

Profil moléculaire et épidémiologique du virus de la bursite infectieuse aviaire circulant au Maroc entre 2013 et 2016

M. CHEGGAG¹, K. ZRO², M. MOUAHID³, M. EL HOUADFI⁴, G. SEBBAR², F. KICHOU⁴

(Reçu le 23/03/2021; Accepté le 27/03/2021)

Résumé

La maladie de Gumboro ou bursite infectieuse aviaire (IBD) est associée au virus de la bursite infectieuse (IBDV), qui cause des pertes économiques considérables. Ce virus appartient à la famille des Birnaviridae (Avibirnavirus). Cette infection continue à sévir au sein des élevages avicoles au Maroc particulièrement ceux de poulets de chair malgré les différents programmes de vaccination appliqués. Ainsi, l'objectif du présent travail est la caractérisation épidémiologique et pathotypique de l'IBDV au Maroc 102 élevages de poulets de chair suspects à travers tout le Maroc enquêtés entre les années 2013 et 2016. Ainsi que les bourses de Fabricius (BF) (pool de 5 BF par élevage) ont été prélevés à partir de poulets affectés pour des investigations moléculaires par RT-PCR en temps réel. La RT-PCR utilisée permettait aussi bien la détection que la discrimination entre les souches très virulentes de l'IBDV (vvIBDV) et les non-vvIBDV en utilisant des sondes de discrimination allélique. L'enquête épidémiologique révèle la suspicion de l'atteinte des élevages avicoles par l'IBDV vu les signes cliniques et nécropsiques très caractéristiques causés par l'IBDV (apathie, plumes ébouriffées, prostration, diarrhée blanchâtre aqueuse, et la triade nécrotique (hypertrophie et hémorragie de la Bourse de Fabricius ; congestion des reins et pétéchie au niveau des muscles)). La suspicion a été confirmée par les résultats de la RT-PCR dans toutes les régions du royaume avec une prévalence de l'atteinte par l'IBDV globale de 81% dont 60% pour les souches classiques (non-vvIBDV) et 40% pour les souches très virulentes (vvIBDV).

Mots clés: Bursite infectieuse, IBDV, RT-PCR, épidémiologie, Maroc

Molecular and Epidemiological Profile of the Infectious Avian Bursitis Virus Circulating in Morocco between 2013 and 2016

Abstract

Gumboro disease or infectious bursal disease (IBD) is associated with the infectious bursal disease virus (IBDV), which causes considerable economic losses. This virus belongs to the family Birnaviridae (Avibirnavirus). This infection continues to be prevalent in poultry farms in Morocco, particularly in broiler farms, despite the various vaccination programs applied. Thus, the objective of the present work is the epidemiological and pathotypic characterization of IBDV in Morocco. The study involved 102 suspect broiler farms throughout Morocco surveyed between 2013 and 2016. As well as Fabricius Bursa (FB) samples (pool of 5 BF per flock) were taken from affected chickens for molecular investigations by real-time RT-PCR. The RT-PCR used allowed both detection and discrimination between highly virulent IBDV (vvIBDV) and non-vvIBDV strains using allelic discrimination probes. The epidemiological investigation revealed the suspicion of IBDV in poultry farms due to the very characteristic clinical and necrotic signs caused by IBDV (apathy, ruffled feathers, prostration, watery whitish diarrhea, and the necrotic triad (hypertrophy and hemorrhage of the Fabricius bursa; kidney congestion and petechiae in the muscles)). The suspicion was confirmed by the results of RT-PCR in all regions of the kingdom with a prevalence of overall IBDV infection of 81% of which 60% for classical strains (non-vvIBDV) and 40% for highly virulent strains (vvIBDV).

Keywords: Infectious bursal disease, IBDV, RT-PCR, Epidemiology, Morocco

INTRODUCTION

La maladie de Gumboro, ou bursite infectieuse (IBD) est causée par un agent viral très contagieux nommé IBDV, appartenant à la famille des *Birnaviridae* genre *Avibirnavirus*. Ce virus touche spécialement la population aviaire, notamment, l'espèce *Gallus Gallus* ou Poulet (Müller *et al.*, 2012; Dobos *et al.*, 1979). L'IBDV provoque la destruction du principal organe lymphoïde chez le poulet, la bourse de Fabricius dans les premières semaines de vie du poulet. C'est virus non-enveloppé et possède une capsid de type icosaédrique (32 capsomères) (Berg, 2000; Brand *et al.*, 1976; Janković et Isaković, 1964; Becht et Müller, 1991). L'IBD est considérée comme une maladie endémique contagieuse, elle existe dans toutes les régions du monde où l'industrie avicole est intensive. En Europe, la maladie de Gumboro a été rapportée dans le milieu des années 60. Dans les années 80, des souches virulentes ont émergé provoquant des formes graves de la maladie en Belgique et aux Pays-Bas (Hoque *et al.*, 2001). Par la suite, l'infection par ces souches s'est propagée dans de nombreux pays, notam-

ment en Espagne (Majó *et al.*, 2002), en France (Etteradossi *et al.*, 1992) et en Allemagne (Zierenberg *et al.*, 2000). En Pologne et Hongrie, les hypothèses sur l'émergence de la souche virulente sont nombreuses. Parmi lesquelles figure l'hypothèse selon laquelle ces souches dériveraient des souches classiques. Une autre hypothèse a été avancée selon laquelle les souches virulentes co-existaient avec les souches classiques (Domanska *et al.*, 2004).

En Asie la maladie a été rapportée dans les années 60. Au Japon, elle a été décrite pour la première fois en 1967 (Tsukamoto *et al.*, 1995). En 1990, la maladie de Gumboro à vvIBDV a émergé dans l'ouest du Japon et depuis, elle s'est propagée dans tout le pays (Nakamura *et al.*, 1992). Elle a été également rapportée en Chine (Cao *et al.*, 1998), en Malaisie, au Bangladesh (Hoque *et al.*, 2001; Tan *et al.*, 2004) et en Indonésie (Rudd *et al.*, 2002). En Amérique Latine, l'IBD aiguë est apparue dans les années 90. Elle a été rapportée au Brésil (Ikuta *et al.*, 2001), au Mexique, en Colombie, en Bolivie et en Argentine (Jackwood et Sommer-Wagner 2007).

¹ Division de la pharmacie et des intrants vétérinaires, ONSSA, Rabat, Maroc

² Biopharma, Rabat, Maroc

³ Clinique vétérinaire, Témara, Maroc

⁴ Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Département de pathologie et santé publique vétérinaire, Rabat, Maroc

En Afrique, la maladie de Gumboro à vvIBDV est apparue à la fin des années 80. Elle a été rapportée au Nigéria, en Afrique du Sud (Zierenberg *et al.*, 2000; Owoade *et al.*, 2004), en Côte d'Ivoire (Etteradossi *et al.*, 1999), en Égypte (Hassan 2004) et en Tunisie (Mardassi *et al.*, 2004).

Au Maroc, la forme clinique d'IBD est diagnostiquée depuis 1978 (Boualam, 1978). Une étude de la forme sévère de la maladie de Gumboro, réalisée en 1992, a montré que la prévalence de cette forme était de 71% dans les élevages de poules pondeuses, de 87% dans les élevages de reproducteurs de type chair et de 83% dans les élevages de poulets de chair (Bouzoubaa *et al.*, 1992). Entre 1991 et 1993, l'IBD a été rapporté dans plusieurs régions du Maroc (Jaouzi, 1996). En 1999, les souches de l'IBDV existants au Maroc ont été isolées et caractérisées sur le plan pathogénique montrant que ces souches causent des mortalités élevées chez les jeunes poulets EOPS, associées à des lésions macroscopiques et microscopiques sévères au niveau de la bourse de Fabricius (Kichou *et al.*, 1999). En 2011, une caractérisation pathotypique et moléculaire d'une souche marocaine hypervirulente de l'IBDV, isolée à partir de poussins EOPS maintenus dans une zone conventionnelle non protégée de l'animalerie du Laboratoire National de Contrôle des Médicaments Vétérinaires Rabat (LNCMV), a été réalisée (Tahiri *et al.*, 2011). De plus, une analyse phylogénétique récente réalisée sur les séquences hvVP2 de 13 souches de vvIBDV isolées au Maroc durant la période du 2016-2017, a démontré qu'ils appartenaient à la lignée très virulente (Drissi Touzani *et al.*, 2019). Le génome de l'IBDV (ARN) comporte 2 segments ; le segment A de 3300 pb et le segment B de 2900 pb (Kibenge *et al.*, 1988a). Au niveau du segment A, existe 2 cadres de lecture ouvertes ou ORFs (Open Reading Frames) (Rudd *et al.*, 2002). Le premier ORF code pour la protéine virale VP5 de 21 kDa. Cette protéine joue un rôle essentiel dans la pathogénicité du virus (Mundt *et al.*, 1995, 1997; Yao *et al.*, 1998). L'autre ORF code pour la Polyprotéine (PP) de 110 kDa. Cette protéine est par la suite clivée par autocatalyse de la protéase VP4 en VP2, VP3 et VP4. (Dobos *et al.*, 1979; Müller et Becht, 1982). Les protéines VP2 et VP3 forment les protéines structurales de la capsid de l'IBDV. Par ailleurs, la VP2 contient à l'intérieur de son génome, la région Hypervariable (HVR-VP2), largement utilisée dans les investigations moléculaires épidémiologiques à travers le monde et responsable de l'induction de la production des Anticorps neutralisants le virus IBDV. (Hudson *et al.*, 1986; Kibenge *et al.*, 1988b, 1996).

L'IBDV est classé, selon les antigènes de surface, en deux sérotypes, chacun ayant ses propres caractéristiques (McFerran *et al.*, 1980). Le sérotype 1 est pathogène pour la volaille. Tandis que le sérotype 2 reste non pathogène pour cette espèce. Plusieurs souches du virus IBDV (comportant des antigènes différents) sont regroupées sous le sérotype 1 et distinguées selon leur virulence (i.e., mortalité, lésions de la bourse de Fabricius).

La variabilité des souches du virus IBDV (IBDV), antigéniques et pathotypique, rend la lutte contre l'IBD très difficile. À ce jour, aucun traitement n'existe, seule la vaccination représente le rempart pour protéger les populations aviaires.

Malgré les programmes de contrôles sanitaires et médicaux appliqués, la bursite infectieuse, maladie identifiée depuis

longtemps en production de volailles au Maroc continue à sévir régulièrement dans les élevages avicoles (Tahiri *et al.*, 2011).

C'est dans cette optique que s'insère notre étude, qui se focalise sur l'étude du profil épidémiologique de l'IBDV par la réalisation de plusieurs enquêtes orientées dans différentes régions du royaume durant 2013 à 2016 ainsi que la répartition géographique des souches IBDV retrouvées étudiées à l'échelle nationale.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Échantillonnage

En collaboration avec les vétérinaires sanitaires encadrant les élevages avicoles de poulet de chair répartis dans différentes régions du Royaume, un échantillonnage orienté de 102 élevages suspects d'IBD, a été adopté dans la présente étude.

Les visites et enquêtes ont été effectués dans des élevages de poulets de chair présentant les signes cliniques évocateurs de l'IBD durant la période allant de 2013 jusqu'à 2016. Chaque élevage analysé est nommé «cas-élevage», l'analyse des données des fichiers de commémoratifs aviaires nous a permis de relever les informations sanitaires suivantes:

- Les élevages objets des prélèvements ont été tous vaccinés;
- Les cas-élevages suspects d'IBD enquêtés provenaient de régions suivantes: Rabat-Sale-Kénitra (40% des cas-élevages (41/102)), Souss-Massa (22% des cas (22/102)), Fès-Meknès (16% des cas (16/102)), Casablanca-Settat (16% des cas (16/102)), Oriental (6 % (6/102)) et Draa-Tafilalet (avec un pourcentage de 1% (1/102));
- L'âge des poulets atteints variait de 12 à 42 jours;
- La mortalité journalière variait entre 0 à 12% au sein des élevages;
- L'historique clinique (symptômes et lésions, taux de mortalité).

Les données recueillies ont été ensuite traitées par le logiciel Microsoft Excel pour la représentation graphique des résultats.

Examen clinique et nécropsique

Après un examen clinique des poulets dans les fermes, 5 poulets par élevage suspect, ont été autopsiés afin de rechercher la présence de lésions macroscopiques caractéristiques de l'IBDV, en parallèle un diagnostic différentiel de la maladie a été établi pour écarter toutes pathologies aviaires similaires. Des prélèvements de Bourse de Fabricius (FB) ont été collectés et conservés à -80°C pour des analyses ultérieures vu que la BF est la plus couramment utilisée pour l'isolement de l'IBDV (Lukert et Saif, 1997).

Traitement des échantillons

Les BF (pool de 5 BF par élevage) prélevées ont été broyées et homogénéisées à l'aide d'un broyeur automatique dans des tubes stérile et exempt de DNAase et RNAase (Bertin Technologies, France). Le broyage est facilité par l'adjonction du tampon phosphate salin (PBS). Le broyat de BF est centrifugé à 11000 rpm/ 5 min, ensuite le surnageant est récupéré, aliquoté dans des tubes stériles et stocké à -80°C jusqu'au traitement postérieur.

Extraction d’ARN

L’extraction de l’acide ribonucléique (ARN) viral de l’IBDV a été réalisée par le biais du Kit d’extraction de virus à ARN nucléospin (Macherey-Nagel, Allemagne). L’ARN viral est extrait directement à partir du surnageant de BF en suivant le protocole décrit par le fabricant.

Souches de référence

La souche IBDV de challenge de BIOPHARMA et la souche vaccinale atténuée D78 (Nobilis Gumboro D78, MSD Animal Health, Pays-Bas) ont été utilisées comme témoins positifs d’extraction et d’amplification.

Amplification par RT-PCR en temps réel

L’amplification a été effectuée en une seule étape à l’aide du kit SensiFast™ Probe No-ROX One-Step (Bioline, United Kingdom) suivant les consignes du fournisseur. Le volume réactionnel final comporte 16 µL du Mix réactionnel et 4 µL de l’ARN viral extrait.

Les amorces et les sondes utilisées sont celles décrites par (Tomás *et al.*, 2012), elles ciblent la région de chevauchement entre le gène VP5 et le gène VP2 du segment A de l’IBDV. (Tableau 1).

Tableau 1: Séquences nucléotidiques des amorces et sondes universelle utilisées dans la RT-PCR en temps réel pour l’amplification de l’IBDV (Tomás *et al.*, 2012)

Nom	Séquence (5’- 3’)	La position dans la séquence du segment A
F178	GAGCCTTCTGATGCCAACAAAC	178–198
R272	TCAAATTGTAGGTCGAGGCTCTGA	272–248
P _V	FAM-ACACCCTAGAGAAGC-MGB	222–236
P _N	VIC-ACACCCTGGAGAAGC-MGB	222–236

L’amplification a été réalisée dans le thermocycleur Smart Cycler Cepheid (Cepheid, Inc., Sunnyvale, CA). Le programme de température adopté pour amplifier le virus IBDV comporte une rétrotranscription qui commence par une phase de dénaturation à 95°C pendant 3 min, suivi par un seul cycle de transcription inverse à 48°C pendant 10 min. Par la suite 40 cycles se sont effectués pour amplifier le virus IBDV. Pour chaque cycle de PCR, les paramètres suivants sont à respecter: Une dénaturation initiale à 95°C durant 10 min suivi par 40 cycles (95°C, 10 s; 63°C, 10 s et 72°C, 10s) et un cycle final à 40°C durant 30s (Cheggag *et al.*, 2018).

Tableau 2: Répartition des souches de l’IBDV dans les différentes régions du Maroc selon leur virulence (vv et non-vvIBDV)

Résultats RT-PCR	Régions du Maroc					
	Rabat-Sale-Kénitra	Souss-Massa	Fès-Meknès	Casablanca-Settat	Oriental	Draa Tafilalet
Virus classique/Variant	17	20	6	6	0	1
Virus très virulent	18	1	4	8	3	0
Négatif	6	1	6	2	3	0

RÉSULTATS

Diagnostic clinique et nécropsique

L’examen clinique et nécropsique des cas- élevages a révélé la présence des signes cliniques et lésionnels liés à l’IBDV:

- L’atteinte de l’état général (apathie, plumes ébouriffées, prostration, tremblements);
- Symptômes digestifs (diarrhée blanchâtre aqueuse);
- Une soif intense liée à une déshydratation;
- Des hémorragies à la jonction proventricule-gésier;
- Présence d’un exsudat caséux dans la lumière de la BF et couvrant les feuillets de la bourse;
- La triade nécrosique: hypertrophie et hémorragie de la Bourse de Fabricius; congestion des reins et des pétéchies des hémorragies intramusculaires (bréchet, muscle de la cuisse).

RT-PCR en temps réel

La prévalence globale de l’IBDV parmi les 102 élevages a été estimée à 81%, puisque 84 élevages se sont montrés positifs à l’IBDV par RT-PCR en temps réel. La prévalence des élevages atteint des souches vvIBDV est de 61% et celle des souches non-vvIBDV (classiques et variantes) est de l’ordre de 39%. Le tableau 2 présente les résultats des élevages IBDV-positifs répartis dans les différentes régions du royaume et selon la virulence des souches IBDV (vv et non-vvIBDV).

La prévalence relative des élevages IBDV positifs, objets de cette étude, était de 100% dans la région de Draa Tafilalet (le seul élevage testé a été révélé positif), suivi par la région de Souss-Massa 95% (21 positifs /22 élevages testés), 88% dans la région Casablanca-Settat (14/16 élevages), 85% dans la région Rabat-Sale-Kénitra (35/41 élevages), 63% dans la région Fès-Meknès (10/16 élevages) et 50% dans la région Oriental (3/6 élevages).

Les souches nn-vvIBDV et les vvIBDV ont été identifiés dans toutes les catégories d’âge des poulets avec une prévalence légèrement plus élevée pour la fourchette d’âge située entre la 3^{ème} et la 5^{ème} semaine d’âge. La prévalence des souches nn-vvIBDV et les vvIBDV selon la fourchette d’âge est:

- Pour les nn-vvIBDV: 16 % des élevages avaient un âge compris entre 15 et 21 jours, 18 % entre 22 et 25 jours, 20 % entre 26 et 35 jours, et seulement 4 % entre 36 et 42 jours;
- Pour le virus vvIBDV, 21 % avaient un âge compris entre 15 et 21 jours, 26 % entre 22 et 28 jours, 15 % entre 29 et 35 jours et seulement 6 % entre 36 et 42 jours.

DISCUSSION

La bursite infectieuse aviaire est une maladie infectieuse et contagieuse. Les pertes économiques infligées à l'industrie de la filière avicole, sont souvent imputables aux échecs de la vaccination (Tahiri *et al.*, 2011). Le présent travail a été entrepris dans le but de définir un profil épidémiologique de l'IBDV par la réalisation des enquêtes orientées sur une période d'étude entre 2013-2016 et au niveau de différentes régions du Maroc. Dans notre étude, le tableau clinique de la maladie a été marqué par la présence des signes cliniques révélant l'atteinte par l'IBDV (Eterradossi et Saif 2008; Ramahefarisoa, 2011), tel que la prostration, des tremblements, des abattements et une mortalité journalière qui varie entre 0 à 12% (0-7% pour les non-vvIBDV et 0-12% pour les vvIBDV). En effet le tableau clinique et lésionnel révélé durant cette étude est très similaire à celui de l'IBD décrit par plusieurs auteurs (Berg, 2000; Eterradossi et Saif, 2008; Ramahefarisoa, 2011; Gimeno, 2013; Faragher, 1972; Ley *et al.*, 1983).

La prévalence globale de l'infection à IBDV a été estimée à 81% par RT-PCR en temps réel. Cette donnée épidémiologique constitue un indice convergeant vers la circulation importante du virus de la bursite infectieuse aviaire dans les élevages avicoles dans les régions marocaines étudiées. Les taux de mortalité journalière étaient plus élevés pour les souches vvIBDV comparativement aux souches non-vvIBDV ce qui concorde avec les observations de (Vindevoegel, 1992).

L'IBDV touche toutes les catégories d'âge de poulet avec une prévalence légèrement plus élevée entre la 3^{ème} et la 5^{ème} semaine d'âge. Cette catégorie d'âge semble avoir les mêmes tendances d'apparition rapporté par différents auteurs (Gordon, 1979; Berg, 2000; Ezeibe *et al.*, 2013). L'infection des élevages de poulet vacciné contre l'IBDV suppose la circulation sur le terrain de souches différentes de celles utilisées dans les vaccins au Maroc.

La prévalence obtenue au Maroc demeure importante, un pourcentage comparable a été rapporté par Bouzoubaa et al. (1992) dans les élevages de poulets de chair. Cette forte prévalence au Maroc peut être expliquée du fait que la présente étude a été effectuée sur un échantillonnage ciblé à partir des élevages suspects sur la base de la présence des symptômes et lésions caractéristiques de l'IBDV. Au Maroc, nombreux facteurs compliquent la dissémination de ce virus, tels que, les problèmes de biosécurité et de gestion. On retrouve toujours dans un même élevage des bandes de poulets d'âges différents, le manque ou absence de programme de vaccination appropriée. Les résultats de cette forte prévalence obtenue peuvent être également expliqués par l'échec de la vaccination dans ces élevages qui serait lié à la technique de vaccination, à la dose vaccinale, ou à l'absence de protection croisée entre la souche vaccinale et les souches circulantes sur le terrain comme ça été avancée dans d'autres situations (Drissi Touzani *et al.*, 2019).

CONCLUSION

À l'issue de ces résultats épidémiologiques et moléculaires, il ressort que l'IBDV sous sa forme vvIBDV a bien circulé dans les élevages avicoles durant la période 2013-2016 malgré leur vaccination et avec une prévalence élevée (40% vvIBDV). Ainsi, la vaccination anti-IBDV, élément

clé de toute stratégie de lutte doit inclure des souches/isolats locaux. Aussi, ces études moléculaires devraient être couplées à l'isolement des souches de l'IBDV circulants et à leur caractérisation afin de suivre les dérives et fournir des informations nécessaires à la sélection des souches vaccinales locales.

RÉFÉRENCES

- Becht H. et Müller H. (1991). Infectious bursal disease--B cell dependent immunodeficiency syndrome in chickens. *Behring Institute Mitteilungen*, 89: 217-25.
- Berg T.P.V.D. (2000). Acute infectious bursal disease in poultry: A review. *Avian Pathology*, 29: 175-194.
- Boualam M. (1978). La Maladie de Gumboro Au Maroc. Etude Epidémiologique Dans La Région de Rabat-Salé-Témara et Dans Les Couvoirs Nationaux. Thèse Doct. Vét, IAV Hassan II. Maroc.
- Bouzoubaa K., Jaouzi T., Amara A., EL Houadfi M., Kichou F., Mouahid M. et Bell J.G. (1992). Severe outbreaks of infectious bursal disease in Morocco. Proc. of the 41st Western Poultry Disease Conference, Sacramento. Brand A., Gilmour D. et Goldstein, G. (1976). Lymphocyte-differentiating hormone of bursa of fabricius. *Science*, 193: 319-321.
- Bustin S. (2000). Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *Journal of Molecular Endocrinology*, 25: 169-193.
- Cao Y.C., Yeung W.S., Law M., Bi Y.Z., Leung F.C. et Lim B.L. (1998). Molecular Characterization of Seven Chinese Isolates of Infectious Bursal Disease Virus: Classical, Very Virulent, and Variant Strains. *Avian Diseases*, 42: 340.
- Dobos P., Hill B.J., Hallett R., Kells D.T., Becht H. et Teninges D. (1979). Biophysical and biochemical characterization of five animal viruses with bisegmented double-stranded RNA genomes. *Journal of Virology*, 32: 593-605.
- Domanska K., Mato T., Rivallan G., Smietanka K., Minta Z., De Boisseson C., Toquin D., Lomniczi B., Palya V. et Eterradossi N. (2004). Antigenic and genetic diversity of early European isolates of Infectious bursal disease virus prior to the emergence of the very virulent viruses: early European epidemiology of Infectious bursal disease virus revisited? *Archives of Virology*, 149: 465-480.
- Drissi Touzani C., Fellahi S., Gaboun F., Fassi Fihri O., Baschieri S., Mentag R. et El Houadfi M. (2019). Molecular characterization and phylogenetic analysis of very virulent infectious bursal disease virus circulating in Morocco during 2016-2017. *Archives of Virology*, 164: 381-390.
- Eterradossi N., Arnauld C., Tekaija F., Toquin D., Le Coq H., Rivallan G., Guittet M., Domenech J., van den Berg T.P. et Skinner M.A. (1999). Antigenic and genetic relationships between European very virulent infectious bursal disease viruses and an early West African isolate. *Avian Pathology*, 28: 36-46.
- Eterradossi N., Picault J.P., Drouin P., Guittet M., L'Hospitalier R. et Bennejean G. (1992). Pathogenicity and Preliminary Antigenic Characterization of Six Infectious Bursal Disease Virus Strains Isolated in France from Acute Outbreaks. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 39: 683-691.
- Eterradossi N. et Saif Y. (2008). Infectious Bursal Disease. In: Saif YM, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Nolan LK, Swayne DE. Diseases of poultry. 12th ed. Ames: Iowa State University Press. p. 185-208.
- Ezeibe M.C.O., Okoye J.O.A., Ogunniran T.M., Animoke P.C., Mbuko I.J., Nwankwo I.A. et Ngene A.A. (2013). Mortality rates from a Nigerian isolate of the Infectious Bursa Disease Virus and passive haemagglutination antibody titer that protects chicks against challenge with the virus isolate. *Health*, 05: 1355-1359.
- Faragher J.T. (1972). Infectious bursal disease of chicken. *Vet. Bull*, 42, 361-369.
- Gibson U.E., Heid C.A. et Williams P.M. (1996). A novel method for real time quantitative RT-PCR. *Genome Research*, 6: 995-1001.

- Gimeno I.M. (2013). Les maladies immunosuppressives des volailles. L'immunosuppression induite par les virus: la Bursite Infectieuse, chapitre 3: 65-88.
- Gordon R.F. (1979). Pathologie de volaille. Maloine S. a : 94-97.
- Hassan M.K. (2004). Very Virulent Infectious Bursal Disease Virus in Egypt: Epidemiology, Isolation and Immunogenicity of Classic Vaccine. *Veterinary Research Communications*, 28: 347–356.
- Hoque M.M., Omar A.R., Chong L.K., Hair-Bejo M. et Aini I. (2001). Pathogenicity of *Ssp* I-positive infectious bursal disease virus and molecular characterization of the VP2 hypervariable region. *Avian Pathology*, 30: 369–380.
- Hudson P.J., McKern N.M., Power B.E. et Azad A.A. (1986). Genomic structure of the large RNA segment of infectious bursal disease virus. *Nucleic Acids Research*, 14: 5001–5012.
- Ikuta N., El-Attrache J., Villegas P., García E.M., Lunge V.R., Fonseca A.S., Oliveira C. et Marques E.K. (2001). Molecular characterization of Brazilian infectious bursal disease viruses. *Avian Diseases*, 45: 297–306.
- Jackwood D.J. et Sommer-Wagner S. (2007). Genetic characteristics of infectious bursal disease viruses from four continents. *Virology*, 365: 369–375.
- Janković B.D. et Isaković K. (1964). Role of the Thymus and the Bursa of Fabricius in Immune Reactions in Chickens I. *International Archives of Allergy and Immunology*, 24: 278–295.
- Jaouzi T. (1996). Quelques données épidémiologiques sur la forme sévère de la maladie de Gumboro au Maroc, Janvier 1991-Avril 1993.
- Kibenge F.S., Dhillon A.S. et Russell R.G. (1988a). Growth of serotypes I and II and variant strains of infectious bursal disease virus in Vero cells. *Avian Diseases*, 32:298–303.
- Kibenge F.S.B., Dhillon A.S. et Russell R.G. (1988b). Biochemistry and Immunology of Infectious Bursal Disease Virus. *Journal of General Virology*, 69: 1757–1775.
- Kibenge F.S.B., Nagarajan M.M. et Qian B. (1996). Determination of the 5' and 3' terminal noncoding sequences of the bisegmented genome of the avibirnavirus infectious bursal disease virus. *Archives of Virology*, 141: 1133–1141.
- Kichou F., El Youssoufi G., Bikour H., Jaouzi T. et Benazou H. (1999). Isolation, identification and pathogenicity of Moroccan field isolation of infectious bursal disease virus.
- Ley D.H., Yamamoto R. et Bickford A.A. (1983). The Pathogenesis of Infectious Bursal Disease: Serologic, Histopathologic, and Clinical Chemical Observations. *Avian Diseases*, 27: 1060.
- Lukert P.D. et Saif Y.N. (1997). Infectious bursal disease in poultry.
- Majó N., El-Attrache J., Banda A., Villegas P., Ramis A., Pagès A. et Ikuta N. (2002). Molecular Characterization of Spanish Infectious Bursal Disease Virus Field Isolates. *Avian Diseases*, 46: 859–868.
- Mardassi H., Khabouchi N., Ghram A., Namouchi A. et Karboul A. (2004). A Very Virulent Genotype of Infectious Bursal Disease Virus Predominantly Associated with Recurrent Infectious Bursal Disease Outbreaks in Tunisian Vaccinated Flocks. *Avian Diseases*, 48: 829–840.
- Cheggag M., Zro K., Sebbar G., Rahmatallah N., Mouahid M., EL Houadfi M., et Kichou F. (2018). Diagnosis of Clinical Cases of Infectious Bursal Disease Using a Modified Rapid Taq Man-MGB Real-Time RT-PCR Assay. *Journal of Agricultural Science and Technology A*, 8: 230-238.
- McFerran J.B., McNulty M.S., McKillop E.R., Connor T.J., McCracken R.M., Collins D.S. et Allan G.M. (1980). Isolation and serological studies with infectious bursal disease viruses from fowl, turkeys and ducks: Demonstration of a second serotype. *Avian Pathology*, 9: 395–404.
- Müller H. et Becht H. (1982). Biosynthesis of virus-specific proteins in cells infected with infectious bursal disease virus and their significance as structural elements for infectious virus and incomplete particles. *Journal of Virology*, 44: 384–392.
- Müller H., Mundt E., Etteradossi N. et Islam M.R. (2012). Current status of vaccines against infectious bursal disease. *Avian Pathology*, 41: 133–139.
- Mundt E., Beyer J. et Muller H. (1995). Identification of a novel viral protein in infectious bursal disease virus-infected cells. *Journal of General Virology*, 76: 437–443.
- Mundt E., Köllner B. et Kretzschmar D. (1997). VP5 of infectious bursal disease virus is not essential for viral replication in cell culture. *Journal of Virology*, 71: 5647–5651.
- Nakamura T., Otaki Y. et Nunoya T. (1992). Immunosuppressive effect of a highly virulent infectious bursal disease virus isolated in Japan. *Avian Diseases*, 36: 891–896.
- Owoade A.A., Mulders M.N., Kohlen J., Ammerlaan W. et Muller C.P. (2004). High sequence diversity in infectious bursal disease virus serotype 1 in poultry and turkey suggests West-African origin of very virulent strains. *Archives of Virology*, 149: 653–672.
- Ramahefarisoa R. (2011). Factors Influencing the Humoral Immune Response Following Vaccination with a Live Vaccine against Gumboro Disease in Broiler Chickens. *M.Sc Univers, Montréal*.
- Rudd M.F., Heine H.G., Sapats S.I., Parede L. et Ignjatovic J. (2002). Characterisation of an Indonesian very virulent strain of infectious bursal disease virus. *Archives of Virology*, 147: 1303–1322.
- Tahiri F., Id Sidi Yahia K., Kichou F., Attrassi B., Elharrak E.M., Kadiri A. et Belghyti D. Pathotypic and molecular characterization of virulent strain of infectious bursal disease virus in Morocco. *Science Lib Editions Mersenne*, 3: 2111-4706.
- Tan D.Y., Hair-Bejo M., Omar A.R. et Aini I. (2004). Pathogenicity and Molecular Analysis of an Infectious Bursal Disease Virus Isolated from Malaysian Village Chickens. *Avian Diseases*, 48: 410–416.
- Tomás G., Hernández M., Marandino A., Panzera Y., Maya, L., Hernández, D., Pereda, A., Banda, A., Villegas, P., Aguirre, S. et Pérez, R. (2012). Development and validation of a TaqMan-MGB real-time RT-PCR assay for simultaneous detection and characterization of infectious bursal disease virus. *Journal of Virological Methods*, 185: 101–107.
- Tsukamoto K., Tanimura N., Kakita S., Ota K., Mase M., Imai K. et Hihara H. (1995). Efficacy of three live vaccines against highly virulent infectious bursal disease virus in chickens with or without maternal antibodies. *Avian Diseases*, 39: 218–229.
- Vindevogel H. (1992). La maladie de Gumboro. In Brugere-Picoux J., Silim A.: Manuel de pathologie aviaire. Imprimerie du Cercle des Elèves, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort: 155-163.
- Yao K., Goodwin M.A. et Vakharia V.N. (1998). Generation of a mutant infectious bursal disease virus that does not cause bursal lesions. *Journal of Virology*, 72: 2647–2654.
- Zierenberg K., Nieper H., van den Berg T.P., Ezeokoli C.D., Voß M. et Müller H. (2000). The VP2 variable region of African and German isolates of infectious bursal disease virus: comparison with very virulent, 'classical' virulent, and attenuated tissue culture-adapted strains. *Archives of Virology*, 145: 113–125.