Effect of Sugars on Biofilm Formation by *Escherichia coli* O157:H 7

(Received January 26, 2009; Accepted March 18, 2009)

Makoto Yoshida,^{1,*} Shinichi Kawamoto² and Satoshi Kaneko^{1,**}

¹Food Biotechnology Division, National Food Research Institute
 (2-1-12, Kannondai, Tsukuba 305-8642, Japan)

²Food Hygiene Laboratory, National Food Research Institute
 (2-1-12, Kannondai, Tsukuba 305-8642, Japan)

Abstract: The effects of sugars on biofilm formation by *Escherichia coli* O157:H 7 were investigated by microtiter plate assay. In the cultivation using the medium containing a monosaccharide such as D-glucose, D-galactose, D-mannose, D-xylose, L-arabinose, L-fucose and L-rhamnose for 7 days, active biofilm formation was observed at 1 day, and then the level of biofilm formation decreased gradually after 3 day. When the bacterium was cultivated in medium containing 0.4, 0.04 or 0.004% of monosaccharides for 1 day, a low level of biofilm formation was observed in the medium containing 0.4% D-mannose or L-rhamnose. However, only D-mannose suppressed biofilm formation in the presence of other sugars such as D-glucose.

Key words: biofilm, D-mannose, biofilm formation, *Escherichia coli* O157:H 7

大腸菌 O157:H 7 のバイオフィルム形成における糖類の影響

吉田 誠^{1,*}, 川本伸一², 金子 哲^{1,**}

¹独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所食品バイオテクノロジー研究領域
 (305-8642 つくば市観音台 2-1-12)

²独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所食品安全研究領域
 (305-8642 つくば市観音台 2-1-12)

食品の安全性は国際的に重大な問題であり、生産から消費者の口に入るまでの徹底した衛生管理が強く望まれているが、細菌による食中毒感染事例は依然として減少していない。近年の研究により、その要因は微生物の生態と大きく関係していることが明らかとなってきた。通常、微生物はさまざまな物に付着すると多糖を中心とした粘物質を菌体外に形成し、その中に生息する。その粘物質に包まれた微生物集合体がすなわちバイオフィルムである。自然界において微生物のほとんどはバイオフィルムとしてなんらかの固体表面上に付着した状態で生息している。バイオフィルム中の微生物は浮遊状態に比べ、抗生物質や薬剤、乾燥等に対し、著しく高い抵抗性を示すことが知られている^{1,2)}。多糖分解酵素がバイオフィルムの除去に有効であるという報告もあるが^{3,4)}、一度形成されたバイオフィルムを完全に取り除く有効な方法は現時点では開発されていない。したがって、バイオフィルムは食品の衛生管理においてきわめて大きな問題となっており、このような背景からその形成をいかに制御するかが衛生管理上の大きな命題となっている。

大腸菌 O157:H 7 は、1980 年代初頭に見出されたグラム

陰性の腸内病原菌であり⁵⁾、きわめて少ない細胞数で食中毒を引き起こすことが知られている。本菌が生産するベロ毒素により、出血性大腸炎や溶血性尿毒症症候群、血栓性血小板減少性紫斑病などが発症し、症状がひどい場合には死に至ることもある^{5,6)}。大腸菌 O157:H 7 は加熱に弱く、75°C で 1 分間の加熱で死滅するにも関わらず、現在も食中毒の感染例が後を絶たない。既往の研究により、本菌はステンレススチールなどの非生物表面上にバイオフィルムを形成できることが知られている^{7,8)}。このことは、本菌が水道管や流し表面上にバイオフィルムを形成する可能性があり、これら非生物表面が大腸菌 O157:H 7 の媒体となりうる可能性を示唆している。

大腸菌 O157:H 7 のバイオフィルム形成の結果として引き起こされる食品汚染を防止するためには、本菌のバイオフィルム形成機構に関する生理学的理解が不可欠である。これまでに温度、pH、振とうなどの環境要因がバイオフィルム形成に与える影響については報告されてきている^{7,9,10)}。しかしながら、バイオフィルムの主成分が多糖類であるにもかかわらず、糖類の影響についてはほとんど知られていない。そこで本研究では、種々の糖類が大腸菌 O157:H 7 のバイオフィルム形成に与える影響について調査したので報告する。

実験の第一段階として、バイオフィルム形成条件の最適化を行った。大腸菌 O157:H 7 CR-3 株, MN-28 株, MY-

* Present address: Tokyo University of Agricultural and Technology, 3-5-8, Saiwai-cho, Fuchu, Tokyo 183-8509, Japan.

** Corresponding author (Tel. +81-29-838-8063, Fax. +81-29-838-7996, E-mail: sakaneko@affrc.go.jp).

29 株, DT-66 株を前培養し, 得られた菌体を生理食塩水で洗浄した後, ポリプロピレン製 96 穴マイクロプレート中の培地に接種した. 培地として 0.04% の D-グルコースを含む最少培地およびダルベッコ改変イーグル培地を用いた. 接種した菌を 24 時間静置培養した後, 蒸留水でウェル内を良く洗浄し, ウェル内に付着した菌体をクリスタルバイオレットで可視化した. 実験の結果, DT-66 が最も多量のバイオフィルムを形成し, その最適培養条件は, 最少培地 (pH 4), 37°C であった. よって, 以後の実験には本条件を用いることとした.

各種の糖類を含む培地における菌体成長およびバイオフィルム形成の経日変化を調査した. 前述したものと同等の条件下で, DT-66 株を 0.04% の D-グルコース, D-ガラクトース, D-マンノース, D-キシロース, L-アラビノース, L-フコース, L-ラムノースをそれぞれ単一の炭素源とする最少培地で培養し, 1, 3, 7 日目の菌体量およびバイオフィルム形成量を測定した. その結果, 糖の種類に関わらず, 菌体量はすべての培地で培養 1 日目におおむね最大値に達し, その浮遊細胞密度は培養後期まで維持された (Fig. 1 (A)). L-ラムノースを含む培地における菌体生長量は, 他の培地と比較して低かった. 一方, バイオフィルムの量も培養 1 日目に最大値まで達したが, その後, 徐々に減少することが明らかとなった (Fig. 1 (B)). 緑膿菌 *Pseudomonas aeruginosa* を対象とした既往の研究において, 飢餓状態がバイオフィルムからの細胞の遊離を引き起こすことが報告されている¹¹⁾. それゆえ, 本研究で観察された培

養後期のバイオフィルム量の減少は, 培地中の栄養素の不足による飢餓状態が原因であると考えられる.

糖濃度がバイオフィルム形成に与える影響を調べるために, 単一の炭素源として上記の糖類をそれぞれ 0.4, 0.04, 0.004% 含む最少培地で培養し, 24 時間後のバイオフィルム形成量を測定した. その結果, 0.4 および 0.04% の糖類を含む培地で最もバイオフィルム量が多かった (Table 1). しかしながら, 興味深いことに, D-マンノースおよび L-ラムノースを 0.4% 含む培地においては, きわめて少量のバイオフィルムが確認された. 同条件下において浮遊菌体密度に大きな影響は観察されなかったことから, これらの糖類が菌体の生育に悪影響を及ぼしたとは考えにくく, したがって, これらの糖類が直接的にバイオフィルムの形成を阻害した可能性が考えられた.

上記の実験により, D-マンノースおよび L-ラムノースがバイオフィルム形成を阻害する可能性が示唆されたことから, それらの糖類とバイオフィルム形成の関連をさらに詳しく調査するため, 以下の実験を行った. 菌体を D-グルコース, D-ガラクトース, D-キシロース, L-アラビノース, L-フコースを 0.4% 含む最少培地に 0.4% の D-マンノースおよび L-ラムノースを添加し, 培養 24 時間後のバイオフィルム形成量を測定した (Table 2). その結果, L-ラムノースの添加, 無添加両培地においてバイオフィルムの量に差異は観察されなかった. このことから, L-ラムノースはバイオフィルムを直接的に阻害するものではないと考えられた. Fig. 1 でみられたように, L-ラムノース含有培地における菌体生長量は, 他の培地と比較して低かった. このことは, 大腸菌 O157:H7 における L-ラムノース

Fig. 1. Time course of bacterial growth (A) and biofilm formation (B).

DT 66 was cultivated in minimal medium containing 0.04% D-glucose (●), D-galactose (○), D-mannose (▲), D-xylose (△), L-arabinose (■), L-fucose (□) or L-rhamnose (▼) as the sole source of carbon. After culture for 1, 3 or 7 days, the bacterial cell density and amount of biofilm were determined. Each error bar shows the standard error in triplicate tests for each sample.

Table 1. Effect of sugar concentrations on biofilm formation.

	Amount of biofilm (OD ₅₉₅)		
	Sugar concentration (%)		
	0.4	0.04	0.004
D-Glucose	0.15±0.004	0.18±0.009	0.12±0.008
D-Galactose	0.16±0.005	0.23±0.012	0.13±0.017
D-Mannose	0.07±0.024	0.20±0.037	0.13±0.007
D-Xylose	0.21±0.006	0.22±0.036	0.15±0.015
L-Arabinose	0.20±0.008	0.21±0.032	0.17±0.001
L-Fucose	0.23±0.011	0.23±0.013	0.14±0.027
L-Rhamnose	0.07±0.016	0.16±0.027	0.13±0.029

Each experiment was carried out in triplicate.

Table 2. Effect of D-mannose or L-rhamnose on biofilm formation.

Carbon source	Amount of biofilm (OD ₅₉₅)		
	No additive	D-Mannose added ^b	L-Rhamnose added ^b
D-Glucose ^a	0.15±0.004	0.11±0.005	0.14±0.012
D-Galactose ^a	0.16±0.005	0.12±0.004	0.14±0.012
D-Xylose ^a	0.21±0.006	0.12±0.012	0.20±0.020
L-Arabinose ^a	0.20±0.008	0.12±0.005	0.20±0.024
L-Fucose ^a	0.23±0.016	0.13±0.011	0.22±0.024

^a0.4% (w/v) sugar was used. ^b0.4% (w/v) D-mannose or L-rhamnose was added. Each experiment was carried out in triplicate.

の代謝様式が他の糖類と異なることを示唆している。したがって、その代謝様式の違いが、Table 1で観察された0.4% L-ラムノース含有培地における低レベルのバイオフィーム形成に反映されたのではないかと予想される。

一方、D-マンノースを添加した培地においては、すべての培地においてバイオフィーム形成の低下が認められた。同条件において菌体成長には変化が観察されなかったことから、D-マンノースは大腸菌 O157:H7 のバイオフィーム形成を直接的に阻害することが示唆された。さらに、D-マンノースによるバイオフィーム形成の抑制効果は、ステンレススチール表面においても観察された。よって、この抑制効果は固体の性質や表面構造に依存しないと考えられる。大腸菌は1型繊毛先端にD-マンノース結合性タンパク質 (FimH) を有することが明らかにされている¹²⁾。FimHは哺乳細胞表面糖鎖のマンノース残基に吸着し、宿主への感染を媒介するタンパク質であり¹³⁾、D-マンノースの添加によりその機能が阻害される¹⁴⁾。また、バイオフィーム形成に1型繊毛が関与することが示唆されており、その先端に存在するFimHの関与が議論されている¹⁵⁾。しかしながら、多くの大腸菌 O157:H7 においてはFimHの発現は確認されているものの1型繊毛が認められないという報告があり¹⁶⁾、1型繊毛と異なる部位にFimHが局在し、独立に機能していることを示唆している。また、D-マンノースが大腸菌 O157:H7 の上皮細胞への付着を阻害するという報告もなされており¹⁷⁾、FimHの細胞接着への関与は確実である。本研究で見出した、D-マンノースがバイオフィーム形成を抑制する現象は、FimHがD-マンノースにコーティングされることにより、固体表面への大腸菌 O157:H7 の接着が減少したためと考えられる。オリゴ糖を使用した実験では、 α -1,2-, α -1,3-, および α -1,6-D-マンノピオースを用いた場合にD-マンノースと同様の結果が得られたが、 β -1,4-D-マンノピオースにはその機能がなかったことから、FimHのコーティングによる接着性の低下により形成されるバイオフィームの量が減少したというメカニズムが示唆されるが、その詳細を解明するには、さらなる研究が必要である。

近年、D-マンノースがマクロファージの活性を高める機能¹⁸⁾や抗炎症作用を有する¹⁹⁾ことが明らかとなり、医療分野への応用が期待されている。また、食品加工分野でも、D-マンノースが家畜の腸内において、病原菌の繁殖を抑える効果が知られており²⁰⁾、鶏卵のサルモネラ菌対策、子豚の大腸菌感染の予防を目的として、D-マンノース含有飼料がすでに実用化され、商業的に流通している。本研究において見いだされた、D-マンノースが他の糖類の存在下においても大腸菌 O157:H7 のバイオフィーム形成を阻害するという現象は、我々が知る限り世界で初めての報告である。したがって本研究は、D-マンノースの食品衛生分野への応用の可能性を大きく広げるものである。

実験方法

1. 実験材料

本研究では、大腸菌 CR-3 株、MN-28 株、MY-29 株、DT-66 株 (すべて牛の糞由来のもの) を用いた²¹⁾。最少培地として、0.7% (w/v) リン酸水素二カリウム、0.3% (w/v) リン酸二水素カリウム、0.1% (w/v) 硫酸アンモニウム、0.01% (w/v) 硫酸マグネシウム・7水和物、0.0001% (w/v) 酵母抽出物および適当量の糖類を含む培地を用いた。ダルベッコ改変イーグル培地は、ナカライテスク(株)製のものをを用いた。

2. バイオフィーム量の測定

本研究では、96穴マイクロプレートを用いて、既往の方法²²⁾に従いバイオフィーム量を測定した。マイクロプレートウェル内の培地を除去した後、滅菌超純水により5回洗浄した。プレートを風乾した後、バイオフィーム中の菌体を0.5% (w/v) クリスタルバイオレットで10分間染色した。その後、滅菌超純水により5回洗浄し、残留色素を200 μ Lの95% (v/v) エタノールで溶出した。これを良く混合した後、OD₅₉₅を測定した。

3. 大腸菌 O157:H7 の培養

1) 前培養

大腸菌 O157:H7 を10 mLのLB培地で37°C、14時間培養した後、遠心分離 (2000 $\times g$, 1分間) した。得られた菌体を0.85%の生理食塩水に懸濁し、ポリプロピレン製96穴マイクロプレート中の培地に各実験に適切なOD₅₉₅の値となるように接種した。

2) バイオフィーム形成のための培養

バイオフィーム形成条件の最適化を行うため、大腸菌 O157:H7 の4株を用いて実験を行った。前培養液を0.04% (w/v) D-グルコース含有最少培地およびダルベッコ改変イーグル培地にOD₅₉₅が0.05となるように接種した。各培養は200 μ Lの系で行った。各培地はpH 4-7に調整し、培養容器としてポリスチレン製の96穴マイクロプレートを用いた。37°C、24時間静置した後、上記の方法によりバイオフィーム中の菌体を可視化した。

種々の糖類を含む培地における菌体の生育およびバイオフィーム形成の経日変化を、次のようにして調査した。前培養液を0.04% (w/v) D-グルコース、D-ガラクトース、D-マンノース、D-キシロース、L-アラビノース、L-フコース、L-ラムノースをそれぞれ単一の炭素源とする最少培地 (pH 4) にOD₅₉₅が0.05となるように接種し、37°Cで7日間静置培養した。各培養は200 μ Lの系で行った。培養1, 3, 7日の培養液のOD₅₉₅を測定し、菌体量とした。さらに、各培養日数のバイオフィームの量を上記の方法により測定した。

バイオフィーム形成に対する糖濃度の影響を調査するため、以下のとおり実験を行った。それぞれ0.4% (w/v)、0.04% (w/v)、0.004% (w/v) のD-グルコース、D-ガラク

トース, D-マンノース, D-キシロース, L-アラビノース, L-フコース, L-ラムノースを単一の炭素源とする最少培地 (pH 4) を調製し, そこに前培養液を OD₅₉₅ が 0.2 となるように接種し, 37°C で 24 時間静置培養した. 各培養は 200 µL の系で行った. その培養液の OD₅₉₅ を測定し, 菌体量とし, さらにバイオフィルムの量を上記の方法により測定した.

D-マンノースおよびL-ラムノースによるバイオフィルム形成の抑制効果を, 以下のとおり調査した. それぞれ 0.4% (w/v) の D-グルコース, D-ガラクトース, D-キシロース, L-アラビノース, L-フコースを単一の炭素源とする最少培地 (pH 4) を調製し, そこに最終濃度 0.4% (w/v) となるように D-マンノースおよびL-ラムノースを添加した. 前培養液を OD₅₉₅ が 0.2 となるように接種し, 37°C で 24 時間静置培養した. 各培養は 200 µL の系で行った. 静置後の培養液の OD₅₉₅ を測定し, 菌体量とし, さらにバイオフィルムの量を上記の方法により測定した. 糖濃度の影響を考慮し, D-グルコースをコントロールとして同様の実験を行ったが, 糖濃度による影響は認められなかった.

本研究は, 農林水産省委託プロジェクト「食品・農産物の表示の信頼性確保と機能性解析のための基盤技術の開発」の予算により実施されたものである.

文 献

- 1) B.D. Hoyle and J.W. Costerton: Bacterial resistance to antibiotics: the role of biofilms. *Prog. Drug. Res.*, **37**, 91-105 (1991).
- 2) P.S. Stewart and J.W. Costerton: Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet*, **358**, 135-138 (2001).
- 3) Y. Itoh, X. Wang, B.J. Hinnebusch, J.F. Preston III and T. Romeo: Depolymerization of β -1,6-*N*-acetyl-D-glucosamine disrupts the integrity of diverse bacterial biofilms. *J. Bacteriol.*, **187**, 382-387 (2005).
- 4) T.K. Lu and J.J. Collins: Dispersing biofilms with engineered enzymatic bacteriophage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 11197-11202 (2007).
- 5) L.W. Riley, R.S. Remis, S.D. Helgerson, H.B. McGee, J.G. Wells, B.R. Davis, R.J. Hebert, E.S. Olcott, L.M. Johnson, N. T. Hargrett, P.A. Blake and M.L. Cohen: Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N. Engl. J. Med.*, **308**, 681-685 (1983).
- 6) G. Reiss, P. Kunz, D. Koin and E.B. Keeffe: *Escherichia coli* O157:H7 infection in nursing homes: review of literature and report of recent outbreak. *J. Am. Geriatr. Soc.*, **54**, 680-684 (2006).
- 7) R. Dewanti and A.C.L. Wong: Influence of culture conditions on biofilm formation by *Escherichia coli* O157:H7. *Int. J. Food Microbiol.*, **26**, 147-164 (1995).
- 8) J.H. Ryu, H. Kim, J.F. Frank and L.R. Beuchat: Attachment and biofilm formation on stainless steel by *Escherichia coli* O157:H7 as affected by curli production. *Lett. Appl. Microbiol.*, **39**, 359-362 (2004).
- 9) M.E. Coleman, M.L. Tamplin, J.G. Phillips and B.S. Marmer: Influence of agitation, inoculum density, pH, and strain on the growth parameters of *Escherichia coli* O157:H7 - relevance to risk assessment. *Int. J. Food Microbiol.*, **83**, 147-160 (2003).
- 10) J.H. Ryu and L.R. Beuchat: Factors affecting production of extracellular carbohydrate complexes by *Escherichia coli* O157:H7. *Int. J. Food Microbiol.*, **95**, 189-204 (2004).
- 11) S.M. Hunt, E.M. Werner, B. Huang, M.A. Hamilton and P.S. Stewart: Hypothesis for the role of nutrient starvation in biofilm detachment. *Appl. Environ. Microbiol.*, **70**, 7418-7425 (2004).
- 12) K.A. Krogfelt, H. Bergmans and P. Klemm: Direct evidence that the FimH protein is the mannose-specific adhesin of *Escherichia coli* type 1 fimbriae. *Infect. Immun.*, **58**, 1995-1998 (1990).
- 13) G. Zhou, W.J. Mo, P. Sebbel, G. Min, T.A. Neubert, R. Glockshuber, X.R. Wu, T.T. Sun and X.P. Kong: Uroplakin Ia is the urothelial receptor for uropathogenic *Escherichia coli*: evidence from *in vitro* FimH binding. *J. Cell Sci.*, **114**, 4095-4103 (2001).
- 14) C.S. Hung, J. Bouckaert, D. Hung, J. Pinkner, C. Widberg, A. DeFusco, C.G. Augustine, R. Strouse, S. Langermann, G. Waksman and S.J. Hultgren: Structural basis of tropism of *Escherichia coli* to the bladder during urinary tract infection. *Mol. Microbiol.*, **44**, 903-915 (2002).
- 15) L.A. Pratt and R. Kolter: Genetic analysis of *Escherichia coli* biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. *Mol. Microbiol.*, **30**, 285-293 (1998).
- 16) M. Enami, N. Nakasone, Y. Honma, S. Kakinohana, J. Kudaka and M. Iwanaga: Expression of type I pili is abolished in verotoxin-producing *Escherichia coli* O157. *FEMS Microbiol. Lett.*, **179**, 467-472 (1999).
- 17) D.K. Winsor Jr., S. Ashkenazi, R. Chiovetti and T.G. Cleary: Adherence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains to a human colonic epithelial cell line (T 84). *Infect. Immun.*, **60**, 1613-1617 (1992).
- 18) I. Takata, K. Chida, M.R. Gordon, Q.N. Myrvik, M.J. Ricardo and L.S. Kucera: L-Fucose, D-mannose, L-galactose, and their BSA conjugates stimulate macrophage migration. *J. Leukoc. Biol.*, **41**, 248-256 (1987).
- 19) J. Kössi, J. Peltonen, T. Eklors, J. Niinikoski and M. Laato: Effects of hexose sugars: glucose, fructose, galactose and mannose on wound healing in the rat. *Eur. Surg. Res.*, **31**, 74-82 (1999).
- 20) B.A. Oyfo, J.R. DeLoach, D.E. Corrier, J.O. Norman, R.L. Ziprin and H.H. Mollenhauer: Prevention of *Salmonella typhimurium* colonization of broilers with D-mannose. *Poult. Sci.*, **68**, 1357-1360 (1989).
- 21) Y. Inatsu, M.L. Bari, S. Kawasaki, K. Isshiki and S. Kawamoto: Efficacy of acidified sodium chlorite treatments in reducing *Escherichia coli* O157:H7 on Chinese cabbage. *J. Food Prot.*, **68**, 251-255 (2005).
- 22) N. Wakimoto, J. Nishi, J. Sheikh, J.P. Nataro, J. Sarantuya, M. Iwashita, K. Manago, K. Tokuda, M. Yoshinaga and Y. Kawano: Quantitative biofilm assay using a microtiter plate to screen for enteroaggregative *Escherichia coli*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **71**, 687-690 (2004).

大腸菌 O157:H7 の**バイオフィルム形成に対する糖類の影響**吉田 誠¹, 川本伸一², 金子 哲¹¹ 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

食品バイオテクノロジー研究領域

(305-8642 つくば市観音台 2-1-12)

² 農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所

食品安全研究領域

(305-8642 つくば市観音台 2-1-12)

大腸菌 O157:H7 を D-グルコース, D-ガラクトース, D-マンノース, D-キシロース, L-アラビノース, L-ラムノース, L-フコースをそれぞれ単一の炭素源として 0.04% 含む培地で 7 日間培養し, 菌体生長量および形成されたバイオフィルムの量を測定した. その結果, すべての培地において, 培養 1 日目で菌体量が最大に達した (Fig. 1 (A)). 同様に, バイオフィルムの量も培養 1 日目に最大値を示し, その後, 減少した (Fig. 1 (B)). 糖類の濃度がバイオフィルム形成に与える影響を調べるため, 上記の糖類を単一の炭素源として 0.4, 0.04, 0.004% 含む培地をそれぞれ調製し, 1 日間培養した. その結果, 0.4% の D-マンノースおよび L-ラムノースを含む培地において, 本菌のバイオフィルム形成能の低下が観察された (Table 1). さらに, D-グルコース, D-ガラクトース, D-キシロース, L-アラビノース, L-フコースを含む培地に D-マンノースおよび L-ラムノースをそれぞれ添加し, 大腸菌 O157:H7 を培養した結果, D-マンノースを添加した培地のみバイオフィルム形成の低下が観察された (Table 2). D-マンノースの添加培地と無添加培地において, 菌体生長量に変化は観察されなかったことから, D-マンノースは大腸菌 O157:H7 のバイオフィルム形成を直接的に阻害すると考えられた.