

วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อไวรัสพาราอินฟลูเอนซาและอาร์เอสวี

39

ชนเมธ เตชะแสนศิริ

บทนำ

อาร์เอสวี (Respiratory syncytial virus; RSV) เป็นสาเหตุสำคัญของโรคติดเชื้อในทางเดินหายใจส่วนล่างที่พบได้บ่อยในทารกและเด็กทั่วโลก^{1,2} ในประเทศไทยพบว่ามีสายพันธุ์ 31-41 ของโรคปอดอักเสบในเด็กอายุน้อยกว่า 5 ปี มีสาเหตุจากการติดเชื้อ RSV^{3,4} ประมาณร้อยละ 25 ของเด็กไทยอายุน้อยกว่า 1 ปีที่นอนโรงพยาบาลเนื่องจากปอดอักเสบติดเชื้อ RSV⁵ นอกจากนี้ RSV ยังเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อปอดที่รุนแรงในผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิด (human stem cell transplant)⁶ ผู้สูงอายุก็มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ RSV และมีอาการรุนแรงเช่นกัน^{3,7}

ไวรัสฮิวแมนพาราอินฟลูเอนซาชนิด 1, 2 และ 3 (human parainfluenza viruses type 1, 2 และ 3; HPIV1, HPIV2 และ HPIV3 ตามลำดับ) เป็นเชื้อก่อโรคในทางเดินหายใจที่สำคัญในทารกและเด็กเล็ก ประมาณร้อยละ 25 ของเด็กกลุ่มนี้จะมีอาการจากการติดเชื้อ HPIV ซึ่งอาจเป็นการติดเชื้อในทางเดินหายใจส่วนบนหรือทางเดินหายใจส่วนล่างก็ได้ เชื้อ HPIV1 และ HPIV2 เป็นสาเหตุสำคัญของโรค Croup ซึ่งพบในเด็กอายุระหว่าง 6 เดือนถึง 2 ปี เชื้อ HPIV3 เป็นสาเหตุสำคัญของโรคหลอดลมฝอยอักเสบ (bronchiolitis) และปอดอักเสบ (pneumonia) โดยเฉพาะในเด็กอายุน้อยกว่า 1 ปี⁹⁻¹¹ นอกจากนี้เชื้อ HPIV3 ยังทำให้เกิดโรคติดเชื้อในทางเดินหายใจส่วนล่างที่รุนแรงในผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเช่นเดียวกับ RSV^{12,13}

ทั้ง RSV และ HPIVs เป็นเชื้อก่อโรคในทางเดินหายใจ และมักจะก่อโรคที่มีอาการรุนแรงในเด็กเล็ก ซึ่งการ

ตอบสนองของภูมิคุ้มกันอาจยังไม่ค่อยดีหลังจากการรับวัคซีน นอกจากนี้ภูมิคุ้มกันที่ได้รับจากมารดาอาจรบกวนการสร้างภูมิคุ้มกันของเด็กเล็กหลังจากรับวัคซีนด้วย

ทั้ง RSV และ HPIVs สามารถทำให้เกิดการติดเชื้อซ้ำได้ตลอดชีวิต แต่อาการแสดงอาจแตกต่างกัน ในเด็กเล็ก RSV และ HPIV3 สัมพันธ์กับการเกิดโรคในทางเดินหายใจตั้งแต่การติดเชื้อในทางเดินหายใจส่วนบนที่อาการไม่รุนแรง ไปจนถึงภาวะหลอดลมฝอยอักเสบ (bronchiolitis) และปอดอักเสบ (pneumonia) ที่รุนแรงในเด็กที่อายุน้อยกว่า 6 สัปดาห์ อาจมีอาการซึม ไม่ดูดนมหรือหยุดหายใจ โดยที่อาจจะไม่มีอาการทางระบบทางเดินหายใจอื่น HPIV1 และ HPIV2 อาจทำให้เกิดการติดเชื้อในทางเดินหายใจส่วนบนที่ไม่รุนแรง แต่ก็อาจทำให้เกิดโรค croup ได้เช่นกัน^{8,9} โรคหุ้้นกลางอักเสบซึ่งพบได้บ่อยในเด็กอาจเกิดจากการติดเชื้อ RSV หรือ HPIV ได้ โดยเฉพาะ RSV พบว่าเป็นสาเหตุที่พบได้บ่อยในเด็ก¹⁴ อัตราการเสียชีวิตในเด็กที่ติดเชื้อ RSV ที่ต้องรักษาตัวในโรงพยาบาลประมาณร้อยละ 1 แต่อาจจะสูงขึ้นหลายเท่าหากเป็นเด็กคลอดก่อนกำหนด^{15,16} เด็กที่มีปัญหาโรคปอดเรื้อรัง¹⁷ เด็กที่เป็นโรคหัวใจพิการแต่กำเนิด¹⁸ หรือเด็กที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องชนิดปฐมภูมิ^{19,20}

ความสัมพันธ์ระหว่างการติดเชื้อ RSV ในช่วงเด็กเล็กกับการเกิดภาวะหลอดลมไว (reactive airway disease) ยังไม่เป็นที่ชัดเจน ทารกที่ติดเชื้อ RSV และได้รับการรักษาตัวในโรงพยาบาลมักจะตรวจพบความผิดปกติของการทำงานของปอด (pulmonary function) ได้ต่ออีกเป็นเวลาหลายปี แม้ว่าจะไม่แสดงอาการผิดปกติให้เห็น²¹ อย่างไรก็ตามยังไม่ทราบแน่ชัดว่าการติดเชื้อ RSV

การทำงานของหลอดลมผิดปกติ หรือการติดเชื้อ RSV เป็นปัจจัยหนึ่งที่เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดอาการในผู้ที่มีความผิดปกติอยู่ก่อน^{21,22}

ผู้ใหญ่ที่แข็งแรงดีเมื่อได้รับเชื้อ RSV และ HPIV มักจะมีอาการของการติดเชื้อในทางเดินหายใจส่วนบนที่ไม่รุนแรง²³ แต่ในผู้สูงอายุอาจมีโอกาสเกิดภาวะปอดอักเสบได้ถึงร้อยละ 10^{24,25} ผู้ป่วยที่มีปัญหาภูมิคุ้มกันบกพร่องโดยเฉพาะผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือด (hematologic malignancies) ผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิด หรือผู้ป่วยที่ได้รับการเปลี่ยนปอด (lung transplant) มีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคติดเชื้อ RSV และ HPIV3 ที่รุนแรง^{12,13,26} ผู้ป่วยเหล่านี้มักมีอาการติดเชื้อในทางเดินหายใจส่วนบนนำมาก่อน มีน้ำมูกไหล ไอกรน ไซนัสอักเสบ หรือปวดหู ซึ่งอาจจะช่วยแยกแยะระหว่างการติดเชื้อ RSV กับการติดเชื้อ cytomegalovirus (CMV)^{6,7,27-30} ความรุนแรงของโรคนั้นขึ้นอยู่กับชนิดและระดับของการได้รับยาภูมิคุ้มกัน ผู้ที่ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดพบว่ามีโอกาสเกิดปอดอักเสบจากเชื้อ HPIV3 หรือ RSV สูงถึงร้อยละ 24-79^{12,31} HPIV3 ยังเป็นสาเหตุของปอดอักเสบในผู้ป่วยที่ได้รับการเปลี่ยนปอดและมีรายงานว่าสัมพันธ์กับการเกิดการต่อต้านของอวัยวะแบบเฉียบพลัน (acute allograft rejection) และเกิดเป็น bronchiolitis obliterans ตามมา³² ในประเทศที่กำลังพัฒนา ผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวีพบว่า มีอัตราการป่วยและการเสียชีวิตสูงขึ้นหากติดเชื้อ RSV และ HPIVs^{33,34}

โรคติดเชื้อไวรัสพาราอินฟลูเอนซาและอาร์เอสวี

เชื้อ HPIVs และ RSV

เชื้อ HPIVs และ RSV จัดอยู่ใน family Paramyxoviridae เชื้อไวรัสจะมีสารพันธุกรรมแบบ single strand of negative-sense RNA ซึ่งจะมีโปรตีนเรียกว่า nucleocapsid หุ้มรอบ envelope ของไวรัสจะมีส่วนประกอบเป็น plasma membrane-derived lipid bilayer ซึ่งจะมี virally encoded transmembrane proteins อยู่ด้วย

RSV จัดอยู่ใน genus Pneumovirus ประกอบไปด้วย 15,222 nucleotides มีหน้าที่ในการสร้างโปรตีนต่างๆ ได้แก่ transmembrane surface proteins (F, G และ SH), matrix proteins (M และ M2), nucleocapsid proteins (N, P และ L) และ nonstructural proteins (NS1 และ NS2) ส่วนประกอบของไวรัสที่สามารถกระตุ้น neutralizing antibody ได้ ได้แก่ surface fusion (F) และ attachment (G) glycoproteins ทั้งสองส่วนนี้จึงมีความสำคัญซึ่งนำมาใช้ในการพัฒนาวัคซีน

RSV สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ A และ B ตามลักษณะที่แตกต่างกันของโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบ³⁵ โดยเฉพาะ G glycoprotein ซึ่งมีความเหมือนกันระหว่าง RSV A และ RSV B เพียงร้อยละ 53 ของกรดอะมิโน (amino acid) เท่านั้น³⁶ RSV A มักจะทำให้เกิดอาการรุนแรงกว่า RSV B

HPIV1 และ HPIV3 จัดอยู่ใน genus Respirivirus ส่วน HPIV2 และ HPIV4 จัดอยู่ใน genus Rubulavirus เชื้อ HPIV แต่ละชนิดประกอบไปด้วย 15,500 nucleotides มีหน้าที่สร้างโปรตีนต่างๆ ได้แก่ transmembrane surface proteins (F และ HN), matrix protein (M) และ nucleocapsid proteins (N, P และ L) ส่วน surface fusion (F) และ hemagglutinin-neuraminidase และ (HN) glycoproteins เป็นส่วนประกอบของไวรัสที่สามารถกระตุ้น neutralizing antibody และ hemagglutination-inhibiting (HI) antibody (ในกรณีของ HN) ส่วนประกอบทั้งสองนี้จึงมีความสำคัญที่นำมาใช้ในการพัฒนาวัคซีน

ระบาดวิทยา

เด็กเกือบทุกรายมักจะเคยติดเชื้อ RSV มาแล้วที่ก่อนอายุ 2 ปี และประมาณร้อยละ 50 ของเด็กกลุ่มนี้เคยติดเชื้อ RSV มาแล้ว 2 ครั้ง³⁷ เชื้อ HPIV3 ก็เช่นเดียวกัน พบว่าร้อยละ 60 ของเด็กอายุ 2 ปี และร้อยละ 80 ของเด็กอายุ 4 ปี เคยติดเชื้อ HPIV3 มาแล้วอย่างน้อย 1 ครั้ง^{38,39} เชื้อ HPIV1 และ HPIV2 มักจะติดที่อายุมากกว่า ที่อายุ 5 ปี เด็กส่วนมากมักจะเคยติดเชื้อ HPIV2 มาแล้ว และประมาณ

ร้อยละ 75 ของเด็กอายุ 5 ปี มักจะเคยติดเชื้อ HPIV1 มาแล้วอย่างน้อย 1 ครั้ง^{38,39} ผู้ที่เคยติดเชื้อไวรัสพวกนี้มาแล้ว อาจจะติดเชื้อซ้ำอีกได้ แต่ส่วนมากในเด็กโตหรือผู้ใหญ่ที่ไม่มีโรคประจำตัวมักจะไม่มีอาการหรือมีอาการไม่รุนแรง²³

การระบาดของเชื้อ RSV พบได้ทุกปี ในประเทศที่อยู่ในเขตอบอุ่น (temperate climates) มักพบการติดเชื้อ RSV มากในช่วงฤดูหนาวและตอนเริ่มต้นเข้าฤดูใบไม้ผลิ ส่วนประเทศที่อยู่ในเขตร้อน (tropical climates) มักพบการระบาดในช่วงฤดูฝน^{40,41} ในประเทศไทยมักพบการระบาดของเชื้อ RSV มากในช่วงฤดูฝน ระหว่างเดือนกรกฎาคมถึงเดือนตุลาคม^{4,5} มักพบเชื้อ RSV ทั้งชนิด A และ B ในช่วงของการระบาด แต่อาจมีชนิดใดชนิดหนึ่งที่เด่นกว่า^{5,42,43} ในประเทศที่อยู่ในเขตอบอุ่น เชื้อ HPIV3 มักเกิดการระบาดในช่วงฤดูใบไม้ผลิและฤดูร้อน เชื้อ HPIV1 และ HPIV2 มักเกิดการระบาดในช่วงฤดูใบไม้ร่วง แต่เชื้อ HPIV2 สามารถพบได้ตลอดปี⁴⁴

เชื้อ RSV และ HPIVs พบเฉพาะในมนุษย์เท่านั้น การแพร่กระจายของเชื้อ RSV และ HPIVs สามารถแพร่กระจายโดยการสัมผัสโดยตรงกับน้ำมูกที่ปนเปื้อนเชื้อหรือสัมผัสทางอ้อมกับสิ่งของเครื่องใช้ที่ปนเปื้อนเชื้อ เชื้อ RSV สามารถอยู่บนพื้นผิวที่ปนเปื้อนได้นานหลายชั่วโมง จึงเป็นสาเหตุให้พบการแพร่กระจายของเชื้อ RSV ในโรงพยาบาลโดยเฉพาะในหอผู้ป่วยเด็กได้⁴⁵ เชื้อ HPIV3 ก็พบว่าสามารถทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อในโรงพยาบาลเช่นเดียวกัน โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีปัญหาภูมิคุ้มกันบกพร่อง^{40,46,47}

พยาธิกำเนิด

เชื้อ RSV จะแบ่งตัวในนาโซฟาริงซ์ และอาจจะไปยังทางเดินหายใจส่วนล่างโดยผ่านไปกับสิ่งคัดหลั่งในทางเดินหายใจ โดยทั่วไปในผู้ที่ไม่มีคามผิดปกติทางภูมิคุ้มกัน การติดเชื้อมักจะอยู่เฉพาะในทางเดินหายใจเท่านั้น⁴⁸ นอกจากนี้ RSV ยังทำให้เกิดการติดเชื้อของเซลล์ monocyte และ macrophage ซึ่งก็เป็นอีกทางหนึ่งที่ทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อในทางเดินหายใจ^{49,50}

และอาจจะทำให้เกิดการแพร่กระจายไปในระบบอื่น ๆ ในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง^{28,51} ผู้ป่วยที่ติดเชื้อ RSV ส่วนมากจะมีพยาธิสภาพเฉพาะในทางเดินหายใจ ในระยะแรกของภาวะหลอดลมฝอยอักเสบจากเชื้อ RSV พบว่ามี lymphocyte อยู่บริเวณรอบๆ ของหลอดลมฝอย (lymphocytic peribronchiolar infiltration) ร่วมกับอาการบวม ต่อมาจะมีการตายของเซลล์เยื่อบุของหลอดลมฝอย (bronchiolar epithelium)⁵² สิ่งคัดหลั่งจากทางเดินหายใจและเซลล์เยื่อบุของทางเดินหายใจที่ลอกหลุดออกจะไปอุดหลอดลมฝอยซึ่งมีขนาดเล็กในเด็กทารก เป็นผลให้เกิดการหายใจลำบากโดยเฉพาะขณะหายใจออกเมื่อความดันในทรวงอกสูงขึ้น ทำให้มีอากาศค้างอยู่ภายในปอดและปอดขยายตัวมาก (hyperinflation) นอกจากนี้ RSV ยังทำลายขนโบก (ciliary apparatus) ที่อยู่ในหลอดลมฝอยด้วย⁵³ ทำให้การกำจัดของเสียในหลอดลมฝอยทำได้ไม่ดี ภาวะปอดอักเสบจาก RSV อาจรุนแรงได้มาก โดยเฉพาะในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่อง ผลตรวจทางพยาธิวิทยาจะพบว่าในถุงลมปอดจะมีน้ำอยู่ ผังของถุงลมปอดจะหนาตัวขึ้นและมี lymphocyte อยู่ทั่วๆ⁴⁸ การตอบสนองของภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อ RSV ใช้ทั้งแบบ cellular และ humoral การตอบสนองแบบ cellular จะช่วยในการควบคุมการเพิ่มจำนวนของไวรัสหลังการติดเชื้อแล้ว⁵⁴ antibody ทั้งชนิด IgG และ secretory IgA ต่อเชื้อ RSV ก็มีความสำคัญในการป้องกันการติดเชื้อ RSV และช่วยควบคุมไม่ให้ RSV เพิ่มจำนวนขึ้นหลังจากติดเชื้อแล้ว^{55,56}

พยาธิกำเนิดของการติดเชื้อ HPIV ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่น่าจะคล้ายกับการติดเชื้อ RSV พยาธิสภาพที่ทางเดินหายใจและปอดในผู้ป่วยที่เป็นหลอดลมฝอยอักเสบและปอดอักเสบน่าจะเป็นผลจากการติดเชื้อไวรัสโดยตรงต่อเซลล์เยื่อบุร่วมกับการตอบสนองของภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อ ทำให้เกิดเซลล์ตาย เกิดการบวมและการหลั่งของเอนไซม์ตามมา⁵⁷ ในกรณีของโรค croup พบว่ามีเซลล์ชนิด mononuclear เข้ามาบริเวณ subglottic ภาวะปอดอักเสบและหลอดลมฝอยอักเสบก็คล้ายๆ กัน เซลล์เยื่อบุหลอดลมฝอยและเซลล์เยื่อบุที่มีขนโบก

(ciliated epithelial cells) จะถูกทำลาย บริเวณรอบๆ หลอดลมฝอยจะมีเซลล์หลายชนิดได้แก่ lymphocytes, plasma cells และ macrophages ทำให้เกิดการบวมและมีการหลั่งของสิ่งคัดหลั่งออกมามาก ผนังของถุงลมปอดหนาตัวขึ้นร่วมกับมีเซลล์ชนิด mononuclear เข้ามา ถ้ามีภาวะปอดอักเสบมาก ถุงลมปอดก็จะเต็มไปด้วยของเหลว⁵⁷ หลังการติดเชื้อ HPIV จะมีการสร้างของ antibody ทั้งชนิด IgG และ secretory IgA ระดับของแอนติบอดีจะลดต่ำลงเมื่อเวลาผ่านไป⁵⁸ การติดเชื้อซ้ำเกิดขึ้นได้อย่างไรก็ตามจากการทดลองพบว่าระดับของแอนติบอดีในสิ่งคัดหลั่งสัมพันธ์กับการป้องกันการติดเชื้อมากกว่าระดับของแอนติบอดีในเลือด^{59,60} นอกจากนี้พบว่า IgE ที่จำเพาะต่อ parainfluenza ในสิ่งคัดหลั่งของผู้ป่วยโรคหลอดลมฝอยอักเสบมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค⁶¹ จากการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่าการตอบสนองของภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ (cell-mediated) มีความสำคัญมากในการกำจัดเชื้อไวรัสออกจากทางเดินหายใจส่วนล่าง⁶²⁻⁶⁵ ในผู้ป่วยที่เป็นโรคหลอดลมฝอยอักเสบหรือ croup จากการติดเชื้อ HPIV พบว่ามีการตอบสนองของภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์มากกว่าผู้ป่วยที่มีอาการเฉพาะในทางเดินหายใจส่วนบน⁶⁶

อาการทางคลินิก

เชื้อไวรัส HPIVs และ RSV ทำให้เกิดการติดเชื้อในทางเดินหายใจได้บ่อยทั้งส่วนบนและส่วนล่าง การติดเชื้อในทางเดินหายใจส่วนบน ผู้ป่วยมักมีอาการไข้ น้ำมูกไหล ไอ จาม เจ็บคอ ภาวะกล่องเสียงอักเสบ (laryngitis) จากเชื้อ HPIVs พบได้ในทุกอายุ เชื้อ HPIV1 และ HPIV2 เป็นสาเหตุที่สำคัญของโรค croup ซึ่งพบได้บ่อยในเด็กอายุระหว่าง 6 เดือนถึง 2 ปี⁶⁷ เด็กโตและผู้ใหญ่ หากติดเชื้อ RSV หรือ HPIVs มักทำให้เกิดแค่โรคติดเชื้อในทางเดินหายใจส่วนบน โรคหลอดลมฝอยอักเสบมักพบในเด็กอายุน้อยกว่า 2 ปี ซึ่งส่วนมากเกิดจากการติดเชื้อ RSV ในเด็กอายุน้อยกว่า 6 เดือนเชื้อ HPIV3 พบได้รองลงมา แต่ในเด็กอายุระหว่าง 6-18 เดือนพบว่า

เชื้อ HPIV1 และ HPIV2 พบได้บ่อยกว่า HPIV3^{59,67} โรคหลอดลมฝอยอักเสบจากเชื้อ HPIVs มักมีความรุนแรงน้อยกว่าเชื้อ RSV และมักไม่ค่อยเกิดภาวะการหายใจล้มเหลว เด็กทารกที่เป็นโรคหลอดลมฝอยอักเสบมักมีอาการหายใจหอบ ร่วมกับมี nasal flaring, intercostals retractions และช่วงหายใจออกจะนาน (prolonged expiration) ตรวจร่างกายจะได้ยินเสียง wheezing ภาพรังสีทรวงอกมักจะเห็นลักษณะ hyperinflation ร่วมกับการหนาตัวบริเวณขั้วปอด (peribronchiolar thickening) ถ้ามีปอดอักเสบ การตรวจร่างกายอาจได้ยิน crepitations ร่วมด้วย ทารกที่ติดเชื้อ RSV และ HPIVs อาจมีอาการหยุดหายใจ (apnea) ได้ โดยเฉพาะทารกที่เกิดก่อนกำหนด และทารกที่อายุน้อยกว่า 6 สัปดาห์

ผู้ป่วยที่มีปัญหาภูมิคุ้มกันบกพร่องแต่กำเนิด ผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะ หากติดเชื้อ RSV หรือ HPIVs อาจมีอาการที่รุนแรงมากหรือเสียชีวิตได้^{31,68-72}

การวินิจฉัย

การวินิจฉัยการติดเชื้อ HPIVs และ RSV ทำได้โดยตรวจสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจ ซึ่งควรส่งตรวจตั้งแต่วัยแรกของการเจ็บป่วย วิธีการตรวจที่ทำกันมาก ได้แก่ direct immunofluorescence assays, การเพาะเชื้อ และการตรวจด้วยวิธี reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) การตรวจหา RSV antigen อย่างเร็ว ก็ใช้ได้ผลดีและช่วยในการควบคุมการติดเชื้อโรงพยาบาลได้ดี^{73,74}

การรักษา

โรคติดเชื้อ HPIVs และ RSV ส่วนใหญ่มักจะหายเอง โดยไม่ต้องได้รับยาต้านไวรัส ควรให้การรักษาตามอาการ เช่น การให้ออกซิเจนในกรณีที่มีออกซิเจนในเลือดต่ำ การดูดเสมหะ หรือการใช้เครื่องช่วยหายใจในกรณีที่มีการหายใจล้มเหลว อย่างไรก็ตามในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องอาจพิจารณาใช้ยาต้านไวรัสร่วมกับการลดยากดภูมิคุ้มกัน

ยา ribavirin ชนิดพ่น (aerosol) มีผลต่อเชื้อ RSV และ HPIVs และอาจพิจารณาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อในทางเดินหายใจส่วนล่างที่รุนแรง โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง หรือผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะ แต่มีข้อมูลจำกัด⁷⁵⁻⁷⁷

Passive immunization ต่อเชื้อ HPIVs และ RSV

ข้อมูลในสัตว์ทดลอง⁷⁸⁻⁸⁰ และข้อมูลทางระบาดวิทยาในมนุษย์⁸¹ สนับสนุนว่า RSV neutralizing antibody สามารถป้องกันโรคติดเชื้อในทางเดินหายใจส่วนล่างได้ มีผลิตภัณฑ์ยา 2 ชนิดซึ่งมี RSV neutralizing antibody อยู่ในปริมาณที่สูง ได้แก่ RSV Immune Globulin Intravenous (RSV-IGIV; RespiGamTM) และ monoclonal RSV neutralizing antibody (palivizumab; SynagisTM)

RSV-IGIV สามารถลดอัตราการเกิดและความรุนแรงของโรคติดเชื้อในทางเดินหายใจส่วนล่าง เมื่อให้กับการกลุ่มเสี่ยงขนาด 750 มก./กก.^{82,83} ปัจจุบันไม่มีจำหน่ายแล้ว ส่วน palivizumab สามารถลดความเสี่ยงในการนอนโรงพยาบาลสำหรับโรคติดเชื้อ RSV ในทารกที่คลอดก่อนกำหนด ทารกที่มีปัญหาโรคปอดเรื้อรัง และทารกที่เป็นโรคหัวใจพิการแต่กำเนิด^{84,85} palivizumab มีความแรงกว่า RSV-IGIV ประมาณ 50-100 เท่า จึงสามารถให้โดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อเดือนละครั้งได้ ปัจจุบันในประเทศสหรัฐอเมริกาได้แนะนำให้ palivizumab ในทารกกลุ่มเสี่ยงในช่วงที่มีการระบาดของเชื้อ RSV⁸⁶ อย่างไรก็ตามการยังไม่พบว่าการให้ palivizumab ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อ RSV แล้วจะช่วยลดความรุนแรงของโรคได้^{87,88}

นอกจากนั้นยังมีการศึกษาวิจัย RSV monoclonal antibody อีกชนิดหนึ่งคือ motavizumab (MEDI-254) ซึ่งมีผลต่อเชื้อ RSV มากกว่า palivizumab และสามารถช่วยลดการแบ่งตัวของ RSV ทั้งในทางเดินหายใจส่วนต้นและส่วนปลายได้⁸⁹⁻⁹¹ นอกจากนั้นการศึกษาในทารกคลอดก่อนกำหนดและทารกที่มีโรคปอดเรื้อรังพบว่า motavizumab มีประสิทธิภาพไม่ด้อยกว่า palivizumab ในการลดความเสี่ยง

ในการนอนโรงพยาบาลเนื่องจากการติดเชื้อ RSV และมีประสิทธิภาพเหนือกว่า palivizumab ในการลดอัตราการมาโรงพยาบาลเนื่องจากการติดเชื้อ RSV ในทางเดินหายใจส่วนล่าง⁹² แต่เนื่องจากพบว่า motavizumab มีโอกาสเกิดปฏิกิริยาภูมิไวเกิน (hypersensitivity adverse reaction) รวมทั้งผื่นลมพิษมากกว่า palivizumab จึงทำให้องค์กรอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกา ไม่อนุมัติให้ใช้ในการป้องกันโรคติดเชื้อ RSV ในระบบทางเดินหายใจส่วนล่างในเด็กที่มีความเสี่ยงเมื่อเดือนมิถุนายน ค.ศ. 2010 ทางบริษัท AstraZeneca ผู้ผลิต motavizumab ได้ประกาศว่าจะไม่ดำเนินการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมเกี่ยวกับการใช้ motavizumab ในการป้องกันการติดเชื้อ RSV แต่จะดำเนินการศึกษาวิจัย motavizumab เพื่อใช้ในการรักษาการติดเชื้อ RSV ต่อ

สำหรับการติดเชื้อ HPIV ปัจจุบันยังไม่มีข้อมูลเพื่อสนับสนุนการใช้ภูมิโกลบูลินในการป้องกันหรือรักษาการติดเชื้อ

วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อไวรัสพาราอินฟลูเอนซาและอาร์เอสวี

เป้าหมายในการพัฒนาวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อ RSV และ HPIV3 ควรมุ่งไปที่การป้องกันในเด็กเล็กโดยเฉพาะในช่วง 2-3 เดือนแรก ส่วนวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อ HPIV1 และ HPIV2 อาจจะมีเป้าหมายเพื่อใช้ในเด็กที่โตกว่า แต่ก็ควรจะใช้ได้ในช่วงอายุก่อน 1 ปีแรก

ในช่วงปีค.ศ.1960 ได้มีการผลิตวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อ RSV โดยใช้ฟอร์มาลินเป็นตัวทำให้ไวรัสหมดฤทธิ์ลง (formalin-inactivated RSV vaccine) และมีการศึกษาวิจัยในทารกและเด็ก แต่ปรากฏว่าผู้ได้รับวัคซีนและไม่เคยติดเชื้อ RSV มาก่อน ไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อ RSV ได้แล้วยังมีอาการที่รุนแรงกว่าหากติดเชื้อ RSV เมื่อเทียบกับผู้ที่ไม่ได้รับวัคซีน⁹³ ซึ่งยังไม่ทราบกลไกที่แน่ชัด แต่อาจเป็นไปได้ว่าวัคซีนอาจไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดระดับภูมิคุ้มกันที่เพียงพอและไม่สามารถกระตุ้นให้เกิด

ภูมิคุ้มกันเฉพาะที่ในทางเดินหายใจได้ นอกจากนั้นวัคซีนนี้ไม่ได้ไปกระตุ้นการตอบสนองโดยใช้ CD8+ cytotoxic T-cell แต่ไปกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบ type 2 helper T-cell ซึ่งกระตุ้นการหลั่งของ interleukin (IL)-4, IL-5 และ IL-10 ทำให้เกิดการอักเสบและหลอดลมตีบมากขึ้น^{94,95} ดังนั้นคุณสมบัติของวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อ RSV นอกจากสามารถกระตุ้นการสร้าง neutralizing antibody แล้ว ยังควรกระตุ้นผ่าน CD8 RSV-specific cytotoxic T cell ด้วย

วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อ RSV ชนิด subunit

ได้มีการศึกษาวิจัยวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อ RSV โดยใช้ส่วน glycoprotein F และ G ซึ่งสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดี วัคซีนนี้น่าจะใช้ได้ดีในผู้สูงอายุ และเด็กที่มีความเสี่ยง นอกจากนี้อาจใช้ได้ในหญิงตั้งครรภ์ วัคซีนชนิด subunit ที่มีการศึกษาวิจัยในคนได้แก่ purified F glycoproteins⁹⁶⁻¹⁰², co-purified F, G, และ M proteins¹⁰³⁻¹⁰⁵ และ BBG2Na ซึ่งเป็น peptide จาก G glycoprotein นำไป conjugated กับ albumin-binding domain ของ streptococcal protein G¹⁰⁶⁻¹¹¹

วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อ RSV ชนิด subunit F ซึ่งเรียกว่าเป็น purified F protein (PFP)-1, PFP-2 และ PFP-3 ได้มีการศึกษาในผู้ใหญ่ที่สุขภาพปกติ เด็กที่อายุมากกว่า 12 เดือนทั้งที่ไม่มีโรคประจำตัวและมีโรคประจำตัว (เช่น ทารกเกิดก่อนกำหนดและมีปัญหาโรคปอดเรื้อรังหรือ cystic fibrosis) ผู้สูงอายุ และหญิงตั้งครรภ์^{96-102,112,113} วัคซีนชนิด purified F protein นี้ที่ได้รับการศึกษาในคนนี้พบว่า มีปฏิกิริยาข้างเคียงเกิดขึ้นน้อย และไม่มีคนที่ได้รับวัคซีนรายใดมีอาการรุนแรงหลังการติดเชื้อ ทารกที่เกิดจากหญิงตั้งครรภ์ที่ได้รับวัคซีน PEP-2 มีค่า geometric mean titers ของ RSV F antibody สูงกว่าทารกที่เกิดจากหญิงตั้งครรภ์ที่ไม่ได้รับวัคซีนมากกว่า 4 เท่า ที่ตอนแรกเกิด อายุ 2 เดือน และ 6 เดือน แต่การศึกษานี้ไม่ได้รายงานระดับของ RSV neutralizing antibody¹⁰² การศึกษาแบบ meta-analysis ของ PFP-1 และ PFP-2 ใน

เด็กและผู้ใหญ่ พบว่าวัคซีนเหล่านี้น่าจะช่วยลดอัตราการติดเชื้อ RSV ได้ อย่างไรก็ตาม meta-analysis นี้รวบรวมการศึกษาที่ประกอบไปด้วยกลุ่มประชากรที่แตกต่างกันมาก และอัตราการติดเชื้อ RSV ในทางเดินหายใจส่วนล่างก็ไม่ได้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ¹¹⁴

วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อ RSV ที่ใช้ co-purified F, G และ M proteins จาก RSV A เป็นส่วนประกอบ โดยมีสารเสริมฤทธิ์คือ alum หรือ polydicarboxylatophenoxyphosphazene (PCPP) ได้มีการศึกษาในผู้ใหญ่ พบว่าสามารถกระตุ้น RSV neutralizing antibody ได้ดี¹⁰⁵ แต่พบว่าเมื่อเทียบวัคซีนที่ใช้ alum กับวัคซีนที่ไม่ใช้สารเสริมฤทธิ์ วัคซีนที่ไม่ใช้สารเสริมฤทธิ์สามารถกระตุ้น neutralizing antibody ได้ดีกว่าวัคซีนที่ใช้ alum เป็นสารเสริมฤทธิ์^{103,104}

วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อ RSV ที่ใช้ BBG2Na เป็นส่วนประกอบ การศึกษาในระยะแรกพบว่าผู้ที่ได้รับวัคซีนนี้ไม่มีปฏิกิริยาที่รุนแรง แต่ในการศึกษาระยะที่ 2-3 กลับพบว่าระดับของภูมิคุ้มกันลดลงอย่างชัดเจนภายใน 4 สัปดาห์ ร่วมกับพบว่าผู้ที่ได้รับวัคซีนบางรายมีปฏิกิริยาภูมิแพ้ (hypersensitivity reaction) เกิดขึ้น ปัจจุบันไม่มีการทำการศึกษาวิจัยวัคซีนชนิดนี้ต่อ

วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อ HPIV และ RSV ชนิดเชื้อเป็น (live attenuated)

การใช้วัคซีนเชื้อเป็นโดยการพ่นจมูกนอกจากสามารถกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันขึ้นในกระแสเลือดแล้ว ยังกระตุ้นให้สร้างภูมิคุ้มกันเฉพาะที่ได้ด้วย จึงสามารถป้องกันโรคติดเชื้อทั้งในทางเดินหายใจส่วนต้นและส่วนปลายได้ ภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นนี้จึงคล้ายกับการติดเชื้อตามธรรมชาติ วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อ RSV และ HPIV3 ชนิดเชื้อเป็นโดยการพ่นทางจมูกสามารถที่จะแบ่งตัวในเด็กทารกซึ่งมีภูมิคุ้มกันจากมารดาได้^{115,116} วัคซีนนี้อาจจำเป็นต้องให้หลายครั้งในเด็กทารก

การใช้วัคซีนเชื้อเป็นโดยการพ่นจมูก โดยหลักการเชื้อไวรัสควรจะสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้ที่อุณหภูมิ

น้อยกว่า 37°C. แต่ไม่สามารถแบ่งตัวได้ที่อุณหภูมิ 37 °C. จึงจะลดความเสี่ยงในการเกิดโรคติดเชื้อในทางเดินหายใจส่วนล่าง วิธีการที่จะทำให้เกิดไวรัสที่มีคุณสมบัติดังกล่าวมีหลายวิธี เช่น ทำการแบ่งตัวไวรัสหลายๆ ครั้ง และหาไวรัสที่มีการกลายพันธุ์เป็นไวรัสที่สามารถแบ่งตัวได้เฉพาะที่อุณหภูมิต่ำ (cold-passaged; cp) หรือการใช้สารเคมีทำให้ไวรัสเกิดการกลายพันธุ์เป็นสายพันธุ์ที่ไม่ทนเมื่ออุณหภูมิสูง (temperature-sensitive; ts) หรือทำการตัดต่อทางพันธุกรรม (genetically engineered)

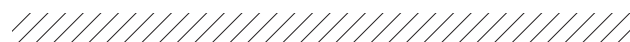
วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อ RSV ชนิดเชื้อเป็น ในระยะแรกๆ เช่น cpRSV, RSV ts-1 และ RSV ts-2¹¹⁷⁻¹²¹ ไม่ค่อยประสบความสำเร็จนัก อย่างไรก็ตามเด็กที่ได้รับวัคซีนแล้วมีการติดเชื้อ RSV พบว่าไม่ทำให้มีอาการรุนแรงมากขึ้น ต่อมาได้มีการพัฒนาวัคซีน cptsRSV โดยใช้ cpRSV เป็นต้นแบบ เช่น cpts248/404 ซึ่งสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันในเด็กอายุมากกว่า 6 เดือนได้¹¹⁵ แต่มากกว่าร้อยละ 70 ของเด็กที่ได้รับวัคซีนมีอาการคัดจมูกในช่วงที่มีปริมาณไวรัสสูง จนบางรายมีปัญหาในการดูดนมและการนอน มีการศึกษาวัคซีน cpts248/955 และ cpts530/1009 ในเด็กอายุมากกว่า 6 เดือน และผู้ใหญ่ แต่พบว่าไม่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันในเด็กที่ไม่เคยติดเชื้อ RSV มาก่อนได้¹²²

วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อ RSV โดยใช้เชื้อ RSV ที่ได้รับการตัดต่อทางพันธุกรรม โดยการตัด (deletion; Δ) nonessential gene (SH, NS1, NS2 หรือ M2-2) ออกร่วมกับทำให้เกิดการกลายพันธุ์ cp และ ts มีหลายแบบ¹²³⁻¹²⁶ แต่สายพันธุ์ที่พบว่าสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดีในเด็กอายุ 1-2 เดือนคือ rA2cp248/404/1030ΔSH อย่างไรก็ตามสายพันธุ์นี้ไม่ค่อยคงสภาพได้ในช่วงที่มีการแบ่งตัว¹²⁵ สายพันธุ์ rA2cpΔNS2, rA2cp530/1009ΔNS2 และ rA2cp248/404ΔNS2 ซึ่งได้รับการตัด NS2 gene เพื่อให้เกิดกระตุ้นภูมิคุ้มกันมากขึ้น ยังมีปัญหาในเรื่องของการถูกทำให้อ่อนฤทธิ์มากเกินไป จึงทำให้แบ่งตัวและกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ไม่ค่อยดี¹²⁶ วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อ RSV ชนิดตัดต่อทางพันธุกรรมควรจะ

ต้องได้รับการปรับปรุงเพื่อให้สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดีโดยที่ไม่ทำให้เกิดอาการจากการติดเชื้อมากนัก

วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อ PIVs ชนิดเชื้อเป็น มี 2 ชนิดที่มีการศึกษาทางคลินิก ได้แก่ HPIV3 cp45 (cp45) และ bovine PIV3 (BPIV3) cp45 พัฒนามาจากเชื้อ HPIV3 สายพันธุ์ JS¹²⁷ ซึ่งมีการกลายพันธุ์ทั้งหมด 20 ตำแหน่ง ทำให้ไวรัสอ่อนฤทธิ์ลงและไม่สามารถแบ่งตัวได้ที่อุณหภูมิสูง^{128,129} BPIV3 มีความคล้ายกับ HPIV3 มาก¹³⁰ วัคซีนทั้งสองชนิดได้มีการศึกษาระยะที่ 1 และ 2 ในผู้ใหญ่ เด็กที่เคยและไม่เคยติดเชื้อ HPIV3 วัคซีน cp45 มีการศึกษาในทารกอายุ 1 เดือนขึ้นไป ขณะที่ BPIV3 ศึกษาในทารกที่อายุ 2 เดือนขึ้นไป วัคซีนทั้งสองนี้มีฤทธิ์อ่อนเกินไปสำหรับผู้ใหญ่และเด็กที่เคยติดเชื้อ HPIV3 มาแล้ว แต่ในเด็กที่ไม่เคยติดเชื้อ HPIV3 และทารกพบว่าสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้ดี^{116,131-134} แต่อัตราการเกิดไข้หรือติดเชื้อในทางเดินหายใจไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับกับกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีน การศึกษาในระยะที่ 1 ของ HPIV3 cp45 พบว่าในเด็กที่ไม่เคยติดเชื้อ HPIV3 ที่ได้รับวัคซีนป่วยเป็นโรคหุ้ชั้นกลางอักเสบมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีน แต่ไม่พบความสัมพันธ์นี้ในทารกที่ได้รับวัคซีน¹¹⁶ และในการศึกษาระยะที่ 2 ในเด็กที่ไม่เคยติดเชื้อ HPIV3¹³⁴ วัคซีน BPIV3 กระตุ้นให้สร้างภูมิคุ้มกันน้อยกว่า cp45 ซึ่งน่าจะเป็นผลจากความคล้ายคลึงกับ hemagglutinin-neuraminidase (HN) proteins ของ HPIV3 น้อยกว่า¹³⁰ ด้วยเหตุผลนี้ในปัจจุบันจึงกำลังพัฒนาวัคซีนชนิด recombinant bovine-human PIV-3 ขึ้น โดยใช้ HN และ F genes ของ HPIV3 และใช้ internal genes ของ BPIV3 ไม่น้อยกว่า 1 ตำแหน่ง¹³⁵

นอกจากนั้นในปัจจุบันยังมีการใช้เชื้อ PIVs เพื่อเป็นพาหะในการพัฒนาวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อร่วมกับไวรัสอื่นๆ เช่น หัด RSV และ human metapneumovirus (HMPV)



เอกสารอ้างอิง

1. Hall CB, Weinberg GA, Iwane MK, Blumkin AK, Edwards KM, Staat MA, et al. The burden of respiratory syncytial virus infection in young children. *N Engl J Med.* 2009;360:588-98.
2. Weber MW, Mulholland EK, Greenwood BM. Respiratory syncytial virus infection in tropical and developing countries. *Trop Med Int Health.* 1998;3:268-80.
3. Olsen SJ, Thamthitiwat S, Chantra S, Chittaganpitch M, Fry AM, Simmerman JM, et al. Incidence of respiratory pathogens in persons hospitalized with pneumonia in two provinces in Thailand. *Epidemiol Infect.* 2010;138:1811-22.
4. Suntarattiwong P, Sojsirikul K, Sitaposa P, Pornpatanangkoon A, Chittaganpitch M, Srijuntongsiri S, et al. Clinical and Epidemiological Characteristics of Respiratory Syncytial Virus and Influenza Virus associated Hospitalization in Urban Thai Infants, 2011. (*J Med Assoc Thai*, pending publication)
5. Fry AM, Chittaganpitch M, Baggett HC, Peret TC, Dare RK, Sawatwong P, et al. The burden of hospitalized lower respiratory tract infection due to respiratory syncytial virus in rural Thailand. *PLoS One.* 2010;5:e15098.
6. Fouillard L, Mouthon L, Laporte JP, Isnard F, Stachowiak J, Aoudjhane M, et al. Severe respiratory syncytial virus pneumonia after autologous bone marrow transplantation: a report of three cases and review. *Bone Marrow Transplant.* 1992;9:97-100.
7. Falsey AR, Walsh EE. Respiratory syncytial virus infection in adults. *Clin Microbiol Rev.* 2000;13:371-84.
8. Reed G, Jewett PH, Thompson J, Tollefson S, Wright PF. Epidemiology and clinical impact of parainfluenza virus infections in otherwise healthy infants and young children < 5 years old. *J Infect Dis.* 1997;175:807-13.
9. Glezen P, Denny FW. Epidemiology of acute lower respiratory disease in children. *N Engl J Med.* 1973;288:498-505.
10. Glezen WP, Frank AL, Taber LH, Kasel JA. Parainfluenza virus type 3: seasonality and risk of infection and reinfection in young children. *J Infect Dis.* 1984;150:851-7.
11. Heilman CA. From the National Institute of Allergy and Infectious Diseases and the World Health Organization. Respiratory syncytial and parainfluenza viruses. *J Infect Dis.* 1990;161:402-6.
12. Nichols WG, Corey L, Gooley T, Davis C, Boeckh M. Parainfluenza virus infections after hematopoietic stem cell transplantation: risk factors, response to antiviral therapy, and effect on transplant outcome. *Blood.* 2001;98:573-8.
13. Cortez KJ, Erdman DD, Peret TC, Gill VJ, Childs R, Barrett AJ, et al. Outbreak of human parainfluenza virus 3 infections in a hematopoietic stem cell transplant population. *J Infect Dis.* 2001;184:1093-7.
14. Heikkinen T, Thint M, Chonmaitree T. Prevalence of various respiratory viruses in the middle ear during acute otitis media. *N Engl J Med.* 1999;340:260-4.
15. Cunningham CK, McMillan JA, Gross SJ. Rehospitalization for respiratory illness in infants of less than 32 weeks' gestation. *Pediatrics.* 1991;88:527-32.
16. Berkovich S. Acute Respiratory Illness in the Premature Nursery Associated with Respiratory Syncytial Virus Infections. *Pediatrics.* 1964;34:753-60.
17. Groothuis JR, Gutierrez KM, Lauer BA. Respiratory syncytial virus infection in children

with bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics*. 1988;82:199-203.

18. MacDonald NE, Hall CB, Suffin SC, Alexson C, Harris PJ, Manning JA. Respiratory syncytial viral infection in infants with congenital heart disease. *N Engl J Med*. 1982;307:397-400.

19. Fishaut M, Tubergen D, McIntosh K. Cellular response to respiratory viruses with particular reference to children with disorders of cell-mediated immunity. *J Pediatr*. 1980;96:179-86.

20. McIntosh K, Kurachek SC, Cairns LM, Burns JC, Goodspeed B. Treatment of respiratory viral infection in an immunodeficient infant with ribavirin aerosol. *Am J Dis Child*. 1984;138:305-8.

21. Martinez FD, Wright AL, Taussig LM, Holberg CJ, Halonen M, Morgan WJ. Asthma and wheezing in the first six years of life. The Group Health Medical Associates. *N Engl J Med*. 1995;332:133-8.

22. Kattan M. Epidemiologic evidence of increased airway reactivity in children with a history of bronchiolitis. *J Pediatr*. 1999;135:8-13.

23. Hall CB, Geiman JM, Biggar R, Kotok DI, Hogan PM, Douglas GR, Jr. Respiratory syncytial virus infections within families. *N Engl J Med*. 1976;294:414-9.

24. Falsey AR, Formica MA, Hennessey PA, Criddle MM, Sullender WM, Walsh EE. Detection of respiratory syncytial virus in adults with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;173:639-43.

25. Falsey AR, Walsh EE. Viral pneumonia in older adults. *Clin Infect Dis*. 2006;42:518-24.

26. Whimbey E, Ghosh S. Respiratory syncytial virus infections in immunocompromised adults. *Curr Clin Top Infect Dis*. 2000;20:232-55.

27. Hall CB. Respiratory syncytial virus and parainfluenza virus. *N Engl J Med*. 2001;344:1917-28.

28. Englund JA, Sullivan CJ, Jordan MC, Dehner LP, Vercellotti GM, Balfour HH, Jr. Respiratory syncytial virus infection in immunocompromised adults. *Ann Intern Med*. 1988;109:203-8.

29. Whimbey E, Champlin RE, Couch RB, Englund JA, Goodrich JM, Raad I, et al. Community respiratory virus infections among hospitalized adult bone marrow transplant recipients. *Clin Infect Dis*. 1996;22:778-82.

30. Hertz MI, Englund JA, Snover D, Bitterman PB, McGlave PB. Respiratory syncytial virus-induced acute lung injury in adult patients with bone marrow transplants: a clinical approach and review of the literature. *Medicine (Baltimore)*. 1989;68:269-81.

31. Harrington RD, Hooton TM, Hackman RC, Storch GA, Osborne B, Gleaves CA, et al. An outbreak of respiratory syncytial virus in a bone marrow transplant center. *J Infect Dis*. 1992;165:987-93.

32. Vilchez RA, Dauber J, Kusne S. Infectious etiology of bronchiolitis obliterans: the respiratory viruses connection - myth or reality? *Am J Transplant*. 2003;3:245-9.

33. Madhi SA, Venter M, Madhi A, Petersen MK, Klugman KP. Differing manifestations of respiratory syncytial virus-associated severe lower respiratory tract infections in human immunodeficiency virus type 1-infected and uninfected children. *Pediatr Infect Dis J*. 2001;20:164-70.

34. Madhi SA, Ramasamy N, Petersen K, Madhi A, Klugman KP. Severe lower respiratory tract infections associated with human parainfluenza viruses 1-3 in children infected and noninfected with HIV type 1. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2002;21:499-505.

35. Coates HV, Alling DW, Chanock RM. An antigenic analysis of respiratory syncytial virus isolates by a plaque reduction neutralization test. *Am J Epidemiol.* 1966;83:299-313.
36. Johnson PR, Jr., Olmsted RA, Prince GA, Murphy BR, Alling DW, Walsh EE, et al. Antigenic relatedness between glycoproteins of human respiratory syncytial virus subgroups A and B: evaluation of the contributions of F and G glycoproteins to immunity. *J Virol.* 1987;61:3163-6.
37. Henderson FW, Collier AM, Clyde WA, Jr., Denny FW. Respiratory-syncytial-virus infections, reinfections and immunity. A prospective, longitudinal study in young children. *N Engl J Med.* 1979;300:530-4.
38. Parrott RH, Vargosko A, Luckey A, Kim HW, Cumming C, Chanock R. Clinical features of infection with hemadsorption viruses. *N Engl J Med.* 1959;260:731-8.
39. Parrott RH, Vargosko AJ, Kimhw, Bell JA, Chanock RM. Acute respiratory diseases of viral etiology. III. parainfluenza. Myxoviruses. *Am J Public Health Nations Health.* 1962;52:907-17.
40. Mufson MA, Levine HD, Wasil RE, Mocega-Gonzalez HE, Krause HE. Epidemiology of respiratory syncytial virus infection among infants and children in Chicago. *Am J Epidemiol.* 1973;98:88-95.
41. Spence L, Barratt N. Respiratory syncytial virus associated with acute respiratory infections in Trinidadian patients. *Am J Epidemiol.* 1968;88:257-66.
42. Hendry RM, Burns JC, Walsh EE, Graham BS, Wright PF, Hemming VG, et al. Strain-specific serum antibody responses in infants undergoing primary infection with respiratory syncytial virus. *J Infect Dis.* 1988;157:640-7.
43. Mufson MA, Belshe RB, Orvell C, Norrby E. Respiratory syncytial virus epidemics: variable dominance of subgroups A and B strains among children, 1981-1986. *J Infect Dis.* 1988;157:143-8.
44. Iwane MK, Edwards KM, Szilagyi PG, Walker FJ, Griffin MR, Weinberg GA, et al. Population-based surveillance for hospitalizations associated with respiratory syncytial virus, influenza virus, and parainfluenza viruses among young children. *Pediatrics.* 2004;113:1758-64.
45. Hall CB. Nosocomial respiratory syncytial virus infections: the "Cold War" has not ended. *Clin Infect Dis.* 2000;31:590-6.
46. Karron RA, O'Brien KL, Froehlich JL, Brown VA. Molecular epidemiology of a parainfluenza type 3 virus outbreak on a pediatric ward. *J Infect Dis.* 1993;167:1441-5.
47. Nichols WG, Erdman DD, Han A, Zukerman C, Corey L, Boeckh M. Prolonged outbreak of human parainfluenza virus 3 infection in a stem cell transplant outpatient department: insights from molecular epidemiologic analysis. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2004;10:58-64.
48. Neilson KA, Yunis EJ. Demonstration of respiratory syncytial virus in an autopsy series. *Pediatr Pathol.* 1990;10:491-502.
49. Domurat F, Roberts NJ, Jr., Walsh EE, Dagan R. Respiratory syncytial virus infection of human mononuclear leukocytes in vitro and in vivo. *J Infect Dis.* 1985;152:895-902.
50. Panuska JR, Hertz MI, Taraf H, Villani A, Cirino NM. Respiratory syncytial virus infection of alveolar macrophages in adult transplant patients. *Am Rev Respir Dis.* 1992;145:934-9.
51. Padman R, Bye MR, Schidlow DV, Zaeri N. Severe RSV bronchiolitis in an immunocompromised

child. *Clin Pediatr (Phila)*. 1985;24:719-21.

52. Aherne W, Bird T, Court SD, Gardner PS, McQuillin J. Pathological changes in virus infections of the lower respiratory tract in children. *J Clin Pathol*. 1970;23:7-18.

53. Tristram DA, Hicks W, Jr., Hard R. Respiratory syncytial virus and human bronchial epithelium. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1998;124:777-83.

54. Graham BS, Bunton LA, Wright PF, Karzon DT. Role of T lymphocyte subsets in the pathogenesis of primary infection and rechallenge with respiratory syncytial virus in mice. *J Clin Invest*. 1991;88:1026-33.

55. Glezen WP, Paredes A, Allison JE, Taber LH, Frank AL. Risk of respiratory syncytial virus infection for infants from low-income families in relationship to age, sex, ethnic group, and maternal antibody level. *J Pediatr*. 1981;98:708-15.

56. McIntosh K, Masters HB, Orr I, Chao RK, Barkin RM. The immunologic response to infection with respiratory syncytial virus in infants. *J Infect Dis*. 1978;138:24-32.

57. McIntosh K. Pathogenesis of severe acute respiratory infections in the developing world: respiratory syncytial virus and parainfluenza viruses. *Rev Infect Dis*. 1991;13(Suppl 6):S492-500.

58. van Wyke Coelingh KL, Winter CC, Tierney EL, Hall SL, London WT, Kim HW, et al. Antibody responses of humans and nonhuman primates to individual antigenic sites of the hemagglutinin-neuraminidase and fusion glycoproteins after primary infection or reinfection with parainfluenza type 3 virus. *J Virol*. 1990;64:3833-43.

59. Smith CB, Purcell RH, Bellanti JA, Chanock RM. Protective effect of antibody to parainfluenza type

1 virus. *N Engl J Med*. 1966;275:1145-52.

60. Tremonti LP, Lin JS, Jackson GG. Neutralizing activity in nasal secretions and serum in resistance of volunteers to parainfluenza virus type 2. *J Immunol*. 1968;101:572-7.

61. Welliver R, Wong DT, Choi TS, Ogra PL. Natural history of parainfluenza virus infection in childhood. *J Pediatr*. 1982;101:180-7.

62. Henderson FW. Pulmonary cell-mediated cytotoxicity in hamsters with parainfluenza virus type 3 pneumonia. *Am Rev Respir Dis*. 1979;120:41-7.

63. Kimmel KA, Wyde PR, Glezen WP. Evidence of a T-cell-mediated cytotoxic response to parainfluenza virus type 3 pneumonia in hamsters. *J Reticuloendothel Soc*. 1982;31:71-83.

64. Hogan RJ, Zhong W, Usherwood EJ, Cookenham T, Roberts AD, Woodland DL. Protection from respiratory virus infections can be mediated by antigen-specific CD4(+) T cells that persist in the lungs. *J Exp Med*. 2001;193:981-6.

65. Hogan RJ, Usherwood EJ, Zhong W, Roberts AA, Dutton RW, Harmsen AG, et al. Activated antigen-specific CD8+ T cells persist in the lungs following recovery from respiratory virus infections. *J Immunol*. 2001;166:1813-22.

66. Welliver RC, Sun M, Rinaldo D. Defective regulation of immune responses in croup due to parainfluenza virus. *Pediatr Res*. 1985;19:716-20.

67. Henrickson KJ, Kuhn SM, Savatski LL. Epidemiology and cost of infection with human parainfluenza virus types 1 and 2 in young children. *Clin Infect Dis*. 1994;18:770-9.

68. Frank JA, Jr., Warren RW, Tucker JA, Zeller J, Wilfert CM. Disseminated parainfluenza infection in a child with severe combined

immunodeficiency. *Am J Dis Child*. 1983;137:1172-4.

69. Wendt CH, Weisdorf DJ, Jordan MC, Balfour HH, Jr., Hertz MI. Parainfluenza virus respiratory infection after bone marrow transplantation. *N Engl J Med*. 1992;326:921-6.

70. Dorman SE, Uzel G, Roesler J, Bradley JS, Bastian J, Billman G, et al. Viral infections in interferon-gamma receptor deficiency. *J Pediatr*. 1999;135:640-3.

71. Ljungman P. Respiratory virus infections in bone marrow transplant recipients: the European perspective. *Am J Med*. 1997;102:44-7.

72. Couch RB, Englund JA, Whimbey E. Respiratory viral infections in immunocompetent and immunocompromised persons. *Am J Med*. 1997;102:2-9; discussion 25-6.

73. Beekmann SE, Engler HD, Collins AS, Canosa J, Henderson DK, Freifeld A. Rapid identification of respiratory viruses: impact on isolation practices and transmission among immunocompromised pediatric patients. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1996;17:581-6.

74. Garcia R, Raad I, Abi-Said D, Bodey G, Champlin R, Tarrand J, et al. Nosocomial respiratory syncytial virus infections: prevention and control in bone marrow transplant patients. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1997;18:412-6.

75. Chakrabarti S, Collingham KE, Holder K, Oyaide S, Pillay D, Milligan DW. Parainfluenza virus type 3 infections in hematopoietic stem cell transplant recipients: response to ribavirin therapy. *Clin Infect Dis*. 2000;31:1516-8.

76. Elizaga J, Olavarria E, Apperley J, Goldman J, Ward K. Parainfluenza virus 3 infection after stem cell transplant: relevance to outcome of rapid diagnosis and ribavirin treatment. *Clin Infect Dis*.

2001;32:413-8.

77. Ventre K, Randolph A. Ribavirin for respiratory syncytial virus infection of the lower respiratory tract in infants and young children. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004:CD000181.

78. Prince GA, Horswood RL, Chanock RM. Quantitative aspects of passive immunity to respiratory syncytial virus infection in infant cotton rats. *J Virol*. 1985;55:517-20.

79. Prince GA, Horswood RL, Camargo E, Koenig D, Chanock RM. Mechanisms of immunity to respiratory syncytial virus in cotton rats. *Infect Immun*. 1983;42:81-7.

80. Walsh EE, Schlesinger JJ, Brandriss MW. Protection from respiratory syncytial virus infection in cotton rats by passive transfer of monoclonal antibodies. *Infect Immun*. 1984;43:756-8.

81. Glezen WP, Taber LH, Frank AL, Kasel JA. Risk of primary infection and reinfection with respiratory syncytial virus. *Am J Dis Child*. 1986;140:543-6.

82. Groothuis JR, Simoes EA, Levin MJ, Hall CB, Long CE, Rodriguez WJ, et al. Prophylactic administration of respiratory syncytial virus immune globulin to high-risk infants and young children. The Respiratory Syncytial Virus Immune Globulin Study Group. *N Engl J Med*. 1993;329:1524-30.

83. Reduction of respiratory syncytial virus hospitalization among premature infants and infants with bronchopulmonary dysplasia using respiratory syncytial virus immune globulin prophylaxis. The PREVENT Study Group. *Pediatrics*. 1997;99:93-9.

84. Palivizumab, a humanized respiratory syncytial virus monoclonal antibody, reduces hospitalization from respiratory syncytial virus infection in high-risk infants. The Impact-RSV Study Group.

Pediatrics. 1998;102:531-7.

85. Feltes TF, Cabalka AK, Meissner HC, Piazza FM, Carlin DA, Top FH, Jr., et al. Palivizumab prophylaxis reduces hospitalization due to respiratory syncytial virus in young children with hemodynamically significant congenital heart disease. *J Pediatr.* 2003;143:532-40.

86. Revised indications for the use of palivizumab and respiratory syncytial virus immune globulin intravenous for the prevention of respiratory syncytial virus infections. *Pediatrics.* 2003;112:1442-6.

87. Rodriguez WJ, Gruber WC, Welliver RC, Groothuis JR, Simoes EA, Meissner HC, et al. Respiratory syncytial virus (RSV) immune globulin intravenous therapy for RSV lower respiratory tract infection in infants and young children at high risk for severe RSV infections: Respiratory Syncytial Virus Immune Globulin Study Group. *Pediatrics.* 1997;99:454-61.

88. Malley R, DeVincenzo J, Ramilo O, Dennehy PH, Meissner HC, Gruber WC, et al. Reduction of respiratory syncytial virus (RSV) in tracheal aspirates in intubated infants by use of humanized monoclonal antibody to RSV F protein. *J Infect Dis.* 1998;178:1555-61.

89. Venkatesh MP, Weisman LE. Prevention and treatment of respiratory syncytial virus infection in infants: an update. *Expert Rev Vaccines.* 2006;5:261-8.

90. Mejias A, Chavez-Bueno S, Rios AM, Aten MF, Raynor B, Peromingo E, et al. Comparative effects of two neutralizing anti-respiratory syncytial virus (RSV) monoclonal antibodies in the RSV murine model: time versus potency. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:4700-7.

91. Fernandez P, Trenholme A, Abarca K,

Griffin MP, Hultquist M, Harris B, et al. A phase 2, randomized, double-blind safety and pharmacokinetic assessment of respiratory syncytial virus (RSV) prophylaxis with motavizumab and palivizumab administered in the same season. *BMC Pediatr.* 2010;10:38.

92. Carbonell-Estrany X, Simoes EA, Dagan R, Hall CB, Harris B, Hultquist M, et al. Motavizumab for prophylaxis of respiratory syncytial virus in high-risk children: a noninferiority trial. *Pediatrics.* 2010;125:e35-51.

93. Kim HW, Canchola JG, Brandt CD, Pyles G, Chanock RM, Jensen K, et al. Respiratory syncytial virus disease in infants despite prior administration of antigenic inactivated vaccine. *Am J Epidemiol.* 1969;89:422-34.

94. Tang YW, Neuzil KM, Fischer JE, Robinson FW, Parker RA, Graham BS. Determinants and kinetics of cytokine expression patterns in lungs of vaccinated mice challenged with respiratory syncytial virus. *Vaccine.* 1997;15:597-602.

95. Neuzil KM, Johnson JE, Tang YW, Prieels JP, Slaoui M, Gar N, et al. Adjuvants influence the quantitative and qualitative immune response in BALB/c mice immunized with respiratory syncytial virus FG subunit vaccine. *Vaccine.* 1997;15:525-32.

96. Falsey AR, Walsh EE. Safety and immunogenicity of a respiratory syncytial virus subunit vaccine (PFP-2) in ambulatory adults over age 60. *Vaccine.* 1996;14:1214-8.

97. Falsey AR, Walsh EE. Safety and immunogenicity of a respiratory syncytial virus subunit vaccine (PFP-2) in the institutionalized elderly. *Vaccine.* 1997;15:1130-2.

98. Belshe RB, Anderson EL, Walsh EE.

Immunogenicity of purified F glycoprotein of respiratory syncytial virus: clinical and immune responses to subsequent natural infection in children. *J Infect Dis.* 1993;168:1024-9.

99. Tristram DA, Welliver RC, Mohar CK, Hogerman DA, Hildreth SW, Paradiso P. Immunogenicity and safety of respiratory syncytial virus subunit vaccine in seropositive children 18-36 months old. *J Infect Dis.* 1993;167:191-5.

100. Piedra PA, Grace S, Jewell A, Spinelli S, Bunting D, Hogerman DA, et al. Purified fusion protein vaccine protects against lower respiratory tract illness during respiratory syncytial virus season in children with cystic fibrosis. *Pediatr Infect Dis J.* 1996;15:23-31.

101. Groothuis JR, King SJ, Hogerman DA, Paradiso PR, Simoes EA. Safety and immunogenicity of a purified F protein respiratory syncytial virus (PFV-2) vaccine in seropositive children with bronchopulmonary dysplasia. *J Infect Dis.* 1998; 177:467-9.

102. Munoz FM, Piedra PA, Glezen WP. Safety and immunogenicity of respiratory syncytial virus purified fusion protein-2 vaccine in pregnant women. *Vaccine.* 2003;21:3465-7.

103. Langley JM, Sales V, McGeer A, Guasparini R, Predy G, Meekison W, et al. A dose-ranging study of a subunit Respiratory Syncytial Virus subtype A vaccine with and without aluminum phosphate adjuvantation in adults > or =65 years of age. *Vaccine.* 2009;27:5913-9.

104. Falsey AR, Walsh EE, Capellan J, Gravenstein S, Zambon M, Yau E, et al. Comparison of the safety and immunogenicity of 2 respiratory syncytial virus (rsv) vaccines--nonadjuvanted vaccine or vaccine adjuvanted with alum--given concomitantly

with influenza vaccine to high-risk elderly individuals. *J Infect Dis.* 2008;198:1317-26.

105. Ison MG, Mills J, Openshaw P, Zambon M, Osterhaus A, Hayden F. Current research on respiratory viral infections: Fourth International Symposium. *Antiviral Res.* 2002;55:227-78.

106. Plotnicky-Gilquin H, Robert A, Chevalet L, Haeuw JF, Beck A, Bonnefoy JY, et al. CD4(+) T-cell-mediated antiviral protection of the upper respiratory tract in BALB/c mice following parenteral immunization with a recombinant respiratory syncytial virus G protein fragment. *J Virol.* 2000;74:3455-63.

107. Plotnicky-Gilquin H, Huss T, Aubry JP, Haeuw JF, Beck A, Bonnefoy JY, et al. Absence of lung immunopathology following respiratory syncytial virus (RSV) challenge in mice immunized with a recombinant RSV G protein fragment. *Virology.* 1999;258:128-40.

108. Power UF, Plotnicky-Gilquin H, Huss T, Robert A, Trudel M, Stahl S, et al. Induction of protective immunity in rodents by vaccination with a prokaryotically expressed recombinant fusion protein containing a respiratory syncytial virus G protein fragment. *Virology.* 1997;230:155-66.

109. Power UF, Nguyen TN, Rietveld E, de Swart RL, Groen J, Osterhaus AD, et al. Safety and immunogenicity of a novel recombinant subunit respiratory syncytial virus vaccine (BBG2Na) in healthy young adults. *J Infect Dis.* 2001;184:1456-60.

110. Power UF, Plotnicky H, Blaেকে A, Nguyen TN. The immunogenicity, protective efficacy and safety of BBG2Na, a subunit respiratory syncytial virus (RSV) vaccine candidate, against RSV-B. *Vaccine.* 2003;22:168-76.

111. Goetsch L, Plotnicky-Gilquin H, Champion T, Beck A, Corvaia N, Stahl S, et al.

Influence of administration dose and route on the immunogenicity and protective efficacy of BBG2Na, a recombinant respiratory syncytial virus subunit vaccine candidate. *Vaccine*. 2000;18:2735-42.

112. Paradiso PR, Hildreth SW, Hogerman DA, Speelman DJ, Lewin EB, Oren J, et al. Safety and immunogenicity of a subunit respiratory syncytial virus vaccine in children 24 to 48 months old. *Pediatr Infect Dis J*. 1994;13:792-8.

113. Piedra PA, Cron SG, Jewell A, Hamblett N, McBride R, Palacio MA, et al. Immunogenicity of a new purified fusion protein vaccine to respiratory syncytial virus: a multi-center trial in children with cystic fibrosis. *Vaccine*. 2003;21:2448-60.

114. Simoes EA, Tan DH, Ohlsson A, Sales V, Wang EE. Respiratory syncytial virus vaccine: a systematic overview with emphasis on respiratory syncytial virus subunit vaccines. *Vaccine*. 2001;20:954-60.

115. Wright PF, Karron RA, Belshe RB, Thompson J, Crowe JE, Jr., Boyce TG, et al. Evaluation of a live, cold-passaged, temperature-sensitive, respiratory syncytial virus vaccine candidate in infancy. *J Infect Dis*. 2000;182:1331-42.

116. Karron RA, Belshe RB, Wright PF, Thumar B, Burns B, Newman F, et al. A live human parainfluenza type 3 virus vaccine is attenuated and immunogenic in young infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2003;22:394-405.

117. Murphy BR, Hall SL, Kulkarni AB, Crowe JE, Jr., Collins PL, Connors M, et al. An update on approaches to the development of respiratory syncytial virus (RSV) and parainfluenza virus type 3 (PIV3) vaccines. *Virus Res*. 1994;32:13-36.

118. Wright PF, Shinozaki T, Fleet W, Sell SH, Thompson J, Karzon DT. Evaluation of a live,

attenuated respiratory syncytial virus vaccine in infants. *J Pediatr*. 1976;88:931-6.

119. McIntosh K, Arbeter AM, Stahl MK, Orr IA, Hodes DS, Ellis EF. Attenuated respiratory syncytial virus vaccines in asthmatic children. *Pediatr Res*. 1974;8:689-96.

120. Kim HW, Arrobio JO, Brandt CD, Wright P, Hodes D, Chanock RM, et al. Safety and antigenicity of temperature sensitive (TS) mutant respiratory syncytial virus (RSV) in infants and children. *Pediatrics*. 1973;52:56-63.

121. McKay E, Higgins P, Tyrrell D, Pringle C. Immunogenicity and pathogenicity of temperature-sensitive modified respiratory syncytial virus in adult volunteers. *J Med Virol*. 1988;25:411-21.

122. Karron RA, Wright PF, Crowe JE, Jr., Clements-Mann ML, Thompson J, Makhene M, et al. Evaluation of two live, cold-passaged, temperature-sensitive respiratory syncytial virus vaccines in chimpanzees and in human adults, infants, and children. *J Infect Dis*. 1997;176:1428-36.

123. Bukreyev A, Whitehead SS, Murphy BR, Collins PL. Recombinant respiratory syncytial virus from which the entire SH gene has been deleted grows efficiently in cell culture and exhibits site-specific attenuation in the respiratory tract of the mouse. *J Virol*. 1997;71:8973-82.

124. Whitehead SS, Bukreyev A, Teng MN, Firestone CY, St Claire M, Elkins WR, et al. Recombinant respiratory syncytial virus bearing a deletion of either the NS2 or SH gene is attenuated in chimpanzees. *J Virol*. 1999;73:3438-42.

125. Karron RA, Wright PF, Belshe RB, Thumar B, Casey R, Newman F, et al. Identification of a recombinant live attenuated respiratory syncytial

virus vaccine candidate that is highly attenuated in infants. *J Infect Dis.* 2005;191:1093-104.

126. Wright PF, Karron RA, Madhi SA, Treanor JJ, King JC, O'Shea A, et al. The interferon antagonist NS2 protein of respiratory syncytial virus is an important virulence determinant for humans. *J Infect Dis.* 2006;193:573-81.

127. Belshe RB, Hissom FK. Cold adaptation of parainfluenza virus type 3: induction of three phenotypic markers. *J Med Virol.* 1982;10:235-42.

128. Skiadopoulos MH, Durbin AP, Tatem JM, Wu SL, Paschalis M, Tao T, et al. Three amino acid substitutions in the L protein of the human parainfluenza virus type 3 cp45 live attenuated vaccine candidate contribute to its temperature-sensitive and attenuation phenotypes. *J Virol.* 1998;72:1762-8.

129. Skiadopoulos MH, Surman S, Tatem JM, Paschalis M, Wu SL, Udem SA, et al. Identification of mutations contributing to the temperature-sensitive, cold-adapted, and attenuation phenotypes of the live-attenuated cold-passage 45 (cp45) human parainfluenza virus 3 candidate vaccine. *J Virol.* 1999;73:1374-81.

130. Coelingh KJ, Winter CC, Murphy BR, Rice JM, Kimball PC, Olmsted RA, et al. Conserved epitopes on the hemagglutinin-neuraminidase proteins of human and bovine parainfluenza type 3 viruses: nucleotide sequence analysis of variants selected with monoclonal antibodies. *J Virol.* 1986;60:90-6.

131. Clements ML, Belshe RB, King J, Newman F, Westblom TU, Tierney EL, et al. Evaluation of bovine, cold-adapted human, and wild-type human parainfluenza type 3 viruses in adult volunteers and in chimpanzees. *J Clin Microbiol.* 1991;29:1175-82.

132. Karron RA, Wright PF, Hall SL, Makhene M, Thompson J, Burns BA, et al. A live attenuated bovine parainfluenza virus type 3 vaccine is safe, infectious, immunogenic, and phenotypically stable in infants and children. *J Infect Dis.* 1995;171:1107-14.

133. Karron RA, Wright PF, Newman FK, Makhene M, Thompson J, Samorodin R, et al. A live human parainfluenza type 3 virus vaccine is attenuated and immunogenic in healthy infants and children. *J Infect Dis.* 1995;172:1445-50.

134. Belshe RB, Newman FK, Tsai TF, Karron RA, Reisinger K, Robertson D, et al. Phase 2 evaluation of parainfluenza type 3 cold passage mutant 45 live attenuated vaccine in healthy children 6-18 months old. *J Infect Dis.* 2004;189:462-70.

135. Schmidt AC, McAuliffe JM, Huang A, Surman SR, Bailly JE, Elkins WR, et al. Bovine parainfluenza virus type 3 (BPIV3) fusion and hemagglutinin-neuraminidase glycoproteins make an important contribution to the restricted replication of BPIV3 in primates. *J Virol.* 2000;74:8922-9.
