บทที่ 2
ทบทวนวรรณกรรม

2.1 คุณสมบัติของเชื้อ *Vibrio cholerae* และการก่อโรค

เชื้อ *V.cholerae* เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่เป็นสาเหตุสำคัญของอหิวาตกโรค เชื้อดังกล่าวจัดอยู่ใน family Vibrionaceae รูปร่าง curve rods สามารถเจริญได้ในที่ไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) (67) การแบ่งกลุ่มของเชื้อตามลักษณะโครงสร้างของ O-antigen พบว่า สามารถแบ่งได้มากกว่า 200 serogroups (18, 21) แต่กลุ่มเชื้อที่พบมากที่สุดในการก่อให้เกิดการระบาดของอหิวาตกโรคเป็นกลุ่มเชื้อ O1 และ O139 ในขณะที่กลุ่มเชื้อ non-O1/non-O139 ส่วนใหญ่มีความเกี่ยวข้องกับการระบาดของอหิวาตกโรคในบางช่วงเท่านั้น (45) วัฏจักรชีวิตของเชื้อมีความเกี่ยวข้องทั้งในสิ่งแวดล้อมและร่างกายของมนุษย์ โดยทั่วไปเชื้อมีการดำรงชีวิตในแหล่งน้ำธรรมชาติ มีการเกาะติดตามผิวแพลงตอน สาหร่าย หรือสัตว์น้ำชนิดเล็กที่มีเปลือกแข็งเพื่ออาศัยเป็นแหล่งสารอาหารและการอยู่รอดในสิ่งแวดล้อม (57) ในขณะที่เมื่ออยู่ในร่างกายมนุษย์หลังจากที่มีการบริโภคน้ำหรืออาหารที่มีการปนเปื้อนของเชื้อเข้าสู่ร่างกาย เชื้อจะเข้าสู่บริเวณทางเดินอาหารและเกาะติดบริเวณเยื่อบุเซลล์ลำไส้เล็กเพื่อเพิ่มจำนวนรวมถึงสร้างสารพิษต่างๆโดยอาศัยยีนที่จำเป็นในการก่อโรคของเชื้อ (virulence gene) ก่อให้เกิดอาการอุจจาระร่วงรุนแรงตามมา Virulence gene ที่สำคัญของเชื้อ *V. cholerae* ได้แก่ cholera toxin gene (*ctx*) , toxin coregulated pili gene (*tcpA*) โดย cholera toxin gene (*ctx*) เป็นยีนสำคัญทำหน้าที่ในการสร้าง cholera toxin ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญทำให้เกิดอหิวาตกโรค(23) ในยีนนี้ประกอบด้วย 2 ส่วนคือ *ctxA* และ *ctxB* ที่ทำหน้าที่สร้างองค์ประกอบของ toxin ส่วน A และส่วน B ตามลำดับ ทำให้การแลกเปลี่ยนอิออนในร่างกายผิดปกติ เกิดการสูญเสียสาร electrolytes และการหลั่งของสารน้ำในร่างกายเพิ่มขึ้น ส่งผลให้เกิดอาการท้องร่วงอย่างรุนแรง(diarrhea) สูญเสียน้ำในร่างกาย(dehydration) อุจจาระคล้ายน้ำซาวข้าว ซึ่งเป็นลักษณะของอหิวาตกโรค ในขณะที่ toxin coregulated pili gene (*tcpA*) ทำหน้าที่สร้างส่วนประกอบหลักของ pili ซึ่งมีประโยชน์ต่อเชื้อในการเข้าเกาะติดเซลล์ลำไส้และการเพิ่มจำนวนของเชื้อในร่างกาย(3) สำหรับ virulence gene ทั้ง 2 ชนิด ส่วนใหญ่มักตรวจพบได้ในกลุ่มเชื้อ O1 และ O139 (20, 33) ดังนั้นจึงทำให้เชื้อในกลุ่มดังกล่าวเป็นสาเหตุสำคัญในการทำให้เกิดการระบาดของอหิวาตกโรค นอกจากนี้ยังมี virulence gene อื่น ๆ ได้แก่ accessory cholera toxin gene (*ace*) ซึ่งมีบทบาทในการเพิ่มการขนส่งอิออนระหว่างเซลล์และช่วยทำให้เกิด diarrhea มากขึ้น (66) zonular occluden toxin gene *(zot)* ช่วยในการทำลาย tight junctions ในบริเวณลำไส้เล็กส่งเสริมให้เกิด diarrhea (19) หรือ central regulatory gene (*toxR*) เป็น regulatory protein ที่สำคัญมีบทบาทในการควบคุมและส่งเสริมการเพิ่มจำนวนของเชื้อในลำไส้เล็ก การสร้าง toxin และการอยู่รอดของเชื้อภายในร่างกาย host (41)

2.2 การวินิจฉัยการติดเชื้อ

การวินิจฉัยโรคจะใช้อาการทางคลินิกเป็นสำคัญ คือ การถ่ายอุจจาระเป็นน้ำอย่างเฉียบพลันร่วมกับการไม่มีไข้สูงและไม่มีอาการปวดท้องรุนแรง

วิธีที่ง่ายและเร็วในการวินิจฉัยโรค คือการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ darkfield ซึ่งจะเห็นเชื้อจำนวนมาก เชื้อมีลักษณะเกิดการเคลื่อนที่แบบ shooting star ถ้ามี specific antiserum สำหรับ Ogawa และ Inaba ก็จะทำให้เชื้อไม่เคลื่อนที่ (totally immobilized) นอกจากนี้อาจตรวจด้วย Fluorescence antibody technique (28)

การเพาะเชื้อทำใน enrichment media คือ alkaline peptone water ส่วน selective media คือ Thiosulfate citrate bile salt sucrose agar (TCBS) โคโลนีบน TCBS จะมีสีเหลืองขนาดใหญ่ (28)

2.3 เชื้อที่เพาะเลี้ยงได้ยากหรือเพาะไม่ขึ้น

เชื้อมีปัจจัยที่ช่วยในการก่อโรคอื่นๆอีกหลายปัจจัย ปัจจัยหนึ่งคือเมื่อเชื้อมีการเจริญอยู่ในสิ่งแวดล้อม เช่น ตามแหล่งน้ำในธรรมชาติ หรืออยู่ในบริเวณที่มีสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เชื้อจะมีการเจริญด้วยการเข้าสู่สภาวะที่เรียกว่า “viable but non-culturable (VBNC)” (56) หลายการศึกษาได้ให้คำอธิบายถึงสภาวะดังกล่าวว่า เป็นสภาวะที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงเชื้อโดยวิธีดั้งเดิมในห้องปฏิบัติการได้ แต่สามารถตรวจ metabolic function ของเชื้อได้ (15, 56, 74) ในสภาวะนี้เชื้อจะมีวิธีการอยู่รอดด้วยการลดขนาดของเซลล์ลงและเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปเป็น coccoid cells (10) ปัจจัยที่มีผลเหนี่ยวนำให้เชื้อเข้าสู่สภาวะดังกล่าวได้แก่ การขาดแคลนสารอาหาร หรือการที่เชื้อเจริญในอุณหภูมิที่เปลี่ยนไปจากปกติ(17, 71)

อย่างไรก็ตาม ความสามารถในการก่อโรคของเชื้อยังคงมีอยู่ (7) จนกระทั่งเมื่อสภาวะแวดล้อมเหมาะสม เช่น เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น (68) หรือการ co-culture ร่วมกับ eukaryotic cell (59) เชื้อก็จะสามารถกลับเข้าสู่สภาวะการเจริญปกติได้และกลับไปก่อโรคได้เช่นเดิม เรียกว่า การเกิด “resuscitation”(68) ยิ่งไปกว่านั้นการเกิดสภาวะ VBNC ของเชื้อพบว่ามีความสัมพันธ์กับการระบาดของอหิวาตกโรคด้วย (39) รวมถึงมีผลต่อความสามารถในการดื้อต่อยาปฏิชีวนะด้วย โดยมีการศึกษา พบว่า vancomycin มีผลในการทำลายเชื้อ VBNC ของ *E. faecalis* เมื่อใช้ที่ความเข้มข้น 500 เท่าของ MIC เท่านั้น (37) ในปี 2009 Anuchin และคณะ พบว่า dormant cells ของเชื้อ *Mycobacterium smegmatis* มีการดื้อต่อยา hydromycin และ doxycyclin เพิ่มขึ้น (2) การที่เชื้อสามารถเจริญและเพิ่มจำนวนได้ในแหล่งน้ำธรรมชาติจึงนับเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการแพร่ระบาดของอหิวาตกโรคในหลายพื้นที่และ

แหล่งน้ำนับเป็นบริเวณสำคัญในการเก็บกักเชื้อ การตรวจหาเชื้อ *V. cholerae* ในแหล่งน้ำจึงเป็นจุดสำคัญในการเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของเชื้อ (12)

วิธีการตรวจด้วยการเพาะเลี้ยงเชื้อแบบดั้งเดิมในห้องปฏิบัติการเป็นวิธีที่ต้องใช้เวลาในการตรวจนาน เนื่องจากต้องใช้ระยะเวลาในการบ่มและการเจริญของเชื้อบน selective media เพื่อลดจำนวนของ nonspecific organisms (63) นอกจากนี้วิธีดังกล่าวยังไม่สามารถบ่งบอกถึง serotype และ toxigenicity ของ isolate ได้ วิธีอื่น ๆในการตรวจหาเชื้อ ได้แก่ ELISA , agglutination , immunofluorescence , immunosensor ก็สามารถใช้ในการ identification เชื้อได้เช่นกัน (24, 53) ยกตัวอย่างเช่น วิธี direct fluorescence antibody (DFA) ซึ่งมีความไวในการตรวจหาเชื้อมากกว่าวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อปกติ สามารถตรวจหาเชื้อทั้งที่เพาะเลี้ยงได้ (culturable) หรือเพาะเลี้ยงไม่ได้(non-culturable) และตรวจความมีชีวิตของเชื้อ *V. cholerae* O1 ในสิ่งแวดล้อมได้ถึง 85% (8, 13, 73) แต่วิธีเหล่านี้ก็มีข้อจำกัด คือ ราคาแพง ยากต่อการบ่งบอกถึง toxigenicity และไม่เหมาะสำหรับการนำมาตรวจในห้องปฏิบัติการทั่วไป ดังนั้นในปัจจุบันจึงนิยมใช้โมเลกุลาร์เทคนิคโดยเฉพาะอย่างยิ่ง multiplex PCR และ RT-PCR เข้ามาช่วยในการตรวจหาเชื้อ เนื่องจากเป็นวิธีที่มีความรวดเร็วและให้ผลในการตรวจที่ถูกต้องเชื่อถือได้ (23, 55) มีการศึกษาการตรวจหาเชื้อ *V. cholerae* โดยวิธี multiplex PCR โดยอาศัยยีนที่มีความจำเพาะในการตรวจหา ได้แก่ ยีน *OmpW* ซึ่งเป็นยีน outer membrane protein ที่จำเพาะของเชื้อ (*V.cholerae* species-specific gene) ให้ผลถูกต้องในการบ่งบอกชนิดของเชื้อ 100% (46) ยีน *rfbO1,O139* ซึ่งเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง O-antigen มีความจำเพาะต่อ serogroup ทำให้สามารถแยกได้ว่าเป็นเชื้อ *V. cholerae* กลุ่ม O1 หรือ O139 มีความไวในการตรวจสูงถึง 100% สามารถตรวจเชื้อกลุ่ม O1 ได้ในปริมาณเชื้อเพียง 65 CFUและกลุ่ม O139 ได้ในปริมาณ 200 CFU และมีความจำเพาะสูงถึง 95.2% เมื่อเทียบกับวิธีเพาะเลี้ยง (27) นอกจากนี้ยังมีการใช้ยีน *ctxA* ,*tcpA* เพื่อตรวจหา toxigenic *V.cholerae* ในแหล่งน้ำ โดยพบว่า เป็นวิธีที่มีความไวสามารถตรวจเชื้อได้แม้มีปริมาณเชื้อเพียง 23 เซลล์ในแหล่งน้ำ (11, 22)

นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาการตรวจหาเชื้อโดยใช้ยีนอื่นๆ ได้แก่ ยีน *gryB* และ *pntA* ซึ่งใช้ในการตรวจหากลุ่ม *Vibrio spp* และ *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* และ *Vibrio vulnificus* ตามลำดับ โดยมีความไวในการตรวจอยู่ในช่วง 2×10^{3}-4 $\times10^{4}$ CFU/ml. (64) หรือการพัฒนา multiplex PCR 2 ชุด ซึ่งชุดที่ 1 ใช้ยีน *SodB* สำหรับเชื้อ *Vibrio cholerae*, ยีน *Flae* สำหรับเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* และ 16S rRNA สำหรับเชื้อกลุ่ม *Vibrio* ในขณะที่ multiplex ชุดที่ 2 ใช้ยีน *rfbO1*, *rfbO139*, *ctx*A และ 16S rRNA ของเชื้อ *Vibrio cholerae* เพื่อตรวจหาเชื้อ *Vibrio cholerae* และ *Vibrio parahaemolyticus* จากภาชนะเก็บน้ำในบ้านพักอาศัยที่ประเทศแอฟริกาใต้ ความไวในการตรวจเชื้อเมื่อผ่านและไม่ผ่านการ enrichment เท่ากับ 4-10 cfu/100 ml และ 40-100 cfu/100 ml ตามลำดับ (50) หรือการตรวจหายีน *rtxA*, *ctxA*, *tcpA*, *hlyA* และ *sto* ใน multiplex PCR เพื่อตรวจหาเชื้อ *V. cholerae* (36)

Shuan Ju Teh และคณะ พัฒนา multiplex PCR เพื่อตรวจหาเชื้อ *V.cholerae* จากตัวอย่างผู้ป่วย แหล่งน้ำและอาหารทะเล โดยใช้ยีน *hlyA* ร่วมกับ *ompW*, *toxR*, *rfbO1*, *rfbO139*, *tcpI* และ *ctxA* ความไวในการตรวจพบเชื้อคือ 7×10^4 cfu/ml (62)

Neogi และคณะ พัฒนาการตรวจหาเชื้อ *V.cholerae, Vibrio parahaemolyticus* และ *Vibrio vulnificus* โดยใช้ยีน *toxR* สำหรับเชื้อ *V. cholerae* และ *V. parahaemolyticus* ยีน vvhA สำหรับ *V. vulnificus* เมื่อทดสอบความไวในการตรวจเชื้อพบว่าเท่ากับ 10 CFU (47)

Colwell และคณะ พบว่าเชื้อ *V.cholerae* O1 สามารถพบได้ในสิ่งแวดล้อมแต่เพาะเลี้ยงไม่ได้ โดยตรวจสอบด้วยวิธี PCR และ immunofluorescence microscopy โดยกลไกการเปลี่ยนแปลงเกิดจากการกลายพันธุ์ของจีน (spontaneous mutation) ที่บรรจุรหัส (encoding) เกี่ยวกับ O–Ag หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ฟิสิกส์ และชีววิทยาในสิ่งแวดล้อมที่กระตุ้นให้การแสดงออกของจีนเปลี่ยนแปลงไป (16, 43)

เชื้อ *V.cholerae* O1 และ O139 สามารถพบได้ในน้ำ (15, 30) ในสิ่งแวดล้อมพบเชื้อมักเกาะติดกับพืช สาหร่าย แพลงตอน กุ้ง ปู และแมลง และมักพบว่าเมื่ออยู่ในน้ำจะไม่สร้างสารพิษ แต่เมื่อเข้าไปอยู่ในลำไส้จะสร้างสารพิษขึ้น (20)

Colwell และคณะทดลองพบว่าเชื้อ NCV สามารถก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคได้เช่นเดียวกับ *V.cholerae* O1 ที่เพาะเลี้ยงได้โดยทดลองกับอาสาสมัคร (16) ดังนั้น จึงมีการเสนอแนะว่าการตรวจหาเชื้อจากน้ำและอาหารโดยการเพาะเชื้อเพียงอย่างเดียวอาจให้ผลไม่ถูกต้อง (14, 16)

Norazah และคณะ ได้ทำการศึกษาเชื้อ *V.cholerae* O1 จากแหล่งน้ำในเมือง Sarawak จำนวน 80 ตัวอย่าง โดยตรวจหา *ctx* gene โดยวิธี PCR ควบคู่ไปกับการเพาะเชื้อ พบว่ามีเพียง 1 ตัวอย่างที่ให้ผลบวกโดยวิธีเพาะเชื้อ ขณะที่ 8 ตัวอย่างให้ผลบวกโดยวิธี PCR (48)

Huq และคณะ พบว่าเมื่อเก็บตัวอย่างแพลงตอนจากสระน้ำ มาตรวจหาเชื้อ *V.cholerae* โดยวิธีเพาะเชื้อกับตรวจโดยวิธี direct fluorescent antibody detection (DFA) พบว่าวิธีเพาะเชื้อพบเพียง 1% ขณะที่วิธี DFA พบถึง 63% (29) ถึงแม้ว่า DFA สามารถใช้ตรวจหาเชื้อ *V.cholerae* ทั้งที่เพาะเลี้ยงได้และเพาะเลี้ยงไม่ได้ โดยสามารถตรวจได้ทั้งจากอาหารและน้ำ แต่วิธี PCR ที่ใช้ตรวจหาจีน *ctx*A มีความไวและความจำเพาะมากกว่า สามารถตรวจหาเชื้อในน้ำเมื่อมีเชื้อเพียง 100 เซลล์ในการทดสอบเท่านั้น จึงเป็นวิธีที่ดีในการศึกษาเชื้อ *V.cholerae* O1 เพื่อหาแหล่งที่มาของเชื้อเมื่อมีการระบาด (32)

ดังนั้นถ้าสามารถพัฒนาการตรวจหายีนที่กล่าวข้างต้นได้ในครั้งเดียวกัน ก็จะสามารถบ่งบอกได้ทันทีว่า เชื้อที่ตรวจพบเป็น *V. cholerae* หรือไม่ ถ้าเป็นเชื้ออยู่ในกลุ่ม O1 หรือ non-O1 มียีนที่เกี่ยวข้องกับ toxigenic หรือไม่ ทำให้เกิดความถูกต้องรวดเร็วในการตรวจและควบคุมการแพร่ระบาดของเชื้อ รวมถึงประหยัดค่าใช้จ่ายมากยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตาม การตรวจโดยวิธี multiplex PCR ยังมีข้อจำกัด คือ ไม่สามารถแยกระหว่างเซลล์ที่มีชีวิต (viable cells) และเซลล์ที่ตาย (dead cells) ออกจากกันได้ ดังนั้น

จึงมีการศึกษาต่อมาพบว่า การตรวจ mRNA ของเชื้อเป็นวิธีการที่สามารถใช้ในการบ่งบอกการมีชีวิตอยู่ของเชื้อได้เนื่องจากโมเลกุลดังกล่าวสามารถพบได้เฉพาะในเซลล์ที่มีชีวิตเท่านั้น (38, 61) โดยในการศึกษา Lleo และคณะ พบว่า ยีน *pbp5* ของเชื้อ *E. faecalis* มีการแสดงออกในระหว่างสภาวะ VBNC และการมีอยู่ของ mRNA สอดคล้องกับกระบวนการเมแทโบลิสม (metabolic activity) และความสามารถในการอยู่รอด (resuscitation) รวมถึงบ่งชี้ถึงความมีชีวิตของ VBNC ด้วย สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Bej และคณะที่แสดงให้เห็นว่า RT-PCR สามารถใช้ในการตรวจหาเชื้อ *V. cholerae* ที่มีชีวิตได้ โดยทำการสกัด RNA จากเชื้อที่มีชีวิตและไม่มีชีวิตแล้วนำไปตรวจหายีน *ctxA* และ *tcpA* ของเชื้อด้วยวิธี RT-PCR พบว่าความไวในการตรวจหาเชื้อที่มีชีวิต $\leq 10^3$ (6) นอกจากนี้ในปี 2004 Morin และคณะได้พัฒนาการตรวจหาเชื้อ *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhi และ *Vibrio cholerae* O1 ด้วยวิธี reverse transcription-multiplex PCR โดยมีความไวในการตรวจหาเชื้อ *E. coli* O157:H7 และ *Salmonella* Typhi เท่ากับ 30 เซลล์ในเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วย (44)

2.4 การระบาดของโรคอุจจาระร่วงอย่างแรงในจังหวัดขอนแก่น

จังหวัดขอนแก่นเป็นจังหวัดที่ตั้งอยู่ศูนย์กลางการคมนาคมในภาคอีสาน ในแต่ละปีจึงมักมีรายงานผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วงอย่างแรงมากกว่าจังหวัดอื่นๆที่อยู่ใกล้เคียง จากการศึกษาย้อนหลังไปพบว่าจังหวัดขอนแก่นมีผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วงอย่างแรงเกิดขึ้นมาตลอดทุกปี โดยมีการระบาดมากครั้งแรกในปี 2530 พบผู้ป่วย 1,259 ราย เชื้อที่เป็นสาเหตุในครั้งนั้นคือ *Vibrio cholerae* El-Tor ระบาดครั้งที่ 2 ในปี 2533 พบผู้ป่วย 122 ราย เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคคือ *Vibrio cholerae* El-Tor Ogawa ส่วนการระบาดครั้งที่ 3 ปี 2536 พบผู้ป่วย 461 ราย เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคคือ *Vibrio cholerae* El-Tor Ogawa แต่ในครั้งนี้เริ่มพบผู้ป่วยที่เกิดจากเชื้อสายพันธุ์ใหม่คือ *Vibrio cholera* O139 จำนวน 2 ราย ที่อำเภอกระนวน จังหวัดขอนแก่น ในปีต่อมาคือปี 2537 เป็นการระบาดครั้งใหญ่ในจังหวัดขอนแก่น พบผู้ป่วยถึง 1,700 ราย เชื้อสาเหตุส่วนใหญ่เป็น *Vibrio cholera* O139 คือ1,442 ราย คิดเป็นร้อยละ 84.8 ของผู้ป่วยทั้งหมด เดือนมิถุนายนเป็นเดือนที่มีการระบาดสูงสุด การระบาดของโรคอุจจาระร่วงที่เกิดจากเชื้อ *Vibrio cholera* O139 ในปี 2537 จำนวนผู้ป่วยจะสูงกว่าค่ามัธยฐาน 5 ปีย้อนหลังถึง 178.5 เท่า (76)

จันทร์เพ็ญ จรูญธรรม และคณะได้ศึกษาผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วงอย่างแรงจากเชื้อ *Vibrio cholerae* O139 ที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม ถึง 31 สิงหาคม 2537 โดยการทำ rectal swab culture ในผู้ป่วยที่มีอาการมากและผู้ป่วยที่ต้องนอนรักษาในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ รวมทั้งสำรวจหาแหล่งของเชื้อภายในมหาวิทยาลัยขอนแก่น พบว่ามีการระบาดของเชื้อ *Vibrio cholera* O139 จำนวน 3 ครั้ง การระบาดครั้งที่ 1 พบผู้ป่วย 18 ราย ครั้งที่ 2 จำนวน 36 ราย และครั้งที่ 3 จำนวน 11 ราย จากการสำรวจหาแหล่งโรคภายในมหาวิทยาลัย ในร้านอาหาร 10

แห่ง เก็บตัวอย่างอุปกรณ์ในการประกอบอาหารตรวจหาเชื้อ จำนวน 77 รายการ ตรวจพบเชื้อ *Vibrio cholera* O139 จำนวน 4 ราย คิดเป็นร้อยละ 5.19 และเก็บอุจจาระจากผู้บริโภคอาหารจำนวน 143 ราย ส่งตรวจหาเชื้อพบเชื้อ *Vibrio cholera* O139 จำนวน 6 ราย คิดเป็นร้อยละ 4.20 ตรวจพบเชื้อ *Vibrio cholera* O139 ในแม่ค้าผู้ประกอบอาหาร 1 ราย ซึ่งผู้ที่ตรวจพบเชื้อทั้ง 7 รายได้รับการรักษาด้วยยา tetracycline และติดตามผลการรักษาไม่พบการติดเชื้ออีก (75)

ต่อมามีการระบาดเมื่อ พ.ศ. 2550 จำนวนผู้ป่วย 462 ราย เชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคคือ *Vibrio cholerae* El-Tor Ogawa (35) และครั้งล่าสุด พ.ศ. 2553 จำนวนผู้ป่วย 153 ราย (34)