

Étude ultrastructurale de la femelle adulte de *Dracunculus medinensis* et de ses larves de 1^{er} stade de développement (L₁)*

par T.N. LAMAH (1), M. FRANZ (1), H. MEHLHORN (1) et J.P. CHIPPAUX (2)

(1) Institut fûr Zoologie und Parasitologie, Ruhr-Universität Bochum, D-4630 Bochum, Postfach, R.F.A.
(2) Organisation de Coordination et de Coopération pour la Lutte contre les Grandes Endémies; Centre de Recherche du Bénin. O.C.C.C. GE, BP. 06, République du Bénin.

Ultrastructural study of the adult females of Dracunculus medinensis and its first stage larvae.

SUMMARY

The adult females, which were obtained from West-African patients, and the first stage larvae of *Dracunculus medinensis* were studied by light, transmission and scanning electron microscopy. It was shown that the body surface of adults was annulated and covered by a thick cuticle and a three-layered epicuticle, which is also present in larvae. The outer surface of the hypodermis is increased by foldings of the membrane. These folds form lamellae which reach deep into the hypodermal cytoplasm and are found along the whole surface of the worm. The excretory channels are absent from the lateral hypodermal chords of adults and first stage larvae. The muscles of the adult

females are of the polymyarian-coelomyarian type, whereas that of larvae appear platymyarian. The thin intestine of adult females is compressed and is apparently nonfunctional. In the larvae the oesophagus and the anterior portion of the intestine is filled with reserve material. The large uterus fills the body cavity almost entirely. The lumen of the uterus is closely packed with 1st stage larvae. These findings are compared to other nematodes, especially filariae.

Key-words: Dracunculus medinensis. Guinea worm, Dracunculiasis. Electron microscopy.

RÉSUMÉ

Des femelles adultes de *Dracunculus medinensis* et des larves de 1^{er} stade (L₁) ont fait l'objet d'observation en microscopie photonique, électronique à balayage et à transmission. Les femelles ont été prélevées sur des malades du Bénin et du Nigéria.

Nos observations montrent que la paroi du corps des vers adultes est constituée d'un fourreau épithélio-musculaire. L'épicuticule des adultes et des larves L₁ est trilamellaire. La cuticule est épaisse et faiblement annelée. La surface externe de l'hypoderme est élargie par des plis de la membrane formant des lamelles, qui pénètrent profondément dans le cytoplasme de l'hypoderme et sont présentes sur toute la surface des vers. Les canaux excréteurs sont régressés chez les vers adultes et chez les larves 1. La

musculature des femelles adultes est du type polymyairecœlomyaire, tandis que celle des larves est du type platymyaire. L'intestin des vers adultes est comprimé par l'utérus et semble être non fonctionnel au moment de la récolte. Le volumineux utérus des vers adultes est toujours rempli de larves L₁. L'œsophage et la région antérieure de l'intestin des larves contiennent des corps nutritifs de réserve. Les résultats sont comparés avec ceux connus chez d'autres Nématodes (surtout avec les filaires).

Mots-clés: Dracunculus medinensis. Ver de Guinée, Dracunculose. Microscopie électronique.

INTRODUCTION

Dracunculus medinensis Linnaeus 1758, connu généralement sous le nom de ver de Guinée, est l'agent pathogène de la dracunculose chez l'homme.

Les vers femelles et mâles sont caractérisés par un dimorphisme sexuel remarquable: les femelles mesurent entre 70 et 120 cm de longueur tandis que les mâles n'atteignent que 4 cm (MIRZA, 1930; NEAFIE et al., 1976). Les mâles qui meurent peu après l'accouplement, restent actuellement peu connus et ne feront pas l'objet de nos études. De brèves descriptions morphologiques des vers adultes sont fournies dans certains travaux tels que ceux de CHITWOOD et CHITWOOD (1950) et de MULLER (1971). Les données histologiques, quant à elles, sont assez rares (MIRZA, 1930; MULLER, 1971; MULLER et ELLIS, 1973; NEAFIE et al., 1976).

ques travaux récents sur les vers de Guinée concernent essentiellement les méthodes de lutte contre la dracunculose, les essais thérapeutiques et les infestations expérimentales au laboratoire (MULLER, 1971, 1979; GUIGEMDE, 1984).

Les travaux sur l'ultrastructure des femelles adultes et des larves au le stade sont encore inexistants. Bien que les femelles adultes de D. medinensis extraites des patients humains, présentent un aspect de maturité assez avancée, elles possèdent cependant une organisation interne plus ou moins intacte. Nous nous proposons d'étudier ici les échantillons obtenus fraîchement des Hommes (femelles et larves de premier stade dans leur utérus) et de comparer leurs ultrastructures avec d'autres nématodes (spécialement avec celles des filaires).

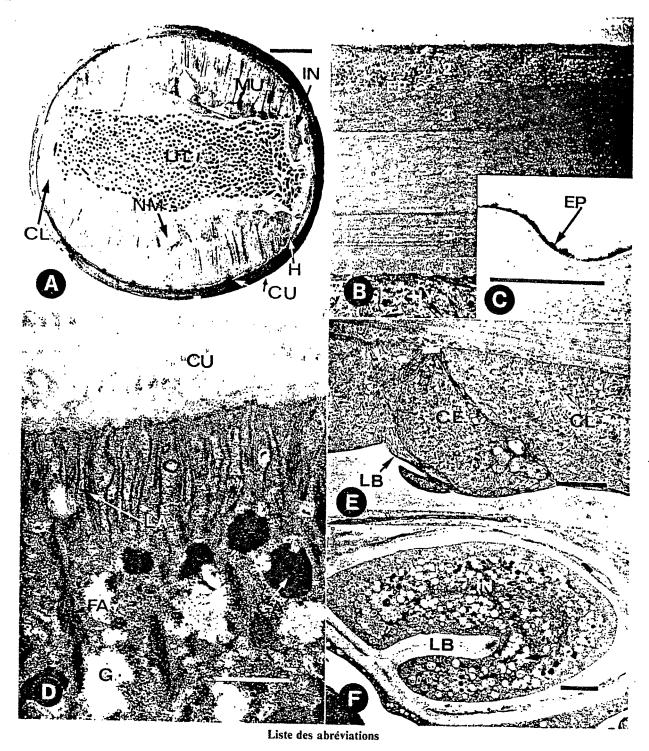
MATÉRIEL ET MÉTHODES

Des prélèvements des parties antérieures et médianes de 25 femelles adultes de *D. medinensis* et des larves de l^{er} stade de développement (L₁) ont été utilisés comme matériel de recherche au laboratoire de Bochum. Ces échantillons ont été récoltés chez 25 malades différents du Bénin et du Nigéria. Dans la plupart des cas, ces vers ont été extraits pièce par pièce et dans un seul cas à la suite d'une intervention chirurgicale. Les échantillons ainsi obtenus ont été découpés et fixés directement au glutaral-

déhyde à 5 % dans du tampon Na-cacodylate 0,1 M à pH 7,3 (24 h au minimum). Les vers adultes qui n'avaient pas pu être prélevés aussitôt après émergence possédaient des organes internes déjà décomposés. Ainsi quatre vers femelles adultes ont servi de matériel pour nos études histologiques et ultrastructurales.

L'étude ultrastructurale de tous les vers est faite selon les techniques classiques; double fixation glutaraldéhyde-

- Fig. 1. Représentation de la structure et de l'ultrastructure de la femelle de D. medinensis au moyen des microscopes photonique et électronique à transmission.
 - A Coupe transversale de D. medinensis dans sa partie médiane montrant le fourreau épidermique musculaire (CU, cuticule; H, hypoderme; MU, musculature), les cordes latérales (CL), les nerfs médianes (NM), l'utérus (UT) avec les larves et l'intestin (IN) comprimé: barre 10 µm.
 - B Section transversale de la cuticule (CU), montrant ses différentes couches, EP, épicuticule, HY, hypoderme : barre 10 μm.
 - C Représentation de l'épicuticule (EP) trilamellaire et de la couche sous-adjacente : barre 0,5 μm.
 - D Section de la cuticule (CU) et de la couche hypodermale montrant les lamelles (LA), les faisceaux fibrillaires (FA) les granules noirs (GA), et le glycogène (G) dans le cytoplasme : barre 1 µm.
 - E Corde latérale (CL) possédant une cellule latérale (CE). L'hypoderme est limité, vers la cavité pseudoccelomique, par une lame basale (LB): barre 10 µm.
 - F Coupe transversale de l'intestin comprimé; LB, lame basale de l'intestin : barre 10 μm.
- Fig. 1. Light and electronmicroscopic micrographs of female D. medinensis.
 - A Cross section of D. medinensis in the midbody region demonstrating the body wall (CU, cuticle; H, hypodermis; MU, muscle cells), the lateral chords (CL), the median nerves (NM), the uterus (UT) containing the larvae and the compressed intestine (IN): bar 10 µm.
 - B Cross section through the cuticle (CU), showing the different layers. EP, epicuticle; HY, hypodermis: bar 10 μm.
 - C Trilaminate epicuticle and underlying layers: bar 0,5 µm.
 - D Section of the cuticle and the outer hypodermal zone, demonstrating the lamellae (LA), and bundles of fibrills (FA), black granules (GA), and glycogen (G) in the cytoplasm: bar 1 μ m.
 - E Lateral chord (CL) with a lateral cell (CE). A basal lamina (LB) covers the hypodermal surface facing the pseudocoelom.
 - F Cross section of the compressed intestine; LB, basal lamina of the intestine: bar 10 μm.



AM, amphide; AN, annelation du corps; BO, bouche; CE, cellule latérale; CL, corde latérale; CR, corps nutritif de réserve; CU, cuticule; DD, dent dorsale; EP, épicuticule; FA, faisceau fibrillaire; FM, fibre musculaire; G, glycogène; GA, granule; H, hypoderme; IN, intestin; LA, lamelle; LB, lame basale; LL, ligne latérale; LP, lipide; LU, lumière; L1, larve de l'stade de développement; MU, musculature longitudinale; N, noyau; NM, nerf médian; PD, papille dorsale; PV, papille ventrale; Q, queue; RA, raie; RE, réticulum endoplasmatique; UT, utérus.

AM. amphid; AN. annulation; BO. mouth; CE, lateral cell; CL, lateral chord; CR, reserve bodies; CU, cuticle; DD, dorsal tooth; EP, epicuticle; FA, fibrils; FM, muscle fibres; G, glycogen; GA, granules; H, hypodermis; IN, intestine; LA, lamella; LB, basal lamina; LL, lateral line; LP, lipid; LU, lumen; LI, first stage larva; MU, muscle cells; N, nucleus; NM, median nerve; PD, dorsal papilla; PI, ventral papilla; Q, tail; RA, striation; RE, endoplasmic reticulum; UT, uterus.

osmium dans le même tampon (ci-dessus) à 4°C, déshydratation à l'éthanol, puis inclusion dans l'araldite. Les coupes ultrafines recueillies sur grilles cuivrées sont contrastées par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Certains échantillons de vers ont été également déshydratés à l'acétone et inclus dans ERL (Embedding medium of low viscosity).

Pour l'observation histologique, des coupes de 1µm d'épaisseur, récoltées sur lames, sont séchées, puis colorées au bleu de méthylène.

Pour l'observation en microscopie électronique à balayage, quelques fragments de ver adulte et des larves sont fixés dans les mêmes conditions préalables avant d'être déshydratés par l'acétone, et enfin séchés au gaz carbonique (CO₂)) au point critique.

Les appareils utilisés sont: le microscope photonique « Orthomat », les microscopes électroniques à transmission « Zeiss EM-9S » et « Philips EM-410 » et le microscope électronique à balayage « Super 3A-ISI ».

OBSERVATIONS

La femelle de *D. medinensis* est un ver rond de couleur blanc laiteux à l'état frais, qui peut atteindre 120 cm de longueur sur 1,2-2 mm de diamètre et possède une musculature épaisse. Le corps des femelles adultes porte de faibles striations transversales serrées les unes contre les autres (fig. 3 D). L'utérus rempli de larves, occupe la presque totalité de la cavité pseudocœlomique (fig. 1 A). L'intestin est totalement comprimé par l'utérus volumineux (fig. 1 A).

L'examen ultrastructural montre que la cuticule est épaisse (40 µm environ) et se compose de six couches (fig. 1 B). L'épicuticule comprend trois zones dont la plus externe est électroniquement dense (fig. 1 C). La couche qui suit l'épicuticule est ganulaire tandis que les autres couches (3 à 5) sont homogènes, avec une constitution assez fibrillaire; la couche adjacente à l'hypoderme est aussi granulaire (fig. 1 B).

L'hypoderme est dans son ensemble une formation syncitiale; il s'élargit des deux côtés, faisant saillie vers la cavité pseudocœlomique pour former les deux cordes latérales (fig. 1 A). Chez les femelles adultes de D. medinensis, les deux cordes médianes sont assez étroites et ne sont repérables que grâce aux nerfs dorsaux et ventraux (fig. 1 A). Dans chaque corde latérale, on peut noter la présence d'une cellule latérale (fig. 1 E). La caractéristique fondamentale de cet hypoderme est l'existence de nombreuses lamelles. Celles-ci s'étendent à partir de la membrane externe adjacente à la cuticule vers l'intérieur de l'hypoderme. Ces lamelles se rencontrent non seulement dans les cordes latérales mais également dans les régions intercordales situées sur les champs musculaires (fig. 1 D). L'hypoderme renferme, hormis ces lamelles, des faisceaux fibrillaires, quelques mitochondries, des corps lipidiques, de nombreux corpuscules noirs. L'existence d'un canal excréteur au niveau des deux cordes latérales

B – Coupe longitudinale de la larve (L_i) montrant le fourreau épidermique musculaire (CU, MU, H, CL), la cavité pseudocœlomique (flèche noire) et l'intestin (IN), avec de nombreuses granules (GA): barre 5 μ m.

C – Coupe transversale de la partie antérieure de l'œsophage montrant sa lumière remplie de corps nutritifs de réserve (CR), des fibres musculaires (FM) et un corps lipidique (LP). Les terminaisons nerveuses des deux amphides (AM) se rencontrent dans les cordes latérales : barre 1 µm.

D - Section transversale de la larve (L_i) dans sa partie médiane montrant, outre le fourreau épidermique musculaire (CU, CL, MU, NM), le volumineux intestin (IN) avec des organites. La lumière intestinale ici n'est pas décelable. G, glycogène, RE, reticulum endoplasmatique, LP, lipide: barre 5 μ m.

Fig. 2 - Transmission electron microscopy of the first stage larva (L_{ν}) and of the uterus of D. medinensis.

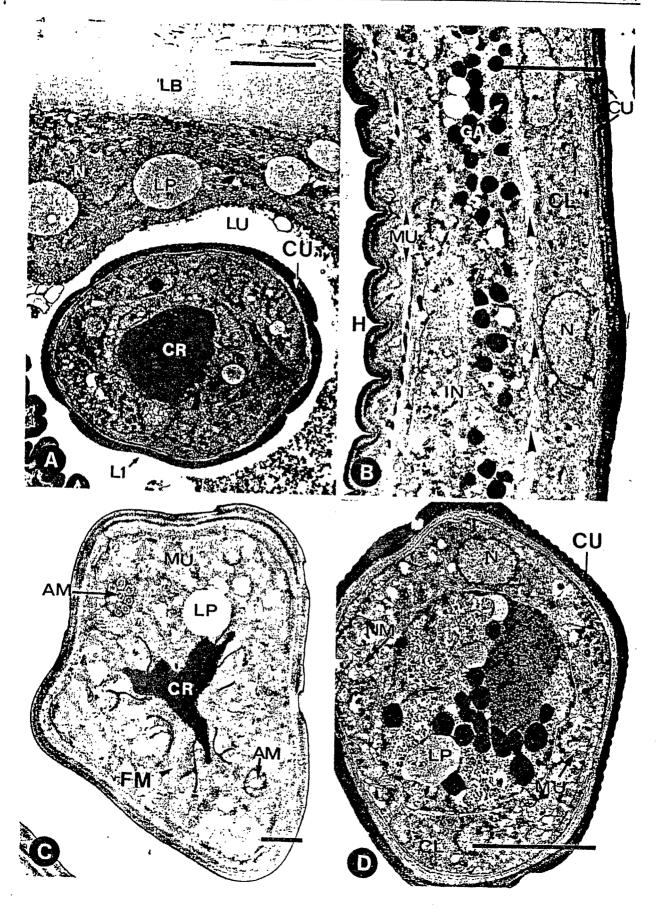
A – Section of the uterus, demonstrating the inner basal lamina (LB), and the uterine epithelium containing lipid droplets (LP) and a nucleus (N). A larva (L_{ν}) sectioned in the region of the reserve body (CR) lies in the uterine lumen (LU). CU, cuticle of the larva: bar 5 μ m.

B – Longitudinal section of the larva (L_{μ}) showing the body wall (CU, MU, H, CL), the pseudocoelom (black arrows), and the intestine which contains numerous granules (GA): bar 5 μ m.

C - Cross section through the anterior region of the oesophagus with its lumen filled with reserve body and the cytoplasm containing muscle fibres and lipid droplets. The nerve endings of both amphids are found in the cytoplasm of the hypodermis: bar 1 μ m.

D - Cross section through the midbody region of the larva (L_p) , showing the body wall (CU, CL, MU, NM) and the large intestine (IN) with organells. The intestinal lumen is not visible. G, glycogen, RE, endoplasmic reticulum, LP, lipid droplets: bar 5 μ m.

Fig. 2 - Microscopie électronique à transmission des larves de 1^{er} stade (L_I) et de l'utérus de la femelle de D. medinensis. A - Section de l'utérus montrant la région interne de la lame basale (LB), des corps lipidiques (LP) et un noyau (N) dans l'épithélium utérin. Dans la lumière utérine (LU) se trouve une larve (L_I) coupée au niveau du corps nutritif de réserve (CR), CU, cuticule de la larve: barre 5 µm.



n'a pas été mise en évidence. Une lame basale limite l'hypoderme, le sépare des cellules musculaires longitudinales et de la cavité pseudocœlomique (fig. 1 E). En coupe transversale, les cordes de l'hypoderme séparent quatre secteurs dans la couche musculaire (fig. 1 A). Les cellules musculaires sont de type polymyaire-cœlomyaire et on en compte de 20 à 35 dans chaque champ. La portion nucléaire de ces cellules contient en plus du noyau, des amas de fibrilles et du glycogène. Pour leur innervation, les cellules musculaires envoient des protubérances qui s'étendent jusqu'aux nerfs médio-dorsal et médio-ventral (fig. 1 A).

Sur toutes les sections de la région antérieure ou médiane seul un bras de l'utérus du type didelphe est coupé. Le corps de l'utérus est enveloppé par une épaisse lame basale, dans la partie externe de laquelle sont localisées des cellules de la musculature circulaire; le cytoplasme utérin contient quelques corps lipidiques volumineux et sphériques; la partie bordant la lumière utérine présente un aspect spongieux et poreux (fig. 2 A).

L'intestin est petit en diamètre, déplacé de l'un ou l'autre côté de la cavité pseudocœlomique et il reste comprimé par l'utérus volumineux. Chez les femelles âgées l'intestin est en train de se décomposer, car les membranes entourant les cellules intestinales ont disparu en place. Les cellules intestinales vivantes sont entourées par une lame basale et contiennent des dépôts importants de corps lipidiques, des granules de substance noire (fig. 1 F).

Les larves de 1^{er} stade de développement (L₁)

Au terme de l'embryogenèse, les larves baignant dans un liquide visqueux blanc-laiteux, sont libérées dans l'eau par les femelles adultes (viviparité). L'observation de ces larves permet de dégager des caractéristiques fondamentales : elles présentent un corps effilé, mesurant 500-600 µm environ de lon-

gueur sur 10-16 μ m de largeur et possèdent une longue queue (fig. 3 A). Le corps des larves L₁ porte des annélations régulières avec des raies longitudinales (fig. 2 B, 3 B). Deux lignes latérales assez distinctes dans la cuticule parcourent le corps en sens longitudinal (fig. 3 A).

La tête, d'un petit diamètre par rapport à celui du corps, présente une forme quelque peu rectangulaire (fig. 3 C). Sur la tête on remarque, au centre, une ouverture buccale avec des bords latéraux relevés; deux petits amphibes latéraux et quatre papilles céphaliques (deux dorsales et deux ventrales). Entre les deux papilles dorsales se trouve une dent dorsale pointue (fig. 3 C).

L'examen ultrastructural du fourreau épidermique musculaire des larves montre que la cuticule est épaisse (environ 1 µm); l'hypoderme relativement mince et les cellules musculaires du type platymyaire (fig. 2 A, D). Les cordes médianes et latérales développées séparent les cellules musculaires en quatre secteurs. Dans les deux cordes médianes on note la présence des cellules nerveuses (fig. 2 D). Dans l'hypoderme de la région céphalique se trouvent deux amphibes contenant plusieurs structures ciliées (fig. 2 C). L'ultrastructure de l'æsophage montre que sa lumière se présente sous la forme d'un triangle quelque peu irrégulier; cette lumière contient une masse noire, qui ressemble à la masse de réserve nutritive que contient l'intestin. Une cuticule délimite la lumière œsophagienne; le cytoplasme des cellules de l'æsophage renferme des faisceaux fabrillaires, du glycogène et des corps lipidiques (fig. 2 C). Une lame basale limite l'œsophage dans la cavité pseudocœlomique.

L'intestin est cylindrique et droit; il remplit la presque totalité de la cavité pseudocœlomique qui se présente sous la forme d'un espace assez étroit en coupe longitudinale (fig. 2 B). La lumière intesti nale est vaste et renferme une masse compacte noire

FIG. 3 – Microscopie électronique à balayage de la larve du 1^{cr} stade (L_y) et de la femelle adulte de D. medinensis.

A – Vue générale de la larve caractérisée par une longue queue (Q), des annélations du corps (AN) et une ligne latérale (LL): barre 10 μ m.

B - Annélations (AN) du corps de L, parcourues par des raies longitudinales (RA): barre 5 μm.

C - Vue de face de la tête de L_1 possédant des papilles dorsales (PD) et ventrales (PV), deux amphides (AM), une dent dorsale (DD) et une bouche ovale (BO): barre 0,5 μ m.

D - Représentation de la surface externe de la cuticule de la femelle adulte de D. medinensis: de faibles striations parcourent le corps du ver adulte: barre 10 µm.

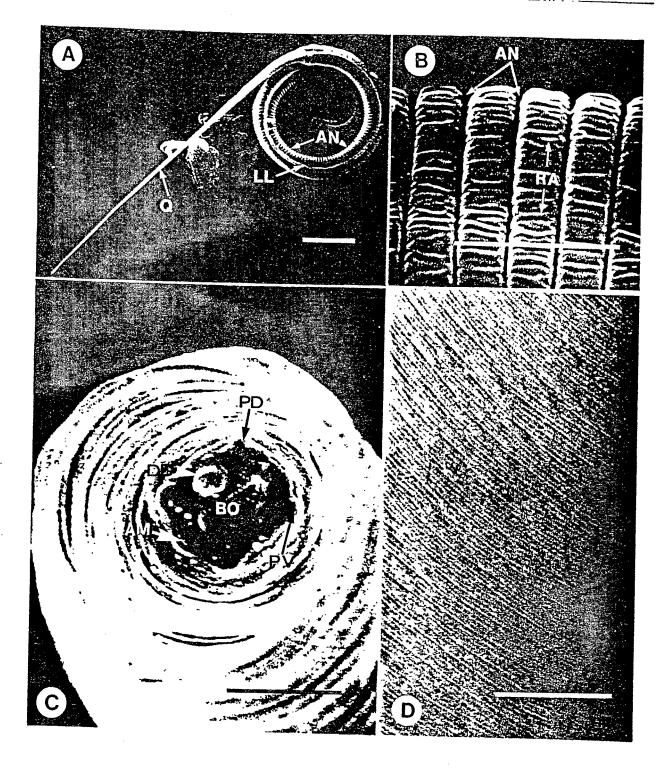
Fig. 3 - Scanning electron microscopy of the first stage larva (L_{ν}) and of the female D. medinensis.

A - The larva is characterized by a long tail (Q), annulations (AN) and a lateral line (LL): bar 10 µm.

B - The surface of the L_1 is deeply annulated (AN) and finely striated (RA): bar 5 μ m.

C - Frontal view of the head of the L_p , showing the dorsal and ventral papillae (PD, PV), both amphids (AM), a dorsal tooth (DD) and an oval mouth (BO): bar 0.5 μ m.

D - Cuticular surface of the adult female D. medinensis. Fine striations cover the adult worm: bar 10 µm.



de corps nutritif de réserve. Sur certaines coupes transversales des larves, cette lumière n'est pas décelable (fig. 2 D). L'épithelium intestinal, qui ne porte pas des microvilli, contient des noyaux cellu-

laires volumineux, des corps lipidiques, du glycogène, un réseau de reticulum endoplasmatique et un dépôt de granules denses (fig. 2 A, B, D).

DISCUSSION

L'étude ultrastructurale des parties antérieures et médianes de *D. medinensis* récoltées chez les patients du Bénin et du Nigéria (Afrique de l'Ouest) et des larves au 1^{er} stade, nous permet d'affirmer que la cuticule est lisse et striée, comme chez beaucoup de nématodes intestinaux.

L'épicuticule est trilamellaire, donc du type primitif (BIRD, 1984; MAGGENTI, 1981). Cette épicuticule est identique à celle de Loa loa, mais diffère de celle de l'Onchocerca volvulus qui est multilamellaire avec un aspect plissé ou froncé (FRANZ et al., 1984).

L'hypoderme est du type syncitial, comme celui de beaucoup d'autres nématodes (BIRD, 1971), mais il présente quelques différences fondamentales: de multiples lamelles partant de sa partie externe vers la couche interne et sur toute la circonférence du corps de l'animal, sont mises pour la première fois en évidence chez les femelles adultes de D. medinensis. De telles formations ont été également signalées chez les filaires (FRANZ et BÜTTNER, 1983; FRANZ et ANDREWS, 1986). Chez quelques Nématodes parasites intestinaux de telles formations lamellaires existent mais seulement au niveau des cordes latérales. Des cellules latérales ont été également retrouvées dans les cordes latérales comme c'est le cas chez le mâle d'O. volvulus (FRANZ, 1982).

L'urérus des femelles adultes de D. medinensis est identique à celui de Loa loa et d'O. volvulus au point de vue ultrastructure (FRANZ et al., 1981): la couche épithéliale bordant la lumière utérine est d'aspect spongieux et la lame basale recouvrant le corps de cet utérus renferme des cellules musculaires circulaires.

L'intestin des larves de les stade et celui des femelles adultes de D. medinensis sont dépourvus de microvilli. La compression de l'intestin des vers adultes par l'utérus, lui confère une lumière assez étroite et par conséquent un aspect de nonfonctionnement. Cet état le fait distinguer nettement de l'intestin des filaires qui, au contraire, possède une bordure en brosse et une lumière distinctes (FRANZ et ANDREWS, 1986; FRANZ et al., 1987).

La seule étude ultrastructurale des larves du 1^{er} stade concerne leurs phasmides qui s'avèrent importants en matière de taxonomie (MULLER, 1971; MULLER et al., 1973). L'étude des larves L₁, au microscope électronique à transmission, nous permet d'affirmer que leur ultrastructure ressemble à celle des microfilaires (e. g. Loa loa, Brugia sp. et Wuchereria bancrofii; MCLAREN, 1972; KOZEK et ORIHEL, 1983).

Les larves du 1^{er} stade de *D. medinensis* possèdent des caractères communs à ceux des microfilaires. Comme chez les microfilaires, des matériaux de réserve sont toujours présents dans la lumière de l'œsophage et de l'intestin antérieur. Cette lumière est absente dans la région postérieure de l'intestin chez les larves L₁ des filaires comme chez *D. medinensis*. Chez les larves du 1^{er} stade de *D. medinensis* l'intestin est plus différencié que chez les microfilaires, où se trouve seulement une structure primordinelle, qui est en contact direct avec les cellules de la paroi du corps (absence d'une cavité pseudocœlomique. Également la cuticule de la larve L₁ de *D. medinensis* est plus épaisse que celle des microfilaires.

En conclusion, nous pouvons affirmer à la lumière des études réalisées sur quelques pièces de femelles adultes et des larves de 1^{er} stade de *D. medinensis*, que ces vers malgré quelques différences structurelles possèdent quelques traits communs avec les filaires adultes et leurs larves.

RÉFÉRENCES

BIRD (A.F.), 1971. - The structure of nematodes. Academic Press, New York, London. 1984. - Nematoda. dans:
 Bereiter-Hahn A.G., Matolsky A.G. et Richards (ed.)
 Biology of the integument. 1. Invertebrates. Springer Berlin pp. 212-233

CHITWOOD (B.G.) and CHITWOOD (M.B.), 1950. – Introduction to nematology. University Park Press, Baltimore, London, Tokyo.

Franz (M.), 1982. - The fine structure of adult Onchocerca volvulus I. The cuticle, the hypodermis and the

muscle cell of the male worm. Tropenmed. Parasit., 33, 69-75.

FRANZ (M.) and ANDREWS (P.), 1986. - Fine structure of adult Litomosoides carinii (Nematoda: Filarioidea). Z. Parasitenkd., 72, 537-547.

FRANZ (M.) and BUTTNER (D.W.), 1983. – The fine structure of adult Onchocerca volvulus 4. The hypodermal chords of the female worm. Tropenmed. Parasit., 34, 122-128.

- Franz (M.), Melles (J.) and Büttner (D.W.), 1984.

 Electron microscope study of the body wall and the gut of adult Loa loa. Z. Parasitenka., 70, 525-536.
- FRANZ (M.), MELLES (J.), LENZE (W.) and STEINER (A.), 1981. Feinstruktur der Weibchen von Loa loa und Onchocerca volvulus (Nematoda: Filarioidea). Verh. Disch. Zool. Ges., 74, 224.
- FRANZ (M.), SCHULZ-KEY (H.) and COPEMAN (D.B.), 1987.
 Electron microscopic observations on the female worms of six Onchocerca species from cattle and red deer. Parasitol. Res., 74, 73-83.
- GUIGUEMDE (T.R.), 1984. Méthode de lutte et de contrôle de la dracunculose. Revue OCCGE-INFO. 89, 90. 4-90.8 Bobo-Dioulasso.
- KOZEK (W.J.) and ORIHEL (T.C.), 1983. Ultrastructure of Loa loa microfilariae. Int. J. Parasitol., 13, 19-43.
- MAGGENTI (A.), 1981. General Nematology. Springer, New York, Heidelberg, Berlin.

- McLaren (D.J.), 1972. Ultrastructural studies on microfilariae (Nematoda: Filarioidea). *Parasitology*, **65**, 317-332.
- MIRZA (M.B.), 1930. Beiträge zur Kenntnis des Baues von Dracunculus medinensis Velsch. Z. Parasitenkd., 2, 129-156.
- MULLER (R.), 1971. Dracunculus and dracunculiasis. Adv. Parasitol., 9, 73-151. 1979. La dracunculose: épidémiologie, endiguement et traitement. Bull. OMS, 57, 903-910.
- MULLER (R.) and ELLIS (D.S.), 1973. Studies on *Dracunculus medinensis* (L.) 3. Structure of phasmids in the first stage larva. *J. Helminthol.*, 7, 27-33.
- NEAFIE (R.C.), CONNOR (D.H.) and MEYERS (W.M.), 1976.

 Dracunculiasis. in: Binford C.H. and Connor D.H. (ed.) Pathology of tropical and extraordinary diseases. Armed Forces Institut of Pathology Washington D.C., pp. 397-401.