

[19] Lindgren E, Jaenson TGT. Lyme borreliosis in Europe: Influences of climate and climate change, epidemiology, ecology and adaptation measures. Report no.: EUR/04/5046250. Copenhagen: World Health Organization, 2006. 34 p. http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0006/96819/E89522.pdf?ua=1

[20] Medlock JM, Hansford KM, Bormane A, Derdakova M, Estrada-Pena A, George JC, et al. Driving forces for changes in geographical distribution of *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Parasit Vectors*. 2013;6:1.

[21] Gueorguiev Penev D, Laurent E, Baron S, Diot E, Bastides F, de Gialluly C, et al. Borréliose de Lyme : recensement des cas adultes hospitalisés en Indre-et-Loire, à partir du PMSI (1999-2006). *Rev Epidémiol Santé Publique*. 2010;58(5):339-47.

[22] Mygland A, Ljostad U, Fingerle V, Rupprecht T, Schmutzhard E, Steiner I. EFNS guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborreliosis. *Eur J Neurol*. 2010;17:8-16, e1-4.

[23] Fonteneau L, Le Meur N, Cohen-Akenine A, Pessel C, Brouard C, Delon F et al. The use of administrative health databases in infectious disease epidemiology and public health. *Rev Epidémiol Santé Publique*. 2017;65 Suppl 4:S174-S182.

Citer cet article

Septfons A, Couturier E, Goronflot T, Turbelin C, Blanchon T, De Valk H. Borréliose de Lyme : estimation de l'incidence hospitalière en France de 2005 à 2016. *Bull Epidémiol Hebd*. 2018;(19-20):389-95. http://invs.santepubliquefrance.fr/beh/2018/19-20/2018_19-20_2.html

ARTICLE // Article

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE LA BORRÉLIOSE DE LYME

// BIOLOGICAL DIAGNOSIS OF LYME BORRELIOSIS

Benoît Jaulhac¹ (jaulhac@unistra.fr), Emmanuelle Vaissière², Pierre Zachary¹, Sylvie De Martino¹

¹ Centre national de référence des Borrelia, CHU de Strasbourg, France

² Santé publique France, Cellule d'intervention en région (Cire) Auvergne-Rhône-Alpes, Clermont-Ferrand, France

³ EA7290 Virulence bactérienne précoce : groupe Borréliose de Lyme, Université de Strasbourg, France

⁴ Centre national de référence des Borrelia, Hôpitaux universitaires de Strasbourg, France

Soumis le 15.01.2018 // Date of submission: 01.15.2018

Résumé // Abstract

Le diagnostic de la borréliose de Lyme repose sur un faisceau d'arguments cliniques, épidémiologiques et biologiques. Sur le plan biologique, la sérologie est l'outil principal du diagnostic. Une combinaison séquentielle de deux techniques, ELISA puis Western blot, permet les meilleures performances, en termes de sensibilité et de spécificité, pour la détection d'anticorps spécifiques. Une bonne connaissance des principes et des limites de ces techniques, ainsi que de la cinétique de la réponse immunitaire aux différents stades de l'infection par *Borrelia burgdorferi* sensu lato, permet une interprétation correcte des résultats des analyses. Ainsi, au stade cutané précoce de l'infection (érythème migrant), une sérologie négative n'exclut pas le diagnostic. À l'inverse, surtout en cas de symptomatologie non spécifique, une sérologie positive n'indique pas nécessairement une infection évolutive, ni même, par suite de la persistance au long cours d'anticorps, la cause formelle de cette symptomatologie. D'autres tests aux performances médiocres ou insuffisamment évalués ont été proposés. Leur manque de spécificité n'est pas éthiquement acceptable en biologie médicale.

Lyme borreliosis diagnosis is based on epidemiology, clinical examination and biology. For this purpose, serology is the main diagnosis tool. A sequential combination of two techniques, ELISA then Western blot, allows the best performance for the detection of specific antibodies in terms of sensitivity and specificity. In order to correctly interpret the analytical results according to the limits of the tests, a good knowledge of the principle of these techniques, the reagents used and the kinetics of the immune response at the different stages of Borrelia burgdorferi sensu lato infection are necessary. Thus, at the early cutaneous stage of the infection (erythema migrans), a negative serology does not exclude the diagnosis. Conversely, especially in cases of non-specific symptomatology, a positive serology does not necessarily indicate an evolutionary infection, or even the cause of this symptomatology. Other tests with poor performance or insufficiently evaluated have been proposed. Their lack of specificity is not ethically acceptable in medical biology.

Mots-clés : Borréliose de Lyme, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, Diagnostic biologique, Sérologie

// **Keywords:** Lyme borreliosis, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, Biological diagnosis, Serology

Introduction

La maladie de Lyme est due à des bactéries du genre *Borrelia*. Il est donc préférable de parler de borréliose de Lyme. Les missions du Centre national de référence (CNR) des *Borrelia* sont de :

- développer et diffuser des méthodes pour le diagnostic biologique des différentes formes de borréliose ;
- développer des techniques de typage de *Borrelia* ;
- évaluer les tests sérologiques commercialisés ;
- apporter son expertise aux professionnels de santé pour la réalisation et l'interprétation des résultats de laboratoire, le CNR intervenant en cas de besoin comme laboratoire de recours ;
- participer à la surveillance entomologique du vecteur et caractériser l'écologie de *Borrelia* ;
- participer à la surveillance épidémiologique humaine ;
- contribuer à l'alerte auprès de Santé publique France de tout événement inhabituel.

Cet article présente les connaissances actuelles en matière de diagnostic biologique de la borréliose de Lyme et des tests qui le permettent.

Tests biologiques validés dans la borréliose de Lyme

Après une piqûre de tique infectante, 95% des sujets qui font une séroconversion ne présenteront

aucun signe clinique¹. Seules 5% des personnes développeront une infection clinique. Le diagnostic de la borréliose de Lyme ne repose donc pas uniquement sur des résultats de sérologie, mais bien sur un faisceau d'arguments cliniques, épidémiologiques et biologiques, dont l'utilité est d'étayer ou non la suspicion clinique de la maladie.

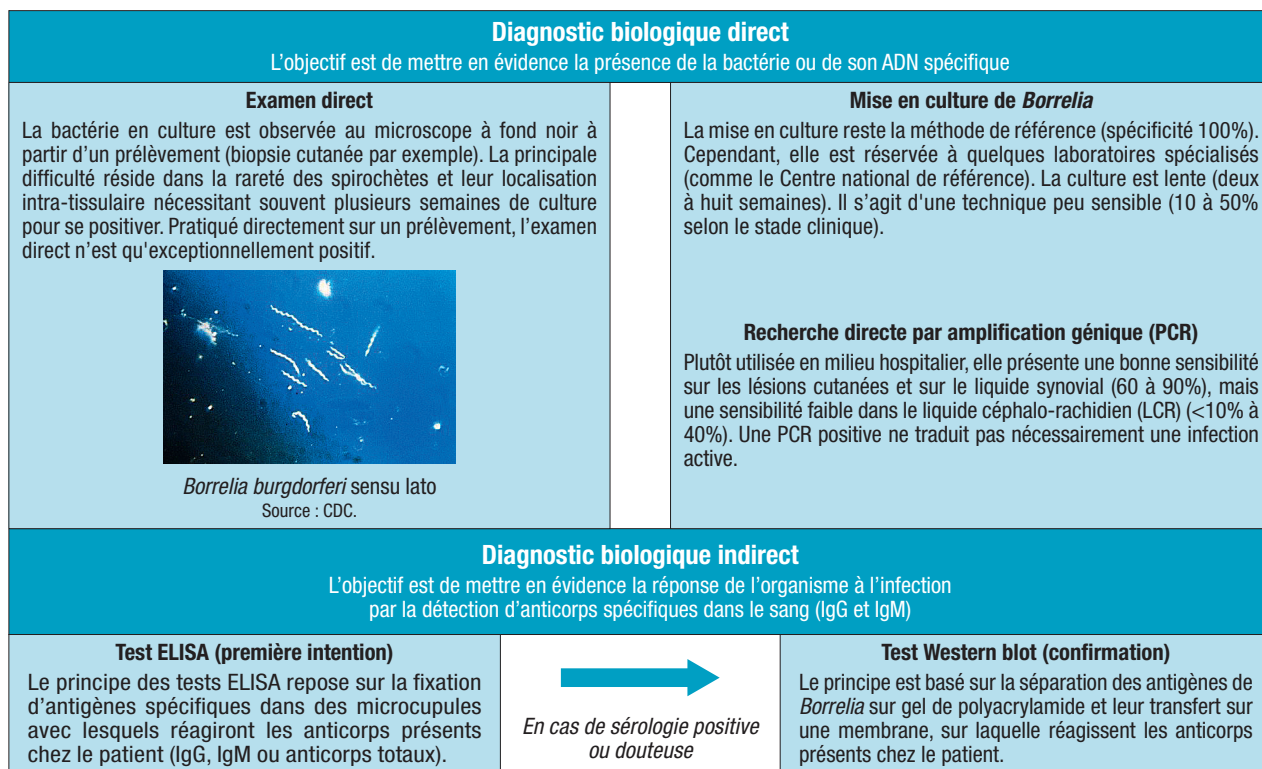
S'il existe des techniques de diagnostic biologique direct (examen direct au microscope, culture de la bactérie, amplification génique de l'ADN spécifique par PCR), la sérologie reste actuellement la technique la plus couramment utilisée en laboratoire (figure). Elle se déroule en deux temps : un test de première intention, le plus souvent par une technique ELISA suivie, si le résultat ELISA est positif ou douteux, d'une confirmation de la spécificité de ces anticorps par une seconde réaction appelée immuno-empreinte ou Western blot, selon les recommandations^{2,3}.

La première étape (technique ELISA) consiste à mettre en évidence des anticorps (IgM et/ou IgG) dirigés contre des antigènes de la bactérie. Lors de cette première étape, il est recherché une sensibilité maximale. Sa bonne sensibilité se faisant parfois au détriment de sa spécificité, ce premier test est susceptible de générer des résultats faussement positifs. Pour les exclure, un test de confirmation (immuno-empreinte ou Western blot) est effectué dans un second temps. Il identifie spécifiquement les anticorps dirigés contre les différents antigènes des différentes espèces de *Borrelia burgdorferi* sensu lato.

En optimisant la sensibilité, puis la spécificité, l'association de ces deux techniques sérologiques permet

Figure

Diagnostic biologique de la borréliose de Lyme



de se rapprocher de l'objectif recherché : être certain, face à un patient présentant des signes compatibles avec l'existence d'une infection disséminée, qu'il a été en contact avec les agents pathogènes, et que par suite le diagnostic de borréliose de Lyme peut être évoqué. Les performances minimales recommandées par l'*European Union Concerted Action on Lyme Borreliosis* (EUCALB) sont une spécificité de 90% en ELISA et de 95% pour le Western blot².

Manifestations cliniques de la borréliose de Lyme et diagnostic biologique

Le recours à des tests biologiques et leur choix doivent s'effectuer au regard des manifestations cliniques observées et du développement de l'immunité qu'elles auront pu générer (tableau).

Durant la phase primaire, localisée, de la maladie, caractérisée par l'érythème migrant, les IgM n'apparaissent que quatre à six semaines après la morsure de tique et seulement dans 50% des cas⁴. Le diagnostic repose alors à ce stade uniquement sur l'histoire et l'examen clinique du patient. L'observation d'un érythème migrant pathognomonique justifie la mise en route d'un traitement antibiotique sans autre investigation complémentaire. À ce stade, la sérologie ne doit pas être réalisée car elle peut être faussement négative. En cas de doute, si l'érythème migrant est atypique et dans un contexte épidémiologique adéquat, l'analyse directe de biopsie cutanée par culture et/ou PCR peut être indiquée après avis spécialisé.

Au cours de la phase disséminée précoce, dont les manifestations sont moins spécifiques, les anticorps sont présents dans 70 à 90% des cas. Ainsi, devant un résultat négatif, il est recommandé de refaire un dosage quatre à six semaines plus tard afin de rechercher une augmentation des anticorps.

Pour les formes neurologiques, la sérologie doit être réalisée en parallèle sur le liquide céphalo-rachidien (LCR) et un sérum prélevé le même jour. Cela permet, en cas de positivité des sérologies sang et LCR, la mise en évidence d'une synthèse intrathécale d'IgG spécifiques. En complément, si les manifestations neurologiques évoluent depuis moins de trois semaines et que la réponse humorale est encore absente, le LCR peut également être analysé par PCR. Il faut noter que la sensibilité globale de la PCR sur le LCR est faible (de moins de 10% à 40%) et n'est donc utile qu'au début des signes neurologiques⁴.

Au cours de la phase disséminée tardive, les manifestations cliniques peuvent également manquer de spécificité, mais les anticorps sont presque toujours présents. L'examen sérologique reste toujours à privilégier en première intention. Cependant, à ce stade, les techniques directes, culture et amplification génique par PCR, peuvent être réalisées sur prélèvements ciblés après avis spécialisé.

Interprétation et limites des tests sérologiques

Une sérologie négative ne permet pas, lors de la phase précoce de l'infection en présence d'un érythème migrant, d'écarter une borréliose de Lyme du fait du décalage entre le début de l'infection et l'apparition des anticorps.

Si de rares cas de formes disséminées tardives séronégatives ont pu être décrits en cas de déficit immunitaire avéré⁵, il est important d'insister sur le fait que ceci reste exceptionnel. À l'inverse, une étude thérapeutique, incluant des sujets suspects de borréliose chronique mais séronégatifs pour *B. burgdorferi* sensu lato, a révélé l'absence de bénéfice d'un traitement prolongé par antibiotiques par rapport à un placebo⁶.

Tableau

Sensibilité des tests sérologiques, type d'anticorps présents et examens complémentaires dans les trois phases de la borréliose de Lyme

Stade	Manifestations cliniques	Sensibilité	Indication de la sérologie	Classe d'anticorps	Examens complémentaires
Phase localisée primaire	Érythème migrant	± 50%	Non	IgM	PCR sur biopsie si forme atypique
Phase disséminée précoce	Atteintes neurologiques ou neuroborréliose aiguë ¹	70-90%	Oui ² dans le sang ET dans le LCR	IgM ou IgG selon la durée de la maladie Synthèse intrathécale spécifique	PCR dans le LCR (seulement si <3 semaines d'évolution)
	Atteintes articulaires ³	>95%	Oui dans le sang	IgG	PCR dans le liquide articulaire
Phase disséminée tardive	Acrodermatite chronique atrophiante	>95%	Oui	IgG	Biopsie cutanée : PCR et histologie
Autres atteintes neurologiques ⁴ ou articulaires ⁵ => examens biologiques identiques à la phase disséminée précoce					

¹ Méningoradiculites, paralysie faciale, syndrome méningé.

² En cas de résultat négatif, refaire un contrôle sérologique trois semaines plus tard.

³ Mono ou oligoarthritis, grosse articulation (genou).

⁴ Méningoradiculites chroniques, rarement encéphalites et myélites chroniques.

⁵ Mono ou oligoarthritis chroniques récidivantes.

LCR : liquide céphalo-rachidien.

Une sérologie positive ne signifie pas forcément que les symptômes soient en relation avec une maladie de Lyme ; elle traduit uniquement un contact avec *Borrelia*⁷ mais ne permet pas d'affirmer qu'il s'agit d'un processus infectieux évolutif. Il peut aussi s'agir d'une cicatrice sérologique d'une infection ancienne, souvent asymptomatique, traitée ou non. Ceci est particulièrement vrai pour les personnes fréquemment exposées aux tiques à titre professionnel (forestiers) ou lors des loisirs (randonneurs).

Un test ELISA positif avec des IgG positives et des IgM négatives est fréquemment rencontré au stade disséminé tardif des différentes manifestations neurologiques, articulaires ou cutanées de la borréliose de Lyme³. En cas d'acrodermatite chronique atrophique (ACA) le taux d'IgG est généralement très élevé. La présence d'IgG spécifiques peut aussi évoquer une maladie ancienne guérie (cicatrice sérologique).

La persistance des anticorps dans l'organisme peut durer plusieurs années, même après un traitement efficace⁸. Les anticorps spécifiques ne protègent pas forcément contre une nouvelle infection à *B. burgdorferi* sensu lato.

La réalisation systématique de sérologies chez des patients présentant des symptômes non spécifiques (et *a fortiori* chez des patients sans symptôme) n'est pas recommandée : elle ne fournit aucune information utilement interprétable quant à l'étiologie des symptômes⁷ (encadré). L'observation de signes cliniques compatibles avec une forme de borréliose de Lyme suite à l'exposition aux tiques doit guider le diagnostic.

Encadré

Les cas où la sérologie de Lyme n'est pas indiquée

- Érythème migrant
- Piqûre de tique sans signes cliniques
- Symptômes non spécifiques isolés : asthénie, arthralgies diffuses, myalgies
- Patients asymptomatiques
- Contrôle après traitement

Bien comprendre les limites des tests sérologiques aide à leur interprétation :

- les antigènes (protéines des *Borrelia*) entrant dans la composition des réactifs ELISA ou immunoblot peuvent être spécifiques et communs à plusieurs espèces de *Borrelia*, mais aussi à d'autres spirochètes comme *Treponema pallidum* (agent de la syphilis). Il existe aussi un risque de réactions croisées avec d'autres agents de pathologies infectieuses (EBV, HSV, CMV par exemple) ou des pathologies auto-immunes (facteur rhumatoïde, anticorps anti-nucléaires par exemple) ;
- l'insuffisance de standardisation des tests (choix des antigènes) a des conséquences sur les critères d'interprétation des immunoblots qui ne sont pas non plus standardisés et qui

ne peuvent donc pas être comparés entre fournisseurs de tests, ajoutant de la confusion pour les cliniciens destinataires des résultats.

Une étude a été conduite en 2014 par l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) et le CNR dans le cadre de l'évaluation externe de la qualité (EEQ), auprès de 525 laboratoires de biologie médicale hospitaliers et libéraux pratiquant le dépistage sérologique de la borréliose de Lyme⁹. Chaque laboratoire a reçu trois échantillons de sérums à tester, chacun correspondant à une situation clinique. Chacun de ces sérums à tester était positif vis-à-vis de deux coffrets ELISA différents et de deux immunoblots différents. Cette EEQ a montré des performances analytiques satisfaisantes aussi bien en IgG qu'en IgM pour la plupart des différents réactifs de dépistage par ELISA utilisés par les 525 participants. Elle a aussi montré les difficultés parfois rencontrées par les participants dans l'interprétation d'un test de confirmation de type immunoblot, en particulier pour les IgM. Elle a également mis en évidence une marge d'amélioration de l'information de certains biologistes médicaux sur l'interprétation d'un résultat ELISA positif ou négatif en fonction du stade clinique et des données épidémiologiques.

À côté des tests eux-mêmes, l'utilisation inadaptée d'outils biologiques classiques éprouvés peut également mener à des erreurs d'interprétation. Ainsi, la réalisation de l'immuno-empreinte en première intention ou chez des patients séronégatifs en ELISA, expose à la prise en compte de signaux faibles pouvant être faussement interprétés comme positifs et à une spécificité inférieure à celle de l'utilisation en deux temps des mêmes tests, test ELISA suivi, en cas de résultat positif ou douteux, par un test immunoblot.

Autres tests biologiques

Certains autres tests sont parfois proposés pour le diagnostic de la borréliose de Lyme, malgré des performances biocliniques insuffisamment évaluées. D'autres tests ne sont pas validés selon une méthodologie acceptable en biologie médicale. Ces diverses techniques comprennent notamment :

- la microscopie à fond noir sur prélèvement de sang total¹⁰. Il a été montré trois ans plus tard que cette méthode insuffisamment validée initialement présentait autant de « positifs » chez les témoins sains que chez les malades ; les images observées étaient des artefacts correspondant à des débris membranaires pouvant simuler la forme de spirochètes pour des lecteurs non expérimentés. Cette méthode n'a donc aucune spécificité¹¹ ;
- les tests de transformation lymphocytaire (LTT). Ils sont actuellement insuffisamment validés et les études empreintes de biais méthodologiques¹². Il existe peu d'étude cas-témoins solides à ce jour et elles montrent une spécificité médiocre sur les formes disséminées^{13,14} ;
- le dosage du marqueur CD57 des cellules NK a aussi été proposé. Les données disponibles

manquent aussi d'études cas-témoins et une étude des *National Institutes of Health* (États-Unis) a montré une absence de spécificité¹⁵ ;

- les tests de détection rapide (TDR) et d'auto-diagnostic^{9,16} semblent à ce jour avoir une spécificité et une sensibilité médiocres.

La positivité non spécifique de certains de ces tests est parfois mise en avant pour des patients présentant des troubles chroniques non spécifiques et séronégatifs en ELISA. Cela mène parfois vers des errances diagnostiques et thérapeutiques sans réel bénéfice et pouvant être dommageables pour la santé de ces patients^{17,18}.

Conclusions

Les résultats de la sérologie doivent toujours être interprétés en fonction du contexte clinique et épidémiologique. Ils ne doivent pas faire poser le diagnostic devant leur seule positivité. Devant un résultat positif ou douteux en ELISA, une sérologie de confirmation par une technique d'immuno-empreinte est recommandée. Il existe en effet de nombreuses réactions croisées avec d'autres micro-organismes, notamment en IgM.

Au stade d'infection initiale (érythème migrant), la sérologie n'est pas recommandée en Europe car la présence d'IgM est observée dans 50% des cas seulement.

Devant des symptômes neurologiques, une analyse conjointe du liquide cérébro-spinal et du sérum est recommandée (index de synthèse intrathécale).

En présence d'une sérologie de Lyme positive lors de manifestations articulaires ou cutanées tardives atypiques de borréliose de Lyme, une analyse complémentaire par PCR sur biopsie cutanée ou liquide synovial peut être utile au diagnostic pour différencier une arthrite de Lyme d'une autre étiologie articulaire associée à une séropositivité asymptomatique conjointe fortuite. ■

Références

[1] Fahrer H, Sauvain MJ, Zhioua E, Van Hoecke C, Gern LE. Long term survey (7 years) in a population at risk for Lyme borreliosis: What happens to the seropositive individuals? *Eur J Epidemiol.* 1998;14(2):117-23.

[2] Stanek G, Fingerle V, Hunfeld KP, Jaulhac B, Kaiser R, Krause A, *et al.* Lyme borreliosis: Clinical case definitions for diagnosis and management in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(1):69-79.

[3] Société de pathologie infectieuse de langue française (Spilf). Borréliose de Lyme : démarches diagnostiques, thérapeutiques et préventives (Texte long). 16^e Conférence de consensus en thérapeutique anti-infectieuse. Institut Pasteur, 13 décembre 2006. 60 p. http://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/2006-lyme-long_2_.pdf

[4] Haut Conseil de la santé publique. Borréliose de Lyme. État des connaissances (Avis et rapport). Paris: HCSP; 2014. <https://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=465>

[5] Gampourou F, Taithe F, Moisset X, Clavelou P. Seronegative Lyme neuroborreliosis in a patient treated by rituximab. *Rev Neurol (Paris).* 2016;172(2):166-7.

[6] Berende A, ter Hofstede HJ, Donders AR, van Middendorp H, Kessels RP, Adang EM, *et al.* Persistent Lyme empiric antibiotic study Europe (PLEASE) – design of a randomized controlled trial of prolonged antibiotic treatment in patients with persistent symptoms attributed to Lyme borreliosis. *BMC Infect Dis.* 2014;14:543.

[7] Markowicz M, Kivaranovic D, Stanek G. Testing patients with non-specific symptoms for antibodies against *Borrelia burgdorferi* sensu lato does not provide useful clinical information about their aetiology. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21(12):1098-103.

[8] Kalish RA, McHugh G, Granquist J, Shea B, Ruthazer R, *et al.* Persistence of immunoglobulin M or immunoglobulin G antibody responses to *Borrelia burgdorferi* 10-20 years after active Lyme disease. *Clin Infect Dis.* 2001;33(6):780-5.

[9] Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM). Contrôle du marché d'après les notices des réactifs de sérologie de la borréliose de Lyme (hors techniques de biologie moléculaire). Saint-Denis: ANSM; 2016. 31 p. <http://ansm.sante.fr/Activites/Surveillance-du-marche-des-dispositifs-medicaux-et-dispositifs-medicaux-de-diagnostic-in-vitro-DM-DMDIV/Dispositifs-medicaux-de-diagnostic-in-vitro-Operations-d-evaluations-et-de-contrôle-du-marche/Dispositifs-medicaux-de-diagnostic-in-vitro-Operations-d-evaluations-et-de-contrôle-du-marche/Reactifs-de-sérologie-de-la-borréliose-de-lyme>

[10] Laane MM, Mysterud I. A simple method for the detection of live *Borrelia spirochaetes* in human blood using classical microscopy techniques. *Biol Biomed Rep.* 2013;(3):15-28.

[11] Aase A, Hajdusek O, Øines Ø, Quarsten H, Wilhelmsson P, Herstad TK, *et al.* Validate or falsify: Lessons learned from a microscopy method claimed to be useful for detecting *Borrelia* and *Babesia* organisms in human blood. *Infect Dis (Lond).* 2016;48(6):411-9.

[12] Dessau RB, Fingerle V, Gray J, Hunfeld KP, Jaulhac B, Kahl O, *et al.* The lymphocyte transformation test for the diagnosis of Lyme borreliosis has currently not been shown to be clinically useful. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(10):O786-7.

[13] Nordberg M, Forsberg P, Nyman D, Skogman BH, Nyberg C, Eliasson I, *et al.* Can ELISPOT be applied to a clinical setting as a diagnostic utility for neuroborreliosis? *Cells.* 2012;1:153-67.

[14] van Gorkom T, Sankatsing SUC, Voet W, Ismail DM, Muilwijk RH, Salomons M, *et al.* An ELISpot assay, measuring *Borrelia burgdorferi* B31-specific interferon-gamma secreting T-cells, cannot discriminate active Lyme neuroborreliosis from past Lyme borreliosis: A prospective study in the Netherlands. *J Clin Microbiol.* 2018;56(4). pii: e01695-17.

[15] Marques A, Brown MR, Fleisher TA. Natural killer cell counts are not different between patients with post-Lyme disease syndrome and controls. *Clin Vaccine Immunol.* 2009;16:1249-50.

[16] Jaulhac B. Performances des méthodes biologiques dans le diagnostic et le suivi de la borréliose de Lyme. *Bull Acad Natle Méd.* 2016; 200(7).

[17] Halperin JJ. Chronic Lyme disease: Misconceptions and challenges for patient management. *Infect Drug Resist.* 2015; 8:119-28.

[18] Nelson C, Elmendorf S, Mead P. Neoplasms misdiagnosed as "chronic Lyme disease". *JAMA Intern Med.* 2015;175(1):132-3.

Pour en savoir plus : voir la plaquette « Borréliose de Lyme : diagnostic biologique » élaborée par la Direction générale de la santé en décembre 2015 : http://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/borreliose_de_lyme_biologistes_2015-3.pdf

Citer cet article

Jaulhac B, Vaissière E, Zachary P, De Martino S. Diagnostic biologique de la borréliose de Lyme. *Bull Epidémiol Hebd.* 2018;(19-20):395-9. http://invs.santepubliquefrance.fr/beh/2018/19-20/2018_19-20_3.html