.
4. Likitnukul S, Bhattarakosol P, Poovorawan Y. Seroprevalence of cytomegalovirus infection in

children born to HIV-1 infected women. Asian Pac J Allergy Immunol. 2003;21:127-30.

5. Clyde S, Crumpacker II, Jie LZ. Cytomegalovirus in Mandell GL, Bennett EJ, Dolin R, editors. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases 7th ed. Philadelphia: Elsevier Inc;2010. p.1071-87.

6. Boeckh M, Leisenring W, Riddell SR, Bowden RA, Huang ML, Myerson D, et al. Cytomegalovirus disease and mortality in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants: importance of viral load and T-cell immunity. Blood. 2003;101:407-14.

7. Erice A, Tierney C, Hirsch M, Caliendo AM, Weinberg A, Kendall MA, et al. Cytomegalovirus (CMV) and human immunodeficiency virus (HIV) burden, CMV end-organ disease, and survival in subjects with advanced HIV infection (AIDS Clinical Trials Group Protocol 360). Clin Infect Dis. 2003;37:567-78.

8. Fowler KB, Stagno S, Pass RF, Britt WJ, Boll TJ, Alford CA. The outcome of congenital cytomegalovirus infection in relation to maternal antibody status. N Engl J Med. 1992;326:663-7.

9. Deayton JR, Prof Sabin CA, Johnson MA, Emery VC, Wilson P, Griffiths PD. Importance of cytomegalovirus viraemia in risk of disease progression and death in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. Lancet. 2004 ;363:2116-21.

10. Nassetta L, Kimberlin D, Whitley R. Treatment of congenital cytomegalovirus infection: implications for future therapeutic strategies. J Antimicrob Chemother. 2009;63:862-7.

11. Goodrich JM, Mori M, Gleaves CA, Du Mond C, Cays M, Ebeling DF, et al. Early treatment with ganciclovir to prevent cytomegalovirus disease after allogeneic bone marrow transplantation. N Engl

J Med. 1991;325:1601-7.

12. Nigro G, Adler SP, La Torre R, Best AM; for Congenital Cytomegalovirus Collaborating Group. Passive immunization during pregnancy for congenital cytomegalovirus infection. *N Engl J Med.* 2005;353:1350—62.

13. Plotkin SA, Smiley ML, Friedman HM, Starr SE, Fleisher GR, Wlodaver C, et al. Towne-vaccine-induced prevention of cytomegalovirus disease after renal transplants. *Lancet.* 1984;1:528-30.

14. Plotkin SA, Starr SE, Friedman HM, Brayman K, Harris S, Jackson S, et al. Effect of Towne live virus vaccine on cytomegalovirus disease after renal transplant. *Ann Intern Med.* 1991;114:525—31.

15. Heineman TC, Schleiss M, Bernstein DI, Spaete RR, Yan L, Duke G, et al. A phase 1 study of 4 live, recombinant human cytomegalovirus Towne/Toledo chimerc vaccines. *J Infect Dis.* 2006;193:1350—60.

16. Pass RF, Zhang C, Evans A, Simpson T, Andrews W, Huang ML, et al. Vaccine prevention of maternal cytomegalovirus infection. *N Engl J Med.* 2009;360:1191—9.

17. Schleiss MR, Bourne N, Bernstein DI. Preconception vaccination with a glycoprotein B (gB) DNA vaccine protects against cytomegalovirus (CMV) transmission in the guinea pig model of congenital CMV infection. *J Infect Dis.* 2003;188:1868—74.

18. Wloch MK, Smith LR, Boutsaboualoy S, Reyes L, Han C, Kehler J, et al. Safety and immunogenicity of a bivalent cytomegalovirus DNA vaccine in healthy adult subjects. *J Infect Dis.* 2008;197:1634—42.

19. Jacobson MA, Adler SP, Sinclair E, Black D, Smith A, Chu A, et al. A CMV DNA vaccine primes memory immune responses to live-attenuated CMV (Towne strain). *Vaccine.* 2009;27:1540—8.

20. Wang Z, La Rosa C, Li Z, Ly H, Krishnan A, Martinez J, et al. Vaccine properties of a novel marker gene-free recombinant modified vaccinia Ankara expressing immunodominant CMV antigens pp65 and IE1. *Vaccine.* 2007;25:1132—41.

21. Reap EA, Morris J, Dryga SA, Maughan M, Talarico T, Esch RE, et al. Development and preclinical evaluation of an alphavirus replicon particle vaccine for cytomegalovirus. *Vaccine.* 2007;25:7441—9.

22. Schleiss MR, Lacayo JC, Belkaid Y, McGregor A, Stroup G, Rayner J, et al. Preconceptual administration of an alphavirus replicon UL83 (pp65 homolog) vaccine induces humoral and cellular immunity and improves pregnancy outcome in the guinea pig model of congenital cytomegalovirus infection. *J Infect Dis.* 2007; 195:789—98.

