

Borrelia burgdorferi cysteformer:

En sannsynlig årsak til reaktivering og resistens

Av Øystein Brorson, overbioingeniør ved mikrobiologisk avdeling, Sykehuset Vestfold og 1. lektor ved Bioingeniørutdanningen, Høgskolen i Østfold.

Sammendrag

De fleste medisinske miljøer har ment at borreliainfeksjoner kan behandles effektivt med doxycyklin, penicillin eller ceftriaxone over 14 dager, men det er rapportert behandlingssvikt for ethvert antibiotikum som vanligvis brukes.

En av årsakene kan være at bakterien forvandles til cysteformer under påvirkning av ulike stressfaktorer. De antibiotika som vanligvis brukes i dag ved borreliainfeksjon har mangler, dessuten kan det dannes cysteformer med lav biologisk aktivitet som kan føre til beskyttelse mot antibiotika. Det er vist at cysteformer både in vivo og in vitro kan konvertere tilbake til spiralformer. Dette kan føre til reaktivering av sykdommen. For å bekjempe infeksjonen må derfor alle levende former av bakterien bekjempes.

Borrelia cysteformer er ingen ny oppdagelse. I 1905-07 rapporterte Dutton og Todd om en såkalt "negativ fase" for *Borrelia duttoni*. Disse forskerne foreslo følgende syklus for spiroketen: Spiroketer som kommer ned i flåttens tarm og invaderer tarmens epitel, mister sin bevegelighet, og i løpet av tre – fire dager omdannes de til cysteformer som inneholder granula og kromatinlegemer. Den tiende dagen kunne ikke lenger morfologisk vanlige spiroketer observeres. Imidlertid utviklet det seg nye spiroketer fra det store antall granuler hvis flått ble oppbevart i høyere temperatur enn 25 °C (1). Hindle rapporterte det samme i 1911. Han observerte også at det ikke lenger kunne observeres spiroketer i flåttens tarm eller vev etter den tiende dagen ved infeksjon. Når granulært materiale fra flått ble injisert i mus, viste det seg imidlertid at slikt materiale var infeksiosøst. Det viste seg også at når flåttens temperatur ble øket til 35 °C, utviklet det seg på nytt morfologisk normale bevegelige spiroketer (2). I 1950 observerte Hampp at når 31 måneder gamle kulturer av orale spiroketer

og *Borrelia vincenti* som bare inneholdt granuler, ble overført til ferskt dyrkningsmedium, resulterte det i vekst av morfologisk typiske spiroketer. Han antok derfor at granuler (cyster) og blebs (vesikler) av spiroketene var en del av livssyklusen hos disse spiroketene (3). DeLamater og medarbeidere viste det samme og førte bevis for en kompleks livssyklus hos patogene og ikke patogene *Treponema pallidum* (4).

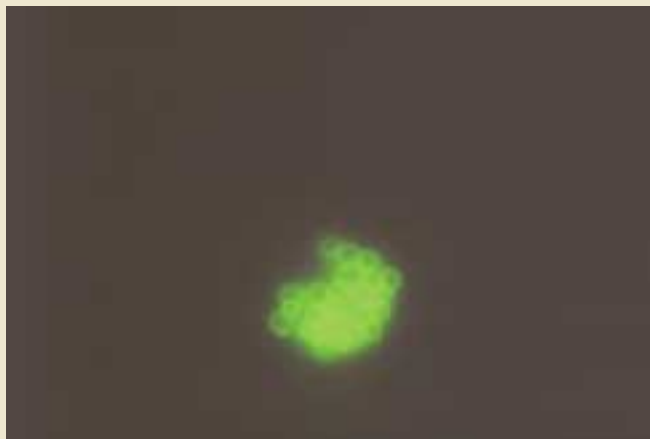
Andre forskere fant derimot ingen bevis for en kompleks livssyklus hos spiroketer, og cysteformer ble derfor regnet for døde degenererte former av spiroketer (1).

Spørsmålet om en negativ fase og kompleks livssyklus av spiroketer dukket først opp igjen da Willy Burgdorfer i 1982 oppdaget Lyme disease spiroketen, som nå kalles *Borrelia burgdorferi* (5). Av spesiell interesse var observasjonen av cyster og blebs i borreliainfiserede flått, som viste seg å reagere sterkt med FITC-konjugert *Borrelia* antistoff (6).

Egne studier

I 1995 observerte jeg at *Borrelia burgdorferi* som hadde vært dyrket i BSK-H vekstmedium, uten kanin serum, etter hvert utviklet seg til cysteformer. Etter to måneder kunne ikke lenger vanlige spiroketer observeres, kun cysteformer kunne observeres med mørkefeltmikroskopi. Disse cystene utviklet seg til bevegelige spiroketer etter seks ukers inkubering i BSK-H medium med kanin serum. Som en kontroll på om det fortsatt var bevegelige spiroketer til stede, ble like deler filtrert (0,45 µm filter) og ikke-filtrert materiale tilsatt sine respektive rør. Spiroketer med en tykkelse på 0,18 – 0,3 µm, passerer lett dette filteret. Det ble brukt mørkefelt- og interferenskontrastmikroskopi samt transmisjonselektronmikroskop for å studere cyster og utviklingen av bevegelige spiroketer fra cystene. Cystene hadde en diameter fra 0,5 – 2,0 µm, var runde til irregulære og inneholdt spiroketer eller kjernestrukturer. Elektronmikroskopiske studier viste at cystene var omgitt av en dobbel membran, og spiroketene, som ble observert inne i noen av cystene, hadde mistet en ytre membran. Transvers fisjon av spiroketer inne i cystene kunne også observeres, i tillegg til flageller og makromolekulære strukturer. Cyster som var fullstendig fylt med mørkt materiale, hadde evnen til å dele seg. Kjernestrukturer, granula og blebs viste seg å være omgitt av en dobbel membran (7).

Jeg fant også at *Borrelia burgdorferi* kan forandre seg til cysteformer når den blir overført til spinalvæske. Denne



Figur 1. *Borrelia burgdorferi* cyster i spinalvæske. I løpet av ett døgn konverterer spiroketene til cyster. Farget med FITC-konjugert polyklonalt *Borrelia burgdorferi*-antistoff. UV-mikroskopering. Forstørrelse 2000x. Foto: Øystein Brorson.



Figur 2. Borreliacyster fra spinalvæske som er ruptert ved å blande like deler cyster og 0,1 M NaOH. Innholdet blir frigjort og bakterier eller kjerner blir synlige. Farget med Wheat Germ Agglutinin konjugert med Oregon green. UV mikroskopi. Forstørrelse 2000x. Foto: Øystein Brorson.

forvandlingen var komplett innen 24 timer, men forvandlings-tiden var langsommere ved høy enn ved lav proteinkonsentra-sjon i spinalvæsken.

Spiroketer kunne lett sees inne i cystene, og kjernestruk-turer utviklet seg raskere når spinalvæsken hadde patologisk proteinmengde enn hvis den var normal. Over tid utviklet det seg aggregater av cyster (figur 1). Når cystene ble overført til friskt BSK-H medium, kunne de første bevegelige spiroketene sees 9-17 dager etter at vekstmediet var sentrifugert og bunnfallet mikroskopert.

Cystene viste seg å være svært resistente for ulik påvirkning, men cystevæggen gikk i oppløsning når cystene ble utsatt for 0,1 M NaOH, og cysteinholdet, kjernestrukturer, granuler og spiroketer ble frigjort (8) (figur 2).

Det var ønskelig å studere cystenes biologi nærmere, men det var vanskelig å bruke spinalvæske til å lage store kvantum cyster. Det ble derfor utført en del forsøk for å finne en effektiv måte til å lage cyster i stor skala.

Gjennom eksperimenter ble det oppdaget at destillert vann var et fremragende medium til fremstilling av cyster. Ved å lage en 1:100 fortykning i destillert vann av spiroketer som hadde formert seg én uke i BSK-H medium, kunne det observeres i mørkefeltmikroskop at mer enn 95 prosent av spiroketene forvandlet seg til cyster i løpet av få minutter. Det kunne se ut som om cystene ble produsert ved at bakterien vrent seg inn i sin eget membranbeskyttede rom. Noen ganger kunne langsomme bevegelser sees inne i cysten. Etter cirka én uke kunne begynnende cysteaggregater sees og disse økte i størrelse over tid, antall spiroketer inne i cystene avtok og det dannet seg kjernestrukturer, én – seks i hver cyste (figur 3). Inne i noen av cystene kunne livlige bevegelser av kjerner observeres. Størrelsen av cystene varierte fra 0,5 – 4 µm og

hadde en rund struktur. Daglig observasjon av cyster som var inkubert i BSK-H-medium, viste at det utviklet seg én – fem hyperbevegelige tynne strukturer som var festet til cystemem-branen. Disse tynne strukturene vokste både i lengde og tykkelse, og etter hvert fikk mange av dem utseende som normale spiroketer, de ble bevegelige og løsnet fra cysten (figur 4). Etter sentrifugering kunne de første bevegelige spiroketene sees etter ni dager hvis én dag gamle cyster ble inkubert i BSK-H-medium, men først etter fire uker hvis fem uker gamle cyster ble inkubert. Det ble også observert fisjon av selve cysten hvis den var fylt med mørkt materiale. Elektromikroskopisk kunne det observeres at spiroketen var i stand til å formere seg inne i cysten. Det ble også observert at selve kjernestrukturen inne i cysten produserte blebs (9) (figur 6).

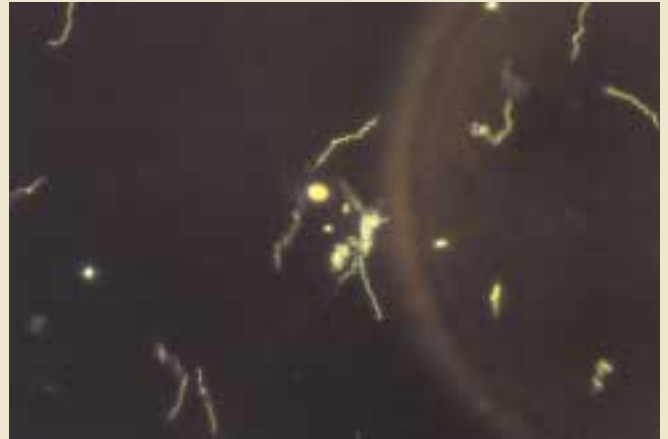
At cystene nå kunne produseres i store mengder på kort tid, gjorde det mulig å studere hvordan cystene ble påvirket av ulike medikamenter. Den mikroskopiske likheten mellom cyster og protozoer gjorde det logisk å teste ut medikamenter som brukes til å behandle protozoainfeksjoner.

Ved å bruke ulike teknikker, kunne ulike fenomen studeres; Akridin orange pH 6,4 ble benyttet for å studere RNA-innholdet i cystene. Akridin orange pH 7,4 (figur 5) og BacLight ble benyttet for å skille mellom levende og døde cyster. For å undersøke om dyrkning av de antibiotikaeksponerte cystene kunne føre til konvertering av cyster tilbake til spiralformer, ble dyrkning utført i BSK-H medium. Transmisjonselektronmikroskop ble benyttet for å observere de ultrastrukturelle elementene (10-13).

Resistensbestemmelse for den mobile bakterien ble utført i BSK-H medium, mens cystene ble undersøkt i BSK-H medium som var fortyknet 1:100 i destillert vann. I tillegg ble de mobile bakteriene testet i isotont saltvann for å se etter eventuell antibiotikahemmende effekt av BSK-H mediet.



Figur 3. Cyster som over tid har utviklet kjerner. Interferenskontrastmikroskopi. Original forstørrelse 800x. Foto: Øystein Brorson.



Figur 4. Spiroketer under utvikling fra cyster produsert i destillert vann. Cystene er overført til BSK-H vekstmedium og inkubert ved 30 °C i fire uker. Forstørrelse 800x. Foto: Øystein Brorson.

Bakterier ble også testet i destillert vann, for å se om de ulike antibiotika hadde noen hemmende effekt på dannelsen av cyster.

Det ble funnet at hydroxykloroquinin, metronidazole, bismuth ranitidin citrat og tinidazole hadde lyserende effekt på cysteveggen; kjernestrukturer og intracystoide spiroketer gikk i oppløsning. Blebs så også ut til å bli påvirket negativt av disse medikamentene. Det ble også vist at disse antibakterielle stoffene hadde en evne til å hindre utvikling av cyster. Disse forandringene ble observert for konsentrasjoner av medikamentene som er oppnåelig *in vivo*. Blebs er antatt å ha en spesiell patogen betydning ved Lyme borreliose, både via antigen variasjon, komplementresistens, aktivering til cytokinproduksjon, adhesjonsmolekyler, autoimmun reaksjon, celledrap og intracellulær lokalisasjon (14-23).

Diskusjon og konklusjon

Spiroketer som konverterer til cysteformer og tilbake til spiralformer er altså ikke ny kunnskap, men ble observert allerede for vel 100 år siden av Dutton og Todd (1). Lignende observasjoner ble også gjort for orale spiroketer, *Borrelia vincent* (3) og *Treponema pallidum* (4). Ved mikroskopisk observasjon er en lignende livssyklus også blitt foreslått for Reiters treponema, og det er bevist at disse cystene er biologisk aktive (24). *Spirosymplocus deltaeiberi*, en uvanlig stor spiroket isolert fra mudder som nylig er studert ultrastrukturelt, har også vist seg å produsere cyster som inneholder materiale som kan utvikle seg til nye spiroketer (25). Ved å bruke sølvfarging og elektronmikroskopi lyktes det forskere ved Rocky Mountain laboratoriet i USA, å påvise lineært og sirkulært DNA i *Borrelia* cyster som hadde utviklet seg i vekstmedium (26).

Flere forskere har bekreftet mine funn om konvertering av *Borrelia burgdorferi* til cyster under ulike stressforhold og tilbake til spiralformer under gunstig miljø (27-30). Det er også funnet

at cyster uttrykker mange nye antigen (27). Dette kan være en av årsakene til negative serologiske reaksjoner, siden dagens tilgjengelige enzymatiske tester ikke inneholder cysteantigener. Det er også vist at de vanlig brukte antibiotika til behandling av Lyme borreliose inducerer cysteformer, særlig hvis antibiotikakonsentrasjonen er lav (27, 30, 31).

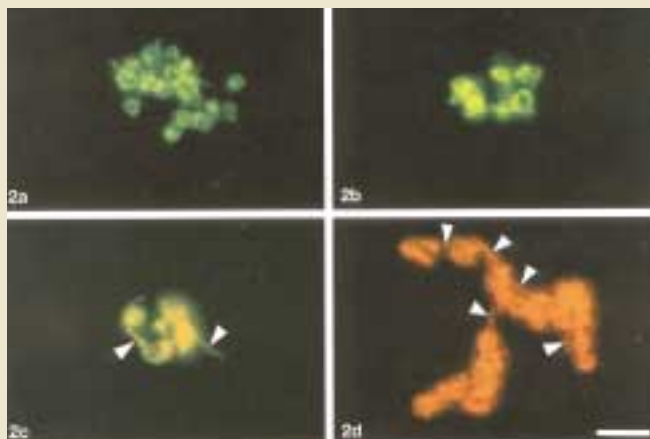
Borreliacyster er dessuten funnet i vev fra ethvert individ som er infisert med *Borrelia burgdorferi sensu lato* (6, 31-36).

I en studie av de cytomorfologiske variasjonene av *Borrelia burgdorferi* isolater fra pasienter med eller uten antibiotikabehandling, fant forskere ved Pettenkofer institutt i München at cysteformer (L-former) kunne bli induisert *in vivo* under påvirkning av penicillin (31).

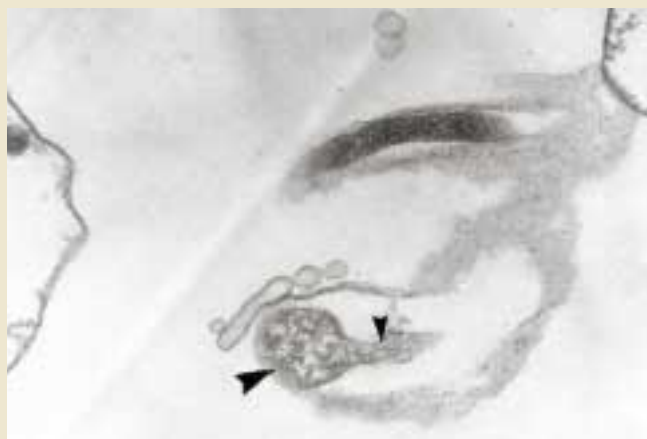
Det er også vist at *Borrelia garinii*-cyster produsert etter min metode kan være infeksiose for mus, og utvikle seg til mobile spiroketer *in vivo* (28). Cyster isolert fra spinalvæske hos MS-pasienter har også vist seg å kunne utvikles til spiroketer (35).

Borrelia burgdorferi har mange ulike mekanismer for å omgå immunapparatet og antibiotika, og det er ikke urimelig å anta at cysteformer av bakterien kan være en av årsakene til reaktivering etter avsluttet antibiotikabehandling. Hvis så er tilfelle, bør enhver form av bakterien bekjempes for å oppnå et godt behandlingsresultat.

Som følge av disse funnene har vi, ved Sykehuset i Vestfold, et pågående prosjekt hvor vi behandler borreliapasienter som ikke responderer på vanlig behandling med kombinasjonsterapi. Denne behandlingen går ut på å kombinere et nitroimidazol (Flagyl eller Fasigyn) eller Plaquenil med enten doxycyclin eller et makrolid (10-13). Ingen resultater er foreløpig publisert, og selv om resultatene er gode er det likevel noen som heller ikke responderer på denne behandlingen. Hos noen av de pasienter som ikke responderer, kan årsaken være immunologiske mekanismer (37). Det er særlig i USA at denne



Figur 5. Farging med Akridin orange pH 7.4 Resistensbestemmelse av cyster for metronidazole. Grønn = levende organisme, gulrød = død. UV mikroskopi. Forstørrelse 1200x. Foto: Øystein Brorson



Figur 6. *Borrelia burgdorferi* cyster. Mange små blebs som blir produsert i cystens kjerne. Transmisjonselektronmikroskopi. Foto: Sverre-Henning Brorson.

kombinasjonsbehandlingen har blitt utført i større omfang (38,39), men det er ennå ikke publisert sammenlignende undersøkelser med og uten kombinasjonsbehandling. The Infectious Diseases Society of America's (IDSA) anbefalinger for behandling inkluderer ikke våre teorier angående behandling (40). IDSA's retningslinjer baserer seg imidlertid på amerikanske studier hvor bare *Borrelia burgdorferi sensu stricto* forekommer. I Europa er situasjonen mer kompleks siden flere genospecies forekommer, og det er flere rapporterte tilfeller av tilbakefall av infeksjonen enn i USA.

Kombinasjonsbehandling for å bekjempe cysteformer er antakelig mest aktuelt dersom infeksjonen har vart lenge eller pasienten har fått tilbakefall etter behandling, men en bør vurdere om slik behandling også kan være av verdi ved primærinfeksjon, for å hindre tilbakefall av infeksjonen.

Cysteteorien er fortsatt kontroversiell blant borreliaforskere. Større studier, hvor ulike antibiotikaregimer benyttes ved ulike stadier av sykdommen, bør derfor utføres for å avklare om bekjempelse av cysteformer har klinisk nytte, eller om det i hovedsak er et *in vitro* fenomen.

Referanser

- Burgdorfer W. Analyse des infektionverlaufes bei *Ornithodoros moubata* (Murray) und der natürlichen Übertragung von *Spirochaeta duttoni*. Acta Tropica, 1951; 8: 193-262.
- Hindle E. On the life-cycle of *Spirochaeta gallinarum*. Parasitology 1911; 4: 463-477.
- Hampp EG. Further studies on the significance of spirochetal granules. Journal of Bacteriology, 1951; 62: 347-349.
- Delamater ED, Haanes M, Wiggall RH. Studies on the life cycle of spirochetes. V. the life cycle of the Nichols non-pathogenic Treponema in culture. American Journal of Syphilis, Gonorrhoea and Venereal Diseases, 1951; 35: 164-179.
- Burgdorfer W, Barbour AG, Hayes SF, Benach JL, Grunwaldt E, Davis JP. Lyme disease – a tick-borne spirochetosis? Science, 1982; 216: 1317-1319.
- Burgdorfer W. Arthropod-Borne Spirochetoses: A historical perspective. Eur J Clin Microbiol Infect, Dis 2001; 20: 1-5.
- Brorson Ø, Brorson S-H. Transformation of cystic forms of *Borrelia burgdorferi* to normal, mobile spirochetes. Infection, 1997; 25:240-6.
- Brorson Ø, Brorson S-H. In vitro conversion of *Borrelia burgdorferi* to cystic forms in spinal fluid, and transformation to mobile spirochetes by incubation in BSK-H medium. Infection, 1998; 26:44-50.
- Brorson Ø, Brorson S-H. A rapid method for generating cystic forms of *Borrelia burgdorferi*, and their reversal to mobile spirochetes. APMIS, 1998; 106: 1131-41.
- Brorson O, Brorson S-H. An in vitro study of the susceptibility of mobile and cystic form of *Borrelia burgdorferi* to metronidazole. APMIS, 1999; 107: 566-76.
- Brorson O, Brorson S-H. An in vitro study of the susceptibility of mobile and cystic forms of *Borrelia burgdorferi* to hydroxychloroquine. Int Microbiology, 2002; 5: 25-31.
- Brorson O, Brorson S-H. Susceptibility of mobile and cystic forms of *Borrelia burgdorferi* to ranitidine bismuth citrate. Int Microbiol, 2001; 4: 209-15.
- Brorson O, Brorson S-H. An in vitro study of the susceptibility of mobile and cystic forms of *Borrelia burgdorferi* to tinidazole. Int Microbiol, 2004; 7:139-42.
- Sung SY, McDovell JV, Caryl JA, Marconi RT. Mutation and recombination in the upstream homology box-flanked ospE-related genes of the Lyme disease spirochetes results in the development of new antigenic variants during infection. Infect Immun, 2000; 68:1319-1327.
- Fikring E, Tao H, Kantor FS, Barthold SW, Flavell RA. Evasion of protective immunity by *Borrelia burgdorferi* by truncation of outer surface protein B. Proc Natl Acad Sci USA, 1993; 90: 4092-4096.
- Xu Q, Seemanapalli SV, McShan K, Liang FT. Constitutive expression of outer surface protein C diminishes the ability of *Borrelia burgdorferi* to evade specific humoral immunity. Infect Immun, 2006; 74: 5177-84.
- Hellwage J, Meri T, Heikkillä T, Alitalo A, Panelius J, Lahdenne P, Seppälä IJT, Meri S. The complement regulator factor H binds to the surface protein ospE of *Borrelia burgdorferi*. J Biol Chem, 2001; 276: 8427-8435.
- Ebnet K, Brown KD, Siebenlist UK, Simon MM, Shaw S. *Borrelia burgdorferi* activates nuclear factor-κB and is a potent inducer of chemokine and adhesion molecule gene expression in endothelial cells and fibroblasts. J Immunol, 1997; 158: 3285-3292.

19. Ma Y, Seiler KP, Tai KF, Yang L, Woods M, Weis JJ. Outer surface lipoproteins of *Borrelia burgdorferi* stimulate nitric oxide production by the cytokine-inducible pathway. *Infect Immun*, 1994; 62: 3663-3671.
20. Habicht GS, Beck G, Benach JL, Coleman JL, Leightling KD. Lyme disease spirochetes induce human and murine interleukin-1 production. *J Immunol*, 1985; 134: 3147-3154.
21. Meyer AL, Trollmo C, Crawford F, Marrack P, Steere AC, Huber BT, Kappler J, Hafler DA. Direct enumeration of *Borrelia*-reactive CD4 T cells ex vivo by using MHC class II tetramers. *PNAS*, 2000; 97: 11433-11438.
22. Lunemann JD, Gelderblom H, Sospedra M, Quandt JA, Pinilla C, Marques A, Martin R. Cerebrospinal fluid-infiltrating CD4+ cells recognize *Borrelia burgdorferi* lysine-enriched protein domains and central nervous system autoantigens in early Lyme encephalitis. *Infect Immun*, 2007; 75: 243-51.
23. Beermann C, Wunderli-Allenspach H, Groscurth P, Filgueira L. Lipoproteins from *Borrelia burgdorferi* applied in liposomes and presented by dendritic cells induce CD8+ T-lymphocytes in vitro. *Cell Immunol*, 2000; 201: 124-131.
24. Al-Qudah AA, Mostratos A, Quesnel LB. A proposed life cycle for the Reiter treponeme. *J Appl Bacteriol*, 1983; 55: 417-428.
25. Margulis L, Ashen JB, Solé M, Guerrero R. Composite, large spirochetes from microbial mats: Spirochete structure review. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993; 90: 6966-6970.
26. Garon CF, Dorward DW, Corwin MD. Structural features of *Borrelia burgdorferi* -the Lyme disease spirochete: silver staining for nucleic acid. *Scanning Microsc Suppl*, 1989; 3: 109-115.
27. Alban PS, Johnson PW, Nelson DR. Serum-starvation-induced changes in protein synthesis and morphology of *Borrelia burgdorferi*. *Microbiology*, 2000; 146: 119-127.
28. Gruntar I, Malovrh T, Murgia R, Cinco M. Conversion of *Borrelia garinii* cystic forms to motile spirochetes in vivo. *APMIS*, 2001; 109:383-388.
29. Murgia R, Piazzetta, Cinco M. Cystic forms of *Borrelia burgdorferi sensu lato*: induction, development, and the role of RpoS. *Wien Klin Wochenschr*, 2002; 114:574-579.
30. Murgia R, Cinco M. Induction of cystic forms by different stress conditions in *Borrelia burgdorferi*. *APMIS*, 2004; 112:57-62.
31. Preac Mursic V, Wanner G, Reinhardt S, Wilske B, Busch U, Marget W. Formation and cultivation of *Borrelia burgdorferi* spheroplast L-form variants. *Infection*, 1996; 24: 218-225.
32. Hulinska D, Votypka J, Valesova M. Persistence of *Borrelia garinii* and *Borrelia afzelii* in patients with Lyme arthritis. *Zent bl Bakteriol*, 1999; 289:301-318.
33. Hulinska D, Jirous J, Valesova M, Herzogova J. Ultrastructure of *Borrelia burgdorferi* in tissues of patients with Lyme disease. *J Basic Microbiol*, 1989; 29:73-83.
34. Aberer E, Kersten A, Klade H, Poitschek C, Jurecka W. Heterogeneity of *Borrelia burgdorferi* in the skin. *Am J Dermatopathol*, 1996; 18:571-579.
35. Brorson O, Brorson SH, Henriksen TH, Skogen PR, Schoyen R. Association between multiple sclerosis and cystic structures in cerebrospinal fluid. *Infection*, 2001; 29:315-319.
36. MacDonald AB. Plaques of Alzheimer's disease originate from cysts of *Borrelia burgdorferi*, the Lyme disease spirochete. *Med Hypotheses*, 2006; 67:592-600.
37. Beermann C, Wunderli-Allenspach H, Groscurth P, Filgueira L. Lipoproteins from *Borrelia burgdorferi* applied in liposomes and presented by dendritic cells induce CD8+ T-lymphocytes in vitro. *Cell Immunol*, 2000; 201:124-131.
38. Cameron D et al. Evidence-based guidelines for the management of Lyme disease. *Expert Rev. Anti-infect. Ther*, 2004; 2:1-13.
39. Donta ST. Late and chronic Lyme disease. *Med Clin North Am*, 2002; 86:341-349.
40. Wormser GP, Dattwyler RJ, Shapiro ED, et al. The clinical assessment, treatment, and prevention of Lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*, 2006; 43:1089-1143.

Abstract

***Borrelia burgdorferi* cystic forms: A causal factor in reactivation and resistance**

In most of the medical community, *Lyme borreliosis* infections have been regarded to be effectively treated with penicillin, doxycyclin or ceftriaxone for 14 days, but treatment failures have been reported for every suitable antimicrobial agent. One of the reasons may be stress factors leading to conversion of the spiral forms into cystic forms. All traditional antibiotics used today to combat Lyme disease have shortcomings and cystic forms, leading to low biological activity and offering protection from antimicrobial agents, may be produced. Cystic forms have been shown both in vivo and in vitro to convert back to spiral forms, leading to reactivation of the disease. We conclude that cystic forms should be taken into consideration when treating *Lyme borreliosis*.

Fagartiklene i Bioingeniøren er fagfelleverdert

Bioingeniøren innførte høsten 2006 fagfellevurdering av fagartiklene. Det vil si at alle fagartikler som kommer på trykk under vignetten FAG er vurdert av referee som fyller følgende krav: Minimum mastergradskompetanse, har/har hatt selvstendig rolle i forskningsarbeid, relevant yrkeserfaring i forhold til

den aktuelle artikkelen, publisert i fagvitenskapelige tidsskrift.

Vi ønsker å knytte til oss flere referee. Skriv en epost til biored@nito.no hvis du fyller kravene eller kjenner andre som gjør det.