

Six ans de surveillance virologique  
des méningites aseptiques à Téhéran

Khosrow Farrohi

Introduction

L'étiologie virale de la majorité des méningites et méningo-encéphalites aseptiques a été soutenue depuis longtemps, bien que les virus en cause eux-mêmes n'aient pas été isolés ni identifiés.

Grâce aux perfectionnements de la technique de culture cellulaire et son application universelle à la virologie animale, divers auteurs ont pu démontrer la grande responsabilité des agents viraux dans les méningo-encéphalopathies humaines (6-9-15-16-18). La fréquence des méningites virales et le pourcentage des agents reconnus comme responsables étant variable d'une population à l'autre, il nous a paru intéressant d'entreprendre une étude virologique des méningites aiguës aseptiques à liquide claire, en vue d'établir le pourcentage et la nature des virus associés à

---

Département de Microbiologie et d'Immunologie de la Faculté  
Université de Téhéran Iran

ces symptômes neurologiques dans la ville de Téhéran. Les résultats obtenus de cette investigation font l'objet de la présente note.

### Matériel et méthodes

#### 1- Prélèvements

Tous les liquides céphalo-rachidiens (L.C.R.) étudiés, proviennent pour la plus grande part, des centres hospitaliers de l'université de Téhéran. Ce sont essentiellement les services des contagieux de médecine infantile, qui nous ont demandé l'étude virologique de ces prélèvements. Mais en outre rentre dans cette étude, des liquides céphalo-rachidiens envoyés par le centre hospitalier de Reza Pahlavie.

Citons enfin qu'un nombre restreint du L.C.R., nous est parvenu également de différents centres hospitaliers attachés au ministère de la santé public . Le nombre total des prélèvements se monte à 218 dont 93 ont été bien aimablement collectés et nous remis par M. le docteur Jalalie , qui préparait sa thèse sur les méningites purulentes.

#### 2- Les cultures cellulaires

La mise en évidence du virus dans les liquides céphalo-rachidiens envoyés au laboratoire, s'est effectuée uniquement sure cultures cellulaires . Chaque système cellulaire s'avérant sensible à l'égard d'un nombre limité de virus, la plupart de ces agents, peuvent donc s'échapper à l'investigation si l'on utilise une seule culture cellulaire pour leur isolement, c'est pourquoi nous avons toujours inoculé chaque L.C.R. au moins dans trois différents systèmes cellulaires dont un de première explantation et deux ou trois autres de cultures cellulaires en lignées continues. L'investigation s'echellonnant sur une période prolongée ( 6 ans ) il ne nous fut pas possible d'utiliser constamment les mêmes

cultures cellulaires en lignées continues, mais en ce qui concerne la primoculture cellulaire nous avons toujours recouru au rein embryonnaire humain.

a - Les cultures cellulaires en lignées continues .

Il s'agit des cultures cellulaires Hela, KB , Am 57, Hep2 et Vero(4) dont la culture cellulaire Vero fut plus régulièrement utilisée avec l'une ou deux de quatre autres lignées précitées. Depuis 8 a 10 ans, ces cellules ont été maintenues dans notre laboratoire, dans un milieu à base d'hydrolysate de caséine (10), préparé par nous-même.

b- Les primocultures cellulaires de rein embryonnaire humain.

Elles sont obtenues par trypsination selon la méthode habituelle et cultivées dans un mélange à partie égale du milieu de Eagle et le milieu à base d'hydrolysate de caséine.

### 3- Technique d'isolement des virus

Nous avons inoculé le L.C.R. tel quel, ( sans addition d'antibiotiques) aux cultures cellulaires précitées, dans les délais les plus brefs, après son arrivée au laboratoire. Il est inoculé à raison de 0.1 a 0.4 ml. environ par tube et à deux tubes de chaque système cellulaire.

Les tubes ainsiensemencés sont étiquetés et placés à 36 C. Ces tubes dits de premier passage, sont examinés après 48 heures, puis régulièrement tous les deux jours. En cas d'apparition d'effet cytopathique on procède à un deuxième passage, sur la culture cellulaire permettant la multiplication du virus isolé, pour l'étude précise d'effet cytopathique en vue d'orienter le typage ultérieur de virus. Pour les prélèvements, qui n'ont révélé la présence d'un virus au cours de premier passage, un second passage aveugle a été pratiqué entre les 8ème et 12ème jour qui ont suivi leur ensemencement.

#### 4- Identification des virus isolés.

Pour ce faire on a tout d'abord procédé à un diagnostic d'approche, basé sur le type d'effet cytopathique, observé à l'état frais, et sur préparations colorées et les caractères culturels du virus.

La confirmation de l'identité soupçonnée de virus, est ensuite réalisée par une épreuve de séroneutralisation.

#### Résultats

Durant six ans (de septembre 1970 à juillet 1975 et de septembre 1976 à août 1977) nous avons virologiquement étudié un nombre total de 218 liquides céphalo-rachidiens, provenant d'enfants atteints d'une méningite dit aseptique. A partir de ces produits pathologiques, nous avons pu isoler 37 souches de virus soit un pourcentage global de 17%. Les virus isolés se répartissent de la façon suivante (tableau I)

Comme on peut le voir dans le tableau I, les enterovirus constituent la plus grande partie de nos résultats. Dans ce groupe nous trouvons 21 souches, auxquelles nous ajouterons 5 souches qui n'ont pu être définitivement identifiées, mais dont l'effet cytopathique tant à l'examen direct qu'après coloration est celui des enterovirus. Parmi les enterovirus on remarque d'emblée la forte proportion de virus Coxsackie du sérotype B3, indiquant la prédominance de ce sérotype dans notre communauté. Vient ensuite le virus des oreillons dont la plupart ont causé la méningite, avant ou sans apparition de parotidite. Bien que les cultures cellulaires utilisées dans cette étude, aient été sensibles à l'égard des virus herpétiques et ceux d'adénovirus, mais aucun d'eux n'a pu être isolés.

Tableau I

No.	Age du Patient	Sex du Patient	Systeme cellulaire permettant l'isolement de virus						Identite du virus
			REH*	Vero	Am57	KB	Hela	Hep-2	
1	8ans	M	+						ECHO 6
2	11 "	F		+	+				N.I.*
3	5 "	M	+						ECHO 6
4	? "	M			+	+			Polio 1
5	9 "	F		+	+				Oreillons
6	11 "	F		+					Oreillons
7	10 "	M		+					Oreillons
8	7 "	M	+		+				ECHO 9
9	12 "	M			+				N.I.
10	5 "	F	+						ECHO 9
11	5 "	M			+			+	Coxsackie B5
12	6 "	F		+					Oreillons
13	8 "	F		+	+				Oreillons
14	5 "	F		+					Oreillons
15	3 "	M	+		+				Polio 1
16	? "	F	+		+				Coxsackie B5
17	7 "	M		+	+				Oreillons
18	5 "	M	+		+				Coxsackie B3
19	11 "	M						+	Coxsackie B3
20	4 "	M			+			+	Coxsackie B3
21	6 "	F	+						Coxsackie B3
22	10 "	F	+					+	ECHO 4
23	4 "	M			+	+			Coxsackie B3
24	3 "	F		+				+	N.I.
25	6 "	F			+				N.I.
26	14 "	M	+						ECHO 6
27	5 "	F		+					Oreillons
28	6 "	F					+		Coxsackie B3
29	6 "	M	+				+		Oreillons
30	7 "	M			+				Coxsackie B4
31	3 "	F	+			+			Coxsackie B3
32	11 "	F			+				N.I.
33	5 "	M			+				ECHO 6
34	? "	M			+		+		Coxsackie B5
35	9 "	M		+		+			Oreillons
36	12 "	M	+						Coxsackie B3
37	8 "	F		+	+				Oreillons

\* REN : Rein embryonnaire humain

\* N.I. : Virus non identifie

Rappelons enfin que les primocultures de rein embryonnaire humain, ont permis le plus fort pourcentage d'isolement d'ECHOvirus, tandis que pour l'isolement de virus ourlien, la lignée cellulaire Vero s'est avérée le système cellulaire le plus sensible.

#### Commentaire

En 1925 Walgner a introduit le terme de méningite aseptique pour désigner une affection spécifique du système nerveux central, sans avoir l'idée précise sur les agents en cause. Mais il est bien établi actuellement que la plupart des méningites aseptiques et à peu près toutes les encéphalites sont causées par les virus, car presque tous les virus, avec une fréquence variable, peuvent atteindre les méninges, l'encéphal et la moelle, dans des circonstances étiologiques inconnues. Les virus polimyélitique (6-9-15), Coxsackie (3-6-7), ECHO (5-6-7-12-13-19), herpétique (8-9-11), ourlien (1-14-20), varicello-zonateux (2-6) et ceux de la chorio-méningite lymphocytaire, adénovirus (6-9), cytomegalovirus (17) ont été fréquemment démontrés dans le L.C.R. des sujets atteints d'une méningite aseptique.

La nature et le pourcentage de différentes virus associés aux méningites aseptiques n'étant pas connu en Iran, depuis six ans nous avons manifesté notre intérêt auprès de médecins <sup>de</sup> différents centres hospitaliers de recevoir le L.C.R., frottis de gorge et des selles d'enfants malades dont l'affection a été étiquetée comme méningite aseptique. La collaboration n'étant pas étroite, à l'exception de quelques cas, nous avons reçu seulement le L.C.R.

Bien que nous ayons eu soin d'effectuer l'analyse virologique de ces produits pathologiques sur trois ou quatre différents systèmes cellulaire et malgré de nombreux pas-

sages aveugles, un nombre élevé de nos L.C.R. n'ont pas permis d'isolement viral. Ceci pourrait s'expliquer comme suit:

Le L.C.R. destiné à l'étude virologique, doit être inoculé aux systèmes cellulaires aussitôt que possible, après son prélèvement, l'idéal serait de l'inoculer au lit même du malade, or la plupart de L.C.R. nous sont parvenus tardivement, dans des mauvaises conditions et parfois après avoir subi une étude biochimique, cytologique ou bien bactériologique. Ne perdons pas de vue que même pour les L.C.R.

Prélevés et ensemencés dans des bonnes conditions, un résultat négatif concernant l'isolement du virus, ne peut pas écarter l'étiologie viral d'une méningite aseptique, car il y aurait bien des virus s'échappant à l'investigation par nos moyens de travail ou bien les méthodes virologiques actuellement en vigueur.

#### Résumé

Un nombre total de 218 liquides céphalo-rachidiens provenant d'enfants atteints d'une méningite aseptique à Téhéran, a été étudié par une tentative d'isolement du virus. Tous les prélèvements ont été inoculés au moins dans trois différents systèmes cellulaires.

Cette investigation a abouti à l'isolement de 37 souches d'agents viraux qui se répartissent de la façon suivante:

2 souches de virus poliomyélitiques, 11 souches de virus du groupe coxsackie B, 8 souches de virus ECHO, 11 souches de virus des oreillons et enfin 5 souches de virus non identifiés.

#### Summary

A total number of 218 cerebrospinal fluids obtained

from children with aseptic meningitis in Tehran , were studied by attempts at virus isolation. All specimens were inoculated at least into three different cell systems. This investigation ended in isolation of 37 strains of viral agent, which are divided as following:

2 strains of poliovirus, 11 strains of coxsackie B virus, 8 strains of ECHOvirus, 11 strains of mumps virus and 5 strains of non identified viruses.

#### Bibliographie

- 1- AZIMI, P.H., CRAMBLETT, H.G. and HAYNES, R.E. (1969). Mumps meningoencephalitis in children. *J. Am. Med. Ass.*, 207, 509-512.
- 2- BURNEY, M.I. (1968). Aetiologic and clinical studies on 35 cases of viral meningitis in Rawlpendi. *Pakistan J. Med. Res.*, 7, 89-100.
- 3- FARMER, K., MacARTHUR, B.A. and CLAY, M.M. (1973). A follow-up study of 15 cases of neonatal meningoencephalitis due to coxsackie virus B5. *J. Pediatr.*, 87, 565-571.
- 4- FARROHI, KH. and MOHAMMADZADEH\_KIAI, F. (1975). Conservation prolongée des lignées cellulaires à 36 C. sans renouvellement du milieu d'entretien. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 68, 603-605.
- 5- GOULD, I., CLARKE, P.D., BALL, A.P., CAMPBELL, A.D., HADLEY, R.E. and GEDDES, A.M. (1977). An outbreak of meningitis caused by echovirus type 19. *Pratitioner*. 218, 371-375.
- 6- GRAY, J.A., MOFFAT, M.A.J. and SANGSTER, G. (1969). Viral meningitis, a 10-years study. *Scot. Med. j.*, 14, 234-242.
- 7- GROH, V., MASSON, AM., SPENCE, L. and BRODIE, H.R. (1971). Aseptic meningitis in Montreal, 1969: A

- clinical and laboratory study. *Can. Med. Ass. J.*, 104, 296-298.
- 8- HEVRON, JE, JR. (1977). Herpes simplex virus type 2 meningitis. *Obstet. Gynecol.*, 49, 622-624.
- 9- LENNETTE, E.H., MAGOFFIN, R.L., SCHMIDT, L.J. and HOLLISTER, A.C. (1959). Viral disease of the central nervous system, influence of poliomyelitis on etiology. *J. Am. Med. Ass.*, 128, 1456-1461.
- 10- LEPINE, P, DANIEL, P., SLIZEWICZ, P. et PACCAUD, M. (1956). Cultures cellulaires dans un milieu utilisant l'hydrolysate de caséine comme source d'acides aminés. *Ann. Inst. Pasteur*, 90, 654-656.
- 11- LINNEMANN, C.C., JR. FIRST, M.R., ALVIRA, M.M., ALEXANDER, J.W. and SCHIFF, G.M. (1976). Herpesvirus hominis type 2 meningoencephalitis following renal transplantation. *Am. J. Med.*, 61, 703-708.
- 12- MOZETIC, M. (1973). Aseptic meningitis caused by Echovirus type 30. *Acta Med. Yugosl.*, 27, 101-106.
- 13- MUKHOPADHYAY, D., KLARK, T., SPENCE, L. and MARKS, M.T. (1972). Aseptic meningitis due to Echovirus type 9. *Canad. J. Publ. Hlth.*, 63, 157-160.
- 14- RADL, H. (1969). The importance of mumps meningitis. *Di. Med. Wschr.*, 94, 1599-1603.
- 15- ROSENTHAL, M.S. (1974). Viral infections of the central nervous system. *Med. Clin. North. Am.*, 58, 593-603.
- 19- SCOLDENBERG, B. (1972). On the role of viruses in acute infectious diseases of the central nervous system, clinical and laboratory studies on hospitalized patients. *Scand. j. Infec. Dis.*, 3 suppl. 3, 1-96.
- 17- SUZUKI, N. (1973). Persistent albuminuria and menin-

- gitis caused by congenital cytomegalovirus infection .  
*Keio. J. Med.*, 22, 101-108.
- 18- TABER, L.H., MIRKOVIC, R.R, ADAM, V ., ELLIS ,  
S.S., YOW, M.D. and MELNICK, J.L. (1973). Rapid  
diagnosis of enteroviruses meningitis by immunofluo-  
rescent studing of CSF leukocytes.  
*Intervirology*, 1, 127-134.
- 19- WILFERT, C.M., LAUR, B.A., COHEN, M., COSTEN-  
BANDER, M.L. and MYERS, E. (1975). An epidemic  
of Echovirus 18 meningitis. *J. Infec. Dis.*, 131, 75-78.
- 20- WOLONTIS, S. and BJORVAT, B. ( 1974 ) . Mumps  
meningoencephalitis in Stocholm. *Scand. J. Dis.*,  
6, 13-21.