



Research Article

## HISTOPATHOLOGICAL STUDY OF LYMPHOCYSTIS DISEASE (LCD) IN INTENSIVE CULTURED FALSE CLOWNFISH, *Amphiprion ocellaris* (Cuvier, 1830)

Bambang Setyo Sihananto<sup>1</sup>, Endang Wijayanti<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Balai Perikanan Budidaya Air Tawar Mandiangin

Jl. Tahura Sultan Adam Km 14, Mandiangin Barat, Karang Intan, Banjar, Kalimantan Selatan 70661

<sup>2</sup>Balai Perikanan Budidaya Laut Batam

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 2024-06-08

Revised 2023-06-15

Accepted 2024-06-25

#### Keywords:

Histopathology; clownfish ocellaris (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830); lymphocystis disease; nodules

\*)Corresponding Author:

e-mail: vikasaeni27@gmail.com



CC BY 4.0

Some right reserved by:

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

#### Cite this as:

### ABSTRACT

Clownfish ocellaris (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830) is one of the marine ornamental fish in Indonesia that has been widely cultivated. As an ornamental fish that is admired for its beauty, lesions are sometimes found in the form of irregular nodules of varying sizes, white to cream in color on the body surface, especially scales and fins. The nodules found are single or multifocal to diffuse white, round, firm, papilloma-like or tumor-like on the surface of the body, fins and even the mesentery, making it unsellable. This study aims to determine Lymphocystis Disease (LCD) in Ocellaris clownfish through histopathological examination, both on the external body (skin/scales) and internal (visceral). Histopathological tests showed the presence of hypertrophied cell clusters with thick smooth hyaline capsules, enlarged nuclei with basophilic chromatin at the periphery and basophilic intracytoplasmic inclusion bodies mainly in the peripheral areas of the cells. This finding is the first in clown ocellaris culture in Indonesia and is a clear finding of lymphocystis in the viscera (mesentery). The histopathology method unequivocally demonstrated the presence of lymphocystic cell growth not only on the body surface and fins but also within the mesentery.

## 1. PENDAHULUAN

Ikan badut *ocellaris* (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830) merupakan ikan laut dari keluarga Pomacentridae. Dikenal sebagai ikan asli perairan laut yang hangat di Samudera India dan Pasifik, dan merupakan ikan hias yang indah dengan berbagai warna yang intens (Pirarat *et al.*, 2011). Ikan ini memiliki karakteristik perilaku simbiosis dengan anemon laut pada kedalaman hingga 15 m dalam kelompok kecil (Fautin & Allen., 1997), dan membentuk kelompok yang terdiri dari pasangan monogami dan bersifat *protandrous hermaphrodit* yaitu mampu merubah kelamin dari jantan menjadi betina (Ross, 1978).

Permintaan ikan badut sebagai ikan hias air laut di Indonesia semakin meningkat akhir-akhir ini, untuk mencukupi permintaan dari pasar domestik dan luar negeri, namun budidaya ikan ini sulit terhindar dari penyakit terutama penyakit yang bersifat menular. Salah satu penyakit menular yang teridentifikasi pada ikan badut *A. ocellaris* adalah infeksi virus *Lymphocystis* yang pertama kali terdeteksi di Thailand pada tahun 2009 (Pirarat *et al.*, 2011), di India pada tahun 2014 (Siva *et al.*, 2014), di Puerto Rico tahun 1996 (Bunkley-Williams *et al.*, 1996), pada tahun 2008 di Peru (Castro *et al.*, 2014), dan di Indonesia pada tahun 2019 (Sihananto *et al.*, 2019). Laporan ini merupakan hal yang penting karena temuan

adanya lesi pada kulit menjadi perhatian pada penelitian Hossain *et al.*, (2007, 2009); Kitamura *et al.*, (2007), dan Bovo & Florio, (2008). Penyakit *Lymphocystis* (LCD) adalah salah satu penyakit virus yang menular yang berpengaruh terhadap budidaya ikan laut maupun air tawar di Indonesia. Sebaran penyakit ini dilaporkan di seluruh dunia seperti di Spanyol (Alonso *et al.*, 2005), Prancis (Le Deuff & Renault, 1993), Korea, Jepang (Hossain *et al.*, 2008), India (Shahi *et al.*, 2020; Vijayapoopathi *et al.*, 2016); Taiwan (Cheng *et al.*, 2022), dan Cina (Huang *et al.*, 2015; Sheng *et al.*, 2007; Zheng *et al.*, 2016). Di Indonesia, penyakit ini pertama kali dilaporkan oleh Sihananto *et al.*, (2019) menyerang pada ikan gabus haruan (*Channa striata*, Bloch 1793), dan pada ikan badut percula (*A. Percula*) oleh Lam *et al.*, (2020), dan Murwantoko *et al.*, (2022).

Penelitian ini melaporkan temuan infeksi *lymphocystis* pertama pada ikan badut *A. ocellaris* di Indonesia yaitu berasal dari unit budidaya di kota Batam, Indonesia terutama pada organ visceral. Identifikasi pada lesi patognomonik penyakit ini menggunakan diagnosis histopatologi. Ikan badut *A. ocellaris* menunjukkan adanya lesi berupa nodul pada permukaan tubuh, yang



Gambar 3.1. Beberapa nodul yang ditemukan pada ikan badut *A. ocellaris* pada sirip punggung, dan dada (tanda panah biru), dan penutup insang (tanda panah putih)

kemudian dianalisis secara histopatologi di Laboratorium penguji Balai Perikanan Budidaya Air Tawar (BPBAT) Mandiangin. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melaporkan secara histopatologi terjadinya LCDV pada ikan badut *A. ocellaris* dan untuk mengetahui sebaran LCDV pada organ, terutama pada organ visceral yang merupakan temuan pertama di Indonesia.

## 2. METODOLOGI PENELITIAN

### 2.1. Sampel ikan

Ikan badut *A. ocellaris* (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830) yang terinfeksi secara alami, dengan panjang tubuh rata-rata

2.5 cm (kisaran 2.3-2.8 cm) dari beberapa pembudidaya di Kota Batam. Ikan dieutanasia dengan menggunakan larutan Methanesulfonate (MS - 222) dosis 250 mg/L dengan perendaman selama 30 menit (AVMA, 2020) sebelum dilakukan pemeriksaan lengkap. Ikan menunjukkan tanda-tanda eksternal yang khas dari nodul LCDV dalam berbagai ukuran terutama pada permukaan tubuh, dan sirip (gambar 1). Pemeriksaan patologi, histopatologi, dan analisis mikroskopik digunakan sebagai alat diagnostik.

### 2.2. Pengujian histopatologi

Sampel ikan dengan gejala klinis nodul pada permukaan tubuh dan sirip dilakukan pemeriksaan patologi termasuk

bentuk, ukuran, warna, konsistensi dan ciri khusus dari lesi yang khas, dan juga letak serta distribusinya pada tubuh. Sampel ikan dengan nodul *lymphocystis* dilakukan fiksasi dengan larutan formalin buffer netral (NBF) 10% (Surgipath®, Jerman). Sampel dibilas dengan air dan kemudian dipotong dengan ukuran  $\pm 0.5$  cm yaitu pada bagian yang menunjukkan adanya lesi yaitu berupa nodul. Setelah itu jaringan dilakukan dehidrasi dalam etanol bertingkat (Merck®, Amerika Serikat) kemudian dimasukkan kedalam *xylene* (Surgipath®, Jerman) untuk menghilangkan etanol dan kemudian direndam dalam *paraplast* cair (Surgipath®, Jerman), proses tersebut dilakukan secara otomatis dengan menggunakan alat *automatic tissue processor* (Leica® ASP 200S, Jerman). Selanjutnya dilakukan *blocking* dalam *paraplast* menggunakan alat *hot embedding* Leica® EG 1150H dan didinginkan secara cepat dengan menggunakan alat *cold embedding* (Leica® EG1150C, Jerman). Blok parafin kemudian dilakukan pemotongan dengan menggunakan alat *automatic rotary microtome* Leica® RM 2135 dengan ketebalan 4  $\mu$ m seperti yang dijelaskan oleh Genten *et al.*, (2009), hasil potongan diapungkan pada permukaan air hangat bersuhu 50°C dengan menggunakan alat *tissue float bath* (Leica®, HI 1210). Jaringan kemudian diwarnai dengan meyer hematoxylin (Scytek®, Amerika Serikat) dan *eosin-phloxine* (Scytek®, Amerika

Serikat). Proses pewarnaan jaringan dilakukan secara otomatis dengan menggunakan alat *automatic stainer* (Leica®, ST 5020) dilanjutkan *mounting* dengan menggunakan *entellan* (Merck®, Amerika Serikat) untuk analisis histopatologi mengikuti teknik yang dijelaskan oleh Siva *et al.*, (2014); Pirarat *et al.*, (2011) & Cheng *et al.*, (2022). Analisis Histopatologi dilakukan dengan menggunakan mikroskop (Olympus® CX 41) dengan kamera Olympus® DP 20. Seluruh proses nekropsi, pengujian histopatologi, serta analisis dilakukan di laboratorium penguji Balai Perikanan Budidaya Air Tawar (BPBAT) Mandiangin.

### 2.3. Analisis data

Semua data histopatologi (pengamatan makroskopis dan mikroskopis) disajikan dalam bentuk gambar dan dianalisis secara deskriptif.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1. Temuan makroskopik

Ikan yang diambil menunjukkan nodul putih, keras, seperti papiloma yang bersifat multifokal menyebar di kulit, sirip dan juga pada bagian visceral yaitu pada bagian mesenterium. Diameter nodul bervariasi dalam ukuran sekitar 1-2 mm. Studi histopatologi dari lesi ini mengungkapkan gambaran patologis secara

khas atau patognomonik infeksi virus *limphocystis*.

**3.2.Pengamatan histologi**

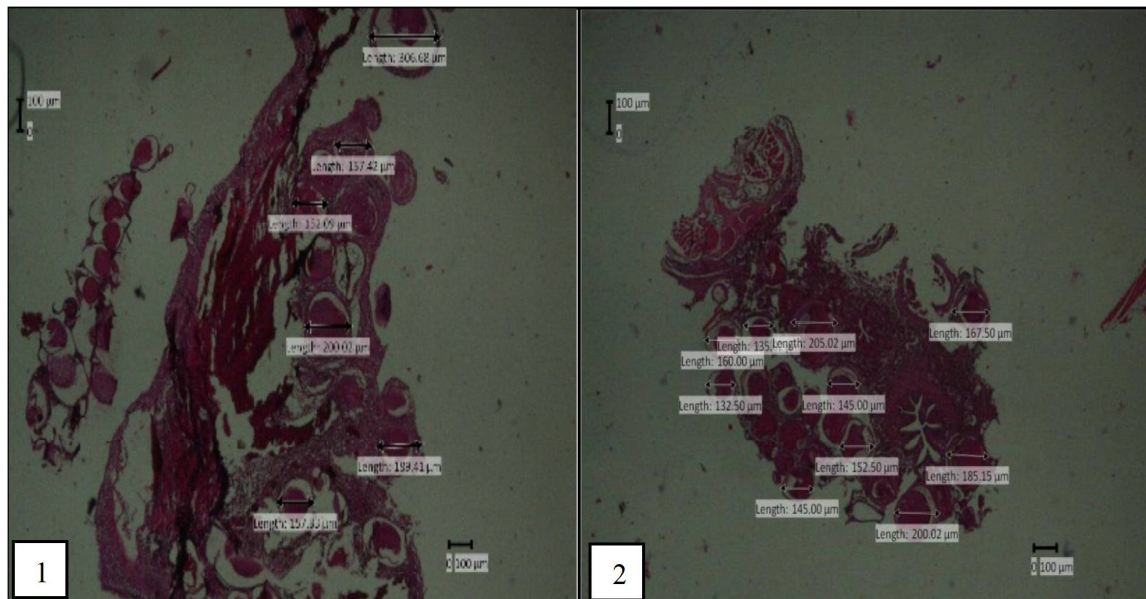
Kelompok sel *limphocystis* yang diamati adalah pada bagian permukaan tubuh, dan pada bagian visceral yaitu pada mesenterium. Sel hipertrofi dengan badan inklusi intrasitoplasmik basofilik berada di jaringan ikat dermis. Sel-sel *limphocystis* juga terdeteksi pada organ visceral yaitu pada mesenterium. Formasi *limphocystis-granulomatous* adalah merupakan respon inflamasi kronis, temuan pada permukaan tubuh juga muncul pada mesenterium. Sel hipertrofi *limphocystis* dikelilingi oleh kapsul hialin halus yang tebal. Inti sel *limphocystis* membesar, tidak beraturan dan mengandung kromatin basofilik dengan batas jelas. Terdapat badan inklusi intrasitoplasmik basofilik yang mencari,

terutama di area perifer sel hipertrofi seperti yang dijelaskan pada gambar 2. Kapsul hialin tidak teratur dan pecah serta inti menghilang ditemukan pada sel *limphocystic* yang matang (Gambar 3). Sel-sel lymphocystis pada bagian permukaan tubuh memiliki ukuran diameter 152.09-306.68 µm dengan rerata diameter 193.825 µm seperti tampak pada gambar 4. Sel-sel lymphocystis pada bagian visceral memiliki kisaran diameter 132.50-205.02 µm dengan rerata diameter 162.771 µm dan dengan kisaran ketebalan kapsul 9.62-14.57 µm dengan rerata 12.095 µm seperti tampak pada gambar 5 dan 6. Rerata dan kisaran diameter nodul eksternal dan visceral, serta rerata dan kisaran ketebalan kapsul nodul visceral terdapat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Rerata diameter dan kisaran diameter nodul eksternal dan visceral serta rerata dan kisaran ketebalan kapsul baik eksternal maupun visceral

	Lymphocystis	Lymphocystis visceral	Kapsul Lymphocystis Mesenterium
Rerata diameter (µm)	193.825	162.771	12.095
Kisaran diameter (µm)	152.09-306.68	132.50-205.02	9.62-14.57

Sumber : Data primer diolah (2021)



Gambar 3.2. Diameter sel lymphocystis yang terdapat pada permukaan tubuh (1), dan mesenterium (2). (H&E, perbesaran 4x).

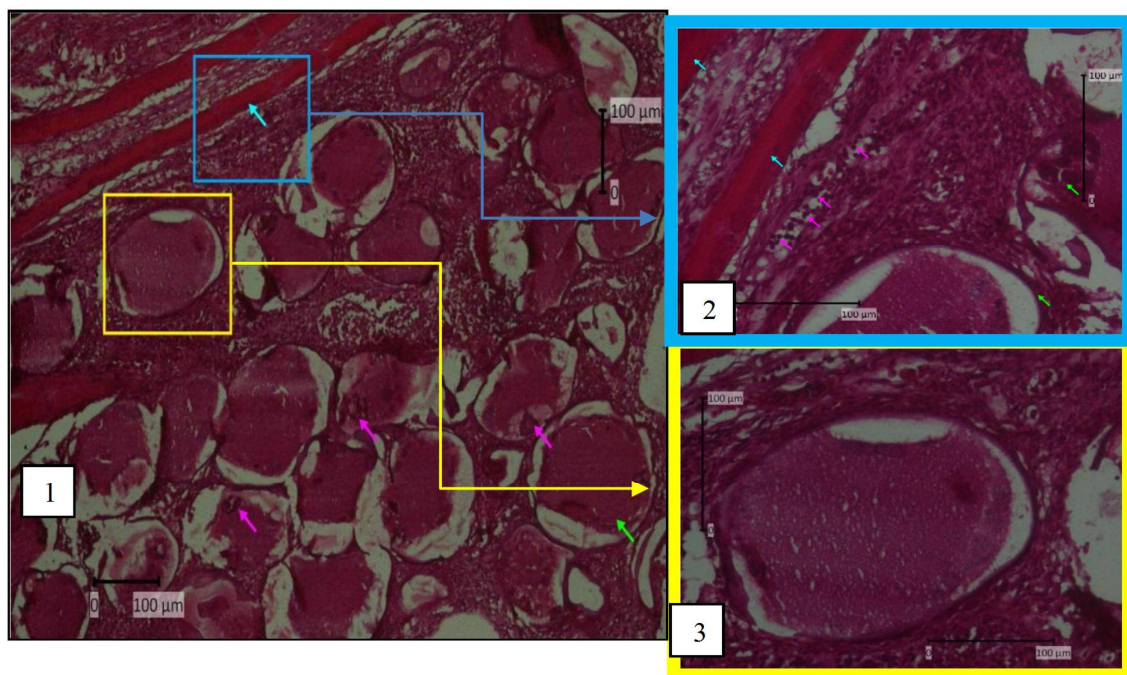
Penelitian ini adalah merupakan penelitian pertama yang menunjukkan keberadaan LCDV pada organ visceral ikan badut *A. ocellaris* yang dibudidayakan di Indonesia. Analisis molekuler yang dilakukan oleh Murwantoko *et al.*, (2022) terhadap genotip virus penyebab LCD pada ikan badut jenis *A. percula* atau LCDV-Oc-Btm adalah masuk kedalam jenis virus baru. Lesi nodular yang terlihat pada kulit ikan badut, *A. ocellaris*, merupakan kumpulan sel yang tersusun atas jaringan ikat berbentuk oval dan bulat dengan ukuran berbeda, beberapa adalah merupakan sel yang mengalami hipertrofi seperti yang dijelaskan oleh Nigrelli & Ruggieri (1965); Wolf, (1988), dan Volpe *et al.*, (2023). Perubahan sel-sel dengan hipertrofi merupakan karakteristik morfologis yang sama (dinding hialin tebal,

dan terdapat nukleus) seperti yang dijelaskan oleh Walker, (1962, 1965); Wu *et al.*, (2015) dan inklusi pada sitoplasma yang sangat besar (di sekitar atau dekat batas sel) seperti yang dijelaskan oleh Aly *et al.*, (2018); Benkaroun *et al.*, (2022); Carballo *et al.*, (2017); Ciulli *et al.*, (2015); Iwakiri *et al.*, (2014); Liversidge & Munro (1978); Nigrelli & Ruggieri (1965); Peters & Schmidt, (1995); Schaperclaus (1992), Valverde *et al.*, (2017), dan Wolf (1988), sebagai perubahan patognomonik penyakit *limphocystic* yang disebabkan oleh virus.

Sel-sel *limphocystic* tersebut pada umumnya berukuran antara 1-2 mm (Pirarat *et al.*, 2011; Aneer & Ljungberg, 1976) dan berjumlah hingga ratusan (Aneer & Ljungberg, 1976). Sel-sel tersebut terlihat seperti nodul atau kutil berwarna

krem, merah muda, atau abu-abu (Alexandrowicz, 1951; Mosharrof & Myung-Joo, 2006; Sahoo & Goodwin, 2012; Williams *et al.*, 1996; Wolf, 1988). Ikan yang terinfeksi terkadang memiliki banyak nodul (Borrego *et al.*, 2015; Cordero *et al.*, 2016; Nigrelli & Ruggieri, 1965; Marcogliese *et al.*, 2001; Sindermann, 1970; Wolf *et al.*, 1966), beberapa bersifat tunggal seperti yang dilaporkan oleh Aneer & Ljungberg, (1976).

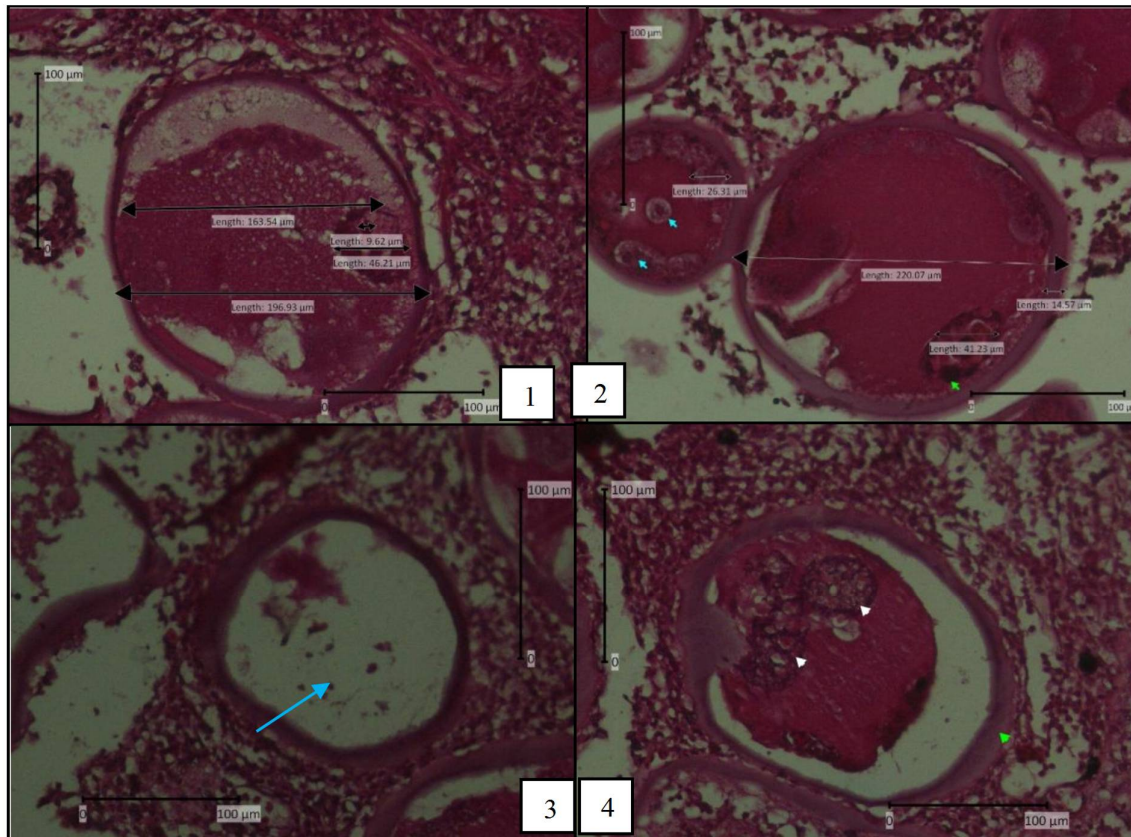
Woodcock pada tahun 1904 yang menjelaskan bahwa penyakit tersebut disebabkan oleh sporozoa atau microsporidia (Bucke, 1986) yang diberi nama *Lymphocystis johnstonei* (Wolf, 1988). Weissenberg pada tahun 1914 menemukan bahwa *lymphocystis* disebabkan oleh virus, karena tidak ditemukan adanya bakteri, jamur maupun protozoa pada lesi, dan penyakitnya sangat menular, dan dapat dengan mudah ditularkan dari satu ikan ke ikan lainnya (Chung *et al.*, 2015; Wellings, 1970; Zhang



Gambar 3. 1. Sel lymphocystis pada permukaan tubuh tampak jelas jaringan otot (tanda panah biru), nucleus (tanda panah merah muda), inklusi bodi intrasitoplasmik (tanda panah hijau) (H&E, perbesaran 10x); 2. Sel-sel lymphocystis yang berbatas jelas dengan jaringan kulit, tampak jaringan otot (tanda panah biru), sel leukosit (tanda panah merah muda), sel lymphocystis (tanda panah hijau) (H&E, perbesaran 40x); 3. Sel lymphocystis (H&E, perbesaran 40x)

Penyakit *lymphocystic* pertama kali dijelaskan oleh Lowe pada tahun 1874 (Liversidge & Munro, 1978; Bucke, 1986) dan nama *lymphocystis* berasal dari

*et al.*, 2023) dengan mekanisme dan reseptor tertentu (Zhang *et al.*, 2023; Zhong *et al.*, 2017). Etiologi virusnya ditunjukkan dengan mikroskop elektron oleh Walker



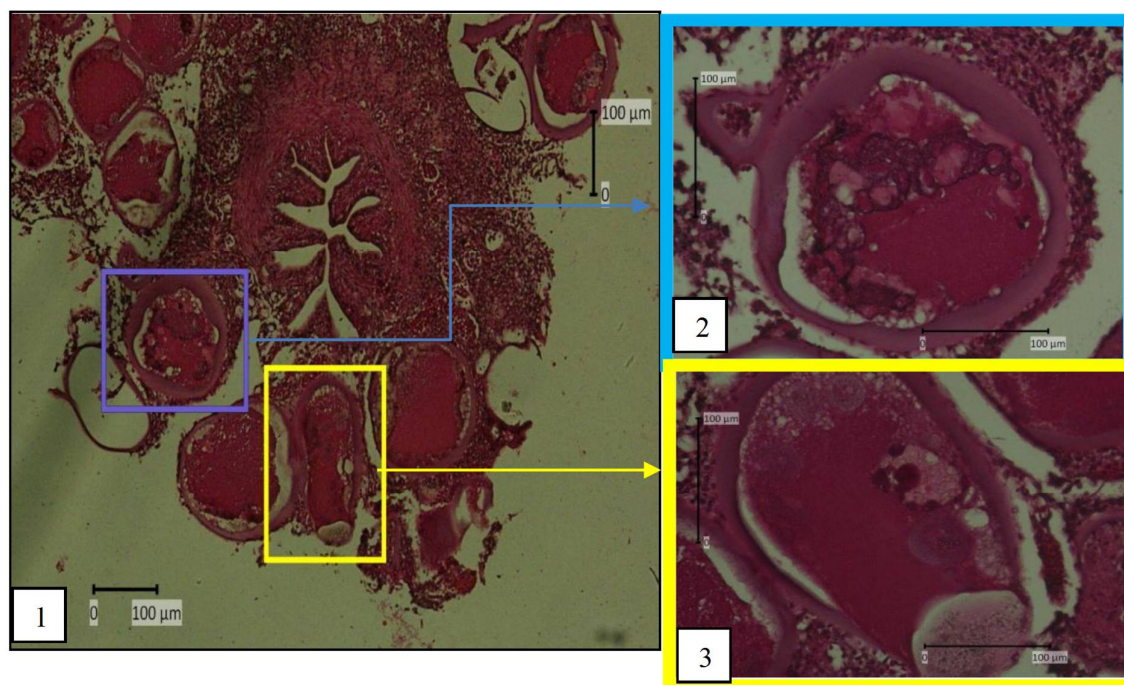
Gambar 4. 1. Sel lymphocystis pada permukaan tubuh dengan diameter sel 196.63  $\mu\text{m}$ , ketebalan kapsul 9.62  $\mu\text{m}$  dan diameter nukleus 46.21  $\mu\text{m}$  (H&E, perbesaran 40x); 2. Sel lymphocystis pada mesenterium dengan diameter sel 220.07  $\mu\text{m}$ , ketebalan kapsul 14.57  $\mu\text{m}$  dan diameter nukleus 41.23  $\mu\text{m}$  (H&E, perbesaran 40x); 3. Sel lymphocystis yang kehilangan sitoplasma (tanda panah biru) (H&E, perbesaran 40x); 4. Sel lymphocystis dengan kromatin (anak panah putih dan kapsula hyaline (anak panah hijau) (H&E, perbesaran 40x).

pada tahun 1962 dan isolasi dalam sel hidup dilakukan oleh Wolf, Gravell dan Malsberger pada tahun 1966 (Liversidge & Munro, 1978; Wolf, 1988). Virus penyebab penyakit *lymphocystic* adalah merupakan virus genus *Lymphocystivirus* dari famili Iridoviridae (Labella *et al.*, 2019; López-Bueno *et al.*, 2016; Pekmez *et al.*, 2022; Williams Jr. *et al.*, 1996), berbentuk simetri ikosahedral besar, dengan genom DNA (Doszpoly *et al.*, 2020; Kawato *et al.*, 2021; Tidona & Darai 1997; Zwillenberg,

1962; Smail, 1979; Walker, 1962a, b; Walker & Wejssenberg., 1965) berdiameter sekitar 300-2.000  $\mu\text{m}$  (Wolf, 1962), 200-300 nm (Darai *et al.*, 1983; Tidona & Darai, 1997; Kitamura *et al.*, 2006), atau berukuran antara 130-380 nm (Russell, 1974; Bovo & Florio 2008). Ketebalan kapsid adalah 15 nm dan diameter nukleoid adalah 210 nm (Aneer & Ljungberg, 1976; Nair *et al.*, 2023).

LCD sangat menciri dengan munculnya nodul atau bintil-bintil, baik





Gambar 5. 1. Sel lymphocystic yang terdapat pada bagian mesenterium dengan bagian usus yang terlihat jelas (H&E, perbesaran 10x); 2, 3. Sel lymphocystic (H&E, perbesaran 40x)

secara tunggal atau berkelompok, pada kulit, sirip, atau ekor (Alonso *et al.*, 2005; Iwakiri *et al.*, 2014; Lusiastuti *et al.*, 2022; Walker & Hill, 1980), Pirarat *et al.*, (2019) melaporkan adanya LCD pada organ visceral, dan Colorni & Diamant, (1995) melaporkan pada limpa dan lambung. LCD menyebabkan tampilan luar ikan yang terinfeksi menjadi kurang baik sehingga dapat menyebabkan kerugian ekonomi (Sihananto *et al.*, 2019; Lusiastuti *et al.*, 2022; Sumithra *et al.*, 2022). Melalui lesi patognomonik, diagnosis penyakit ini dapat dilakukan melalui metode histopatologi (Aly *et al.*, 2018; Castro *et al.*, 2014; Siva *et al.*, 2014; Pirarat *et al.*, 2011; dan Cheng *et al.*, 2022), namun tidak dapat menentukan jenis *lymphocystivirus* sebagai agen infeksi.

Diagnosis LCDV terutama didasarkan pada pengamatan gejala klinis yang mencolok yaitu berupa nodul berwarna putih sampai dengan krem atau tonjolan khas pada permukaan tubuh.

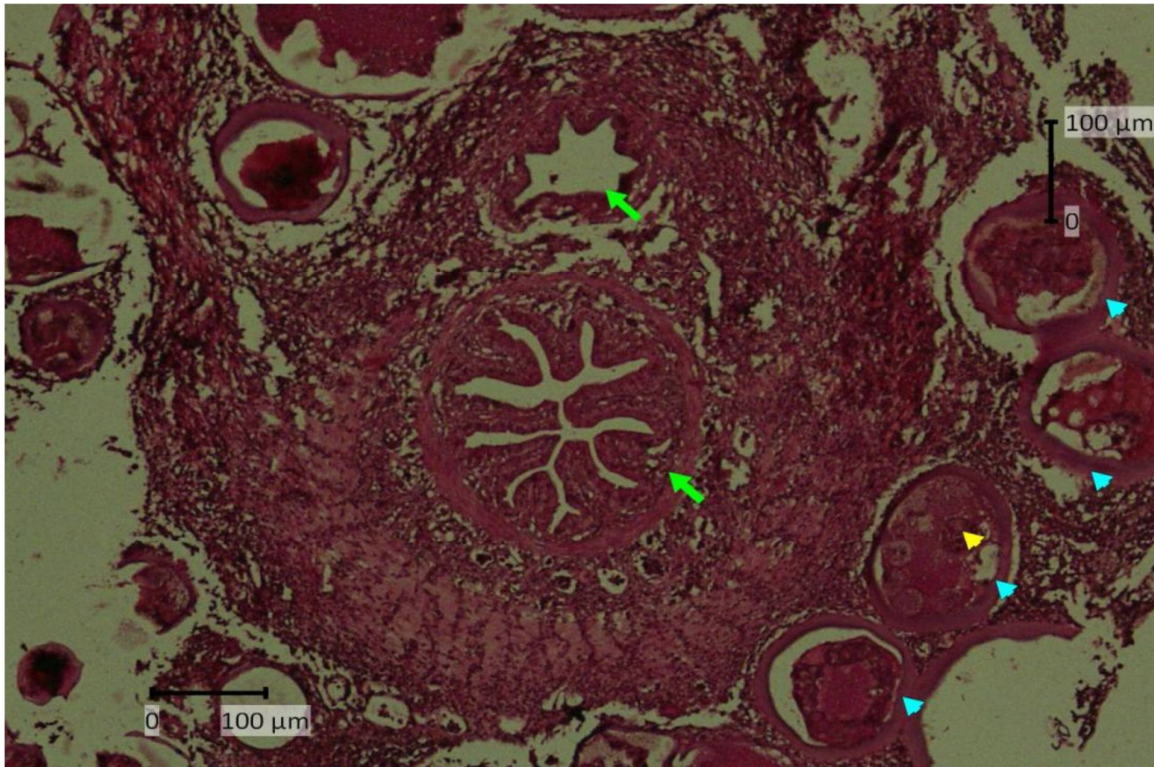
Penyakit *lymphocystic* dilaporkan menginfeksi lebih dari 125 spesies ikan termasuk 25 spesies laut, dalam 42 famili (Cano *et al.*, 2006; Sheng *et al.*, 2007; Cano *et al.*, 2009). Menurut Pirarat *et al.*, (2011) sel-sel yang terinfeksi pada ikan badut clownfish sejati (*A. percula*) memiliki sel dengan bentuk ireguler lebih dominan jika dibandingkan dengan yang terdapat pada ikan badut palsu *A. ocellaris*. Hal yang sama diungkapkan oleh Cheng *et al.*, (2022) pada ikan badut ocellaris (*A. ocellaris*) dan ikan badut clarkii (*A. clarkii*).

Temuan karakteristik infeksi LCDV ini mirip yang ditemukan pada ikan *Sarcocentrum rubrum* (Wachirachaipaisal & Limsuwan, 1985) dan *Chanda ranga* (Williams *et al.*, 1996) yang dilaporkan di Thailand (Pirarat *et al.*, 2011). Seperti pada *Sparus aurata* Linnaeus, 1758 di wilayah Mediterania (Cano *et al.*, 2006; 2009a; Shawky *et al.*, 2021), pada ikan paradise (*Macropodus opercularis*) (Xu *et al.*, 2014), dan pada ikan hias yang dipelihara di akuarium (Nigrelli & Ruggieri, 1965; Cedillo *et al.*, 2001; Sheng *et al.*, 2007).

Infeksi LCDV dengan gejala klinis yang sama ditemukan pada bagian luar tubuh, dan sirip seperti pada ikan *walleye* (Kitamura *et al.*, 2006), jaringan otot dekat kulit, dan juga pada organ visceral seperti yang telah diamati oleh Alexandrowicz, (1951); Nigrelli & Ruggieri (1965), Huizinga & Cosgrove (1973), Aneer & Ljungberg (1976), Schaperclaus (1992), Bangham & Hunter, (1939; dan Nigrelli & Smith (1939). Pirarat *et al.*, (2011) juga menemukan adanya sel *lymphocystis* pada ginjal bagian anterior dan badan ginjal serta pada organ limpa, meskipun temuan ini adalah merupakan hal yang cukup jarang (Alonso *et al.*, 2005; Cano *et al.*, 2006). Aneer & Ljungberg, (1976) melaporkan dari 42 ikan herring baltik (*Clupea harengus* var. *membras* L.) yang menunjukkan nodul pada permukaan

tubuh, 12 sampel menunjukkan infeksi pada bagian organ visceral dengan gejala lesi permukaan tubuh yang lebih ekstensif.

Sel *lymphocystis* diduga adalah merupakan fibroblast yang mengalami hipertrofi namun mungkin juga osteoblast yang menunjukkan perubahan hipertrofi (Nigrelli & Ruggieri, 1965). Menurut Neave, 1936 a, b, dan Van Oosten, 1957 menyatakan bahwa *Lymphocystis* hanya terjadi pada ikan yang memiliki sisik dan hal ini menarik bahwa sel-sel penyusun sisik disebut juga sebagai osteoblast, mengeluarkan “*hyalodentine*” yang merupakan bahan pembentuk permukaan luar dari sisik ikan. Hal ini menunjukkan hubungan langsung antara sel-sel pembentuk sisik dan perkembangan tumor (Howse & Christmas, 1970). LCDV adalah patogen oportunistik. LCDV dapat dengan mudah menginfeksi ketika ikan mengalami stres atau cedera. Stres akan menurunkan daya tahan tubuh ikan sehingga memudahkan infeksi LCDV. Pirarat *et al.*, (2011) menyatakan bahwa sel dengan *Lymphocystis* yang kronis menjadi tidak teratur dan rusak, nuklei menghilang, dan sitoplasma dilepaskan sebagian atau total. Penelitian yang dilakukan oleh Pirarat *et al.*, (2011); Mosharrof & Myung-Joo, (2011); dan Fautin & Allen, (1997) mengkonfirmasi bahwa hal ini adalah merupakan cara yang utama dari penyebaran penyakit LCDV ke ikan lain



Gambar 6. Sel lymphocystic yang terdapat pada mesenterium tampak kapsula hyaline (tanda panah biru), intestinum (anak panah hijau), dan nucleus (anak panah kuning) (H&E, perbesaran 10x)

terutama ikan didalam aquarium. Kondisi stres akibat padat tebar yang tinggi, defisiensi nutrisi, penurunan oksigen terlarut, dan kualitas air yang kurang optimal (Alonso *et al.*, 2005; Cano *et al.*, 2006), termasuk pencemaran air (Overstreet RM, 1988) dan fluktuasi suhu (Hossain *et al.*, 2009). Faktor penanganan juga dapat mempengaruhi infeksi LCDV (Alonso *et al.*, 2005; Paperna *et al.*, 1982; Mellergaard *et al.*, 1995; Cano *et al.*, 2006). Penularan LCD yang utama adalah secara horizontal melalui kontak langsung (Cano *et al.*, 2006), dan trauma eksternal (Alonso *et al.*, 2005). Faktor lain seperti pencemaran air (Golomazou, E &

Panagiotaki, P. 2018; Overstreet, 1988) dan kondisi stres yang disebabkan oleh padat tebar tinggi imbas budidaya intensif, serta lingkungan yang kurang mendukung (Labella *et al.*, 2019), kekurangan nutrisi, ataupun pengaruh penanganan (*handling*) dapat mendorong munculnya gejala LCD (Paperna *et al.*, 1982; Mellergaard & Nielsen, 1995; Alonso *et al.*, 2005; Cano *et al.*, 2006). Kemungkinan penularan juga dapat terjadi pada ikan dengan luka terbuka (Nigrelli & Ruggieri, 1965; Russell, 1974). *Artemia* merupakan media perantara bagi penularan virus LCD (Cano *et al.*, 2009; Valverde *et al.*, 2019). Derajat infeksi dan insidensi bervariasi berkaitan dengan

musim (Kitamura *et al.*, 2007), dan lingkungan (Golomazou, E. & Panagiotaki, P, 2018; Hadfield, 2021; Hick *et al.*, 2016; Russell, 1974), termasuk stres dan kontaminasi (Anderson & Conroy, 1968; Sindermann, 1970). Kisaran suhu 22-25°C adalah merupakan suhu optimal penularan penyakit ini terutama pada ikan tropis yang dipelihara di aquarium (Nigrelli & Ruggieri, 1965). Infeksi LCDV umumnya tidak mematikan dan bersifat kronis (Hossain *et al.*, 2007).

#### **4. KESIMPULAN DAN SARAN**

##### **4.1. Kesimpulan**

Uji histopatologi nodul pada permukaan tubuh ikan badut, *A. ocellaris* adalah merupakan sel lymphocystis yang mengalami hipertrofi dengan kapsul hialin halus yang tebal, nukleus yang membesar dengan kromatin basofilik pada bagian tepi dan badan inklusi intrasitoplasmik basofilik terutama pada area perifer sel. Temuan yang sama juga terdapat pada organ visceral terutama pada bagian mesenterium. Temuan ini merupakan yang pertama pada ikan badut *A. ocellaris* di Indonesia dan merupakan temuan lymphocystis pada bagian visceral (mesenterium) yang jelas.

##### **4.2. Saran**

Perlu dilakukan penelitian lanjutan terutama terkait deteksi dini pada kasus sub

klinis, serta strategi pencegahan yang paling tepat terutama potensi pengembangan vaksin.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Alexandrowicz, J.S. (1951). Lymphocystis tumours in the Red mullets (*Mullus surmuletus* L.). *Journal of the Marine Biological* Vol. 30. No. 2.
- Alonso, M.C., Cano, I., Garcia-Rosado, E., Castro, D., Lamas, J., & Barja, J.L. (2005). Isolation of lymphocystis disease virus (LCDV) from Sole (*Solea negalensis*) and Black Spot Sea Bream (*Pagellus bogaraveo*). *Journal of Fish Disease*, 28, 221-228.
- Aly, S. M., Mansour, S. M. & Thabet, R. Y. (2018). Pathological and molecular characterization of lymphocystis disease virus (LCDV) in sea bream fish in egypt. *Suez Canal Veterinary Medicine Journal SCVMJ*. 23:109-126.
- Anderson, J.I. & Conroy, D.A. (1968). The significance of disease in preliminary attempts to raise flatfish and salmonids in sea water. *Bull Off Int Epizoot.* 69(7-8):1129.
- Aneer, G & Ljungberg, O. (1976). Lymphocystis disease in Baltic herring (*Clupea harengus* var. *membras* L.). *Journal of Fish Biology*. Vol. 8. 5: 345-350. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1976.tb03963.x>
- Armed Forces Institute of Pathology. (1968). *Manual of Histologic and Special Staining Technics*, 3rd ed. McGraw-Hill Book Company, New York.
- American Veterinary Medical Association. (2020). AVMA guidelines for the Euthanasia of animals 2020 Edition.

- Bangham, R.V., & Hunter, H.W. (1939). Studies on fish parasites of lake Erie. distribution studies. *Zoologica*, 24: 383-448.
- Benkaroun, J., Bergmann, S. M., Römer-Oberdorfer A., Demircan, M.D, Tamer, C., Kachh, G.R, Weidmann, M. (2022). New Insights into Lymphocystis Disease Virus Genome Diversity. *Viruses*. 14(12):2741. <https://doi.org/10.3390/v14122741>.
- Borrego, J. J., Valverde, E. J., Labella, A. M., & Castro, D. (2015). *Lymphocystis disease virus: its importance in aquaculture*. *Reviews in Aquaculture*, 9(2), 179–193. doi:10.1111/raq.12131.
- Bovo, B. & Florio, D. (2008). *Viral Diseases of Cultured Marine Fish*. 1<sup>st</sup> Ed. CRC Press. P. 54.
- Bucke, D. (1986). A short note on a rare occurrence of Lymphocystis in Dover sole *Solea solea* L. *Bull. Eur. Ass. Fish pathol.* 6 (1), 7.
- [Bunkley-Williams, L.](#), [Grizzle, J.M.](#), & [Williams Jr, E.H](#) (1996). First Report of Lymphocystis in the Family Gerreidae: Caitipa Mojarras *Diapterus rhombeus* from La Parguera, Puerto Rico. *Journal of Aquatic Animal*. Vol. 8, 2:176-179. [Doi.org/10.1577/15488667\(1996\)008<0176:FROLIT>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1577/15488667(1996)008<0176:FROLIT>2.3.CO;2)
- Cano, I., Ferro, P., Alonso, M.C., Bergmann, S.M., Romer-Oberdorfer, A., Garcia-Rosado, E., Castro, D, & Borrego, J.J. (2006). Development of molecular techniques for detection of lymphocystis disease virus in different marine fish species. *Journal Applied Microbiology*. 102, 32–40.
- Cano, I., Alonso, M.C., Garcia-Rosado, E., Saint-Jean S.R., Castro, D., & Borrego, J.J. (2006). Detection of lymphocystis disease virus (LCDV) in asymptomatic cultured gilt-head seabream (*Sparus aurata* L.) using an immunoblot technique. *Veterinary Microbiology*, 113, 137-141.
- Cano, I., Lopez-Jimena, B, Garcia-Rosado, E., Ortiz-Delgado, J.B., Alonso, M.C., Borrego, J.J., Sarasquete, C., & Castro, D. (2009). Detection and persistence of lymphocystis disease virus (LCDV) in *Artemia* sp. *Aquaculture*. 291, 230–236.
- Carballo, C., Castro, D., Borrego, J. J., & Manchado, M. (2017). Gene expression profiles associated with lymphocystis disease virus (LCDV) in experimentally infected Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Fish & Shellfish Immunology*, 66, 129–139. doi:10.1016/j.fsi.2017.04.028.
- Castro, T., Mateo, E & Sierralta, V. (2018). Lymphocystic disease in the clown fish *Amphiprion ocellaris* (Perciformes, Pomacentridae), first report in Peru. *The Biologist* (Lima). Vol. 12, No.2.
- Cordero, H., Cuesta, A., Meseguer, J. & Esteban, M.A. (2016). Characterization of the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) immune response under a natural lymphocystis disease virus outbreak. *Journal of Fish Diseases* 2016 doi:10.1111/jfd.12481.
- Cheng, M.C., See, M.S., Wang, P.C., Kuo, Y.T., Ho, Y.S., Chen, S.C., & Tsai, M.A. (2022). Lymphocystis disease virus infection in clownfish *Amphiprion ocellaris* and *Amphiprion clarkii* in Taiwan. *Animals* 2023, 13, 153. <https://doi.org/10.3390/ani13010153>.
- Cherif N, Amdouni F, Maatoug K, Zaafran S (2020) Case Report: First occurrence of Lymphocystis disease virus 3 (LCDV-Sa) in Wild Marine Fish in Tunisia. *Ann*

- Mar Sci* 4(1): 024-029. DOI: <https://dx.doi.org/10.17352/ams.000022>
- Ciulli, S., Pinheiro, A. C. de A. S., Volpe, E., Moscato, M., Jung, T. S., Galeotti, M., Prospero, S. (2015). Development and application of a real-time PCR assay for the detection and quantitation of lymphocystis disease virus. *Journal of Virological Methods*, 213, 164–173. doi:10.1016/j.jviromet.2014.11.01.
- Cheng, M., See, M.S., Wang, P., Kuo, Y., Ho, Y., Chen, S., & Tsai, M. (2022). Lymphocystis Disease Virus Infection in Clownfish *Amphiprion ocellaris* and *Amphiprion clarkii* in Taiwan. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 13. DOI:[10.3390/ani13010153](https://doi.org/10.3390/ani13010153)
- Christmast, J.Y., & Howse, H.D. (1970). The occurrence of lymphocystis in *Micropogon undulatus* and *Cynoscion arenarius* from Mississippi Estuaries. *Gulf Res. Rep.*, 3(1).
- Chung, C. K., Kim, B.G., Jung, H. W & Jung, S. J. (2015). Identification of antigenic proteins of lymphocystis disease virus (LCDV) by MALDI-TOF mass spectrometry. *J. Fish Pathol.*, 28(3): 133~143 <http://dx.doi.org/10.7847/jfp.2015.28.3.133>
- Colorni, A., & Diamant, A. (1995). Short communication: splenic and cardiac lymphocystis in the red drum, *Sciaenops ocellatus* (L.). *Journal of Fish Diseases* 1995. 18, 467-471.
- Darai, G., Anders, K., Koch, H.G., Delius, H., Gelderblom, H., Samalecos, C., & Flugel, R.M. (1983). Analysis of the genome of fish lymphocystis disease virus isolated directly from epidermal tumours of pleuronectes. *Virology* 126, 466–479.
- Doszpoly, A., Kaján, G.L., Puentes, R., & Perretta, A. (2020). Complete genome sequence and analysis of a novel lymphocystivirus detected in whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*): lymphocystis disease virus 4. *Archives of Virology*, 165, 1215 - 1218. DOI:[10.1007/s00705-020-04570-1](https://doi.org/10.1007/s00705-020-04570-1).
- Fautin, D.G. & Allen, G.R. (1997). *Anemone Fishes and their host sea anemones*. Minneapolis, USA: Voyageur Press, 160 pp.
- Genten, F., Terwinghe, E., & Danguy, A. (2009). *Atlas of Fish Histology*. CRC Press.
- Golomazou, E., & Panagiotaki, P. (2018). Lymphocystis Disease Virus (LCDV) in Aquatic Environment. *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences*. doi:10.1016/b978-0-12-409548-9.10968-6.
- Hadfield, C. A. (2021). *Viral Diseases. Clinical Guide to Fish Medicine*, 407–430. doi:10.1002/9781119259886.ch24.
- Hick, P., Becker, J., & Whittington, R. (2016). *Iridoviruses of Fish. Aquaculture Virology*, 127–152. doi:10.1016/b978-0-12-801573-5.00008-5.
- Hossain, M, Song J.Y, Kitamura S.I, Jung S.J, & Oh M.J. (2008). Phylogenetic analysis of lymphocystis disease virus from tropical ornamental fish species based on a major capsid protein gene. *Journal of Fish Disease*, 31: 473-479.
- Hossain, M., Song, J.Y., Kitamura, S.I., Jung, S.J., & Oh, M.J. (2009). Phylogenetic analysis of lymphocystis disease virus from tropical ornamental fish species based on a major capsid protein gene. *Journal of Fish Disease*, 31, 473-479.

- Hossain, M, Jung, S.J, Kim, W.S, Kim, S.R, & Oh, M.J. (2009). Comparison of lymphocystis disease virus proteins between marine and freshwater fish. *Journal of Fish Pathology*, 22(2): 173-177.
- Howse, H.D. & Christmas, J.Y. (1970). Lymphocystis tumors: histochemical identification of hyaline substances. *Trans. Amer. Microsc. Soc.* 89, 276-282.
- Huang, X., Huang, Y., Xu, L., Wei, S., Ouyang, Z., Feng, J & Qin, Q. (2015). Identification and characterization of a novel lymphocystis disease virus isolate from cultured grouper in China. *Journal of Fish Diseases* 2015, 38, 379–387 doi:10.1111/jfd.12244
- Huizinga, H.W. & Cosgrove, G.E. (1973). Surface and visceral lymphocystis disease in a white crappie (*Pomoxis annularis*). *Journal of Wildlife Diseases* 9, 349-351.
- Ignatius, B, Rathore, G, Jagdis, I, Kandasami D, & Victor, A.C. (2001). Spawning, and larval rearing technique for tropical clownfish *Amphiprion sebae* under captive conditions. *J Aquac Tropic*, 16(3): 241-249.
- Iwakiri, S., Song, J., Nakayama, K., Oh, M., Ishida, M., & Kitamura, S. (2014). Host responses of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* with lymphocystis cell formation. *Fish & shellfish immunology*, 38 2, 406-11. DOI:[10.1016/j.fsi.2014.03.028](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.03.028).
- Kawato, S., Nozaki, R., Hirono, I., & Kondo, H. (2021). Genome sequence of lymphocystis disease virus 2 LCDV-JP\_Oita\_2018, Isolated from a diseased Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) in Japan. *Microbiology Resource Announcements*, 10. DOI:[10.1128/MRA.00547-21](https://doi.org/10.1128/MRA.00547-21).
- Kitamura, S.I., Jung, S.J., Kim, W.S., Nishizwa, T., Yoshimizu, M, & Oh, M.J. (2006). A new genotype lymphocystis, LCDV-RF, from lymphocytes diseased rockfish. *Archives of Virology*, 151(3), 607-615.
- Kitamura, S.I., Ko, J.Y., Lee, W.L., Kim, S.R., Song, J.Y., Kim, D.K., Jung, S.J & Oh, M.J. (2007). Seasonal prevalence of lymphocystis disease virus and aquabirnavirus in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* and blue mussel, *Mytilus galloprovincialis*. *Aquaculture*. 266. 26-31. DOI. 10.1016/j.aquaculture.2007.02.034.
- Labella, A.M., Leiva-Rebollo, R., Alejo, A., Castro, D. & Borrego, J.J. (2019). Lymphocystis disease virus (LCDV-Sa), polyomavirus 1 (SaPyV1), and papillomavirus 1 (SaPV1) in samples of Mediterranean gilthead seabream. *Dis Aquat Org.* Vol. 132: 151–156. <https://doi.org/10.3354/dao03311>
- Lam, C., Khairunissa., Damayanti, L., Kurobe, T., Teh, S.J., Pfahl, H., Rapi, S., Janetski, N., & Baxa, D.V. (2020). Detection of new strain of lymphocystis disease virus (LCDV) in captive-bred clownfish *Amphiprion percula* in South Sulawesi, Indonesia. *Aquaculture International*, 28, 2121-2137. <https://doi.org/10.1007/s10499-020-00581-6>.
- Le Deuff, R.M. & Renault, T. (1993). Lymphocystis outbreaks in farmed seabream, *Sparus aurata*, first report on French Mediterranean coast. *Bulletin of European Association of Fish Pathology*, 13, 130-133.
- Liversidge, J. & Munro, A.L.S. (1978). In: *Fish Pathology* (ed. by R.J. Roberts), pp 128-130. Bailliere Tindall, London.

- López-Bueno, A., Mavian, C.N., Labella, A.M., Castro, D., Borrego, J.J., Alcamí, A., & Alejo, A. (2016). Concurrence of Iridovirus, Polyomavirus, and a Unique Member of a New Group of Fish Papillomaviruses in Lymphocystis Disease-Affected Gilthead Sea Bream. *Journal of Virology*, 90, 8768 - 8779. DOI:[10.1128/JVI.01369-16](https://doi.org/10.1128/JVI.01369-16).
- Lusiastuti, A.M. Sihananto, B.S., Wianty, C., Putri, A.W.M, & Penataseputro, T. (2022). Etiology, Detection and control of pearl tumor disease on snakehead, *Channa striata*. Prosiding Seminar Nasional Ikan XI. DOI:<https://doi.org/10.32491/Semnasikan-MII-2022-p.1-7>
- Marcogliese, D.J., Fournier, M., Lacroix, A., & Cyr, D.G. (2001). Non-specific immune response associated with infections of lymphocystis disease virus in American plaice, *Hippoglossoides platessoides* (Fabricius). *Journal of Fish Disease*. Vol. 24. 121-124. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2001.00268.x>
- Møllergaard S, & Nielsen E. (1995). Impact of oxygen deficiency on the disease status of common dab *Limanda limanda*. *Dis Aquat Organ*. 22: 101-114.
- Mosharraf H, & Myung-Joo O. (2011). Histopathology of marine and freshwater fish lymphocystis disease virus (LCDV). *Sains Malaysiana* 2011; 40(10): 1049-1052.
- Murwantoko, Wijayanti, E., Agustatik, S., Valianti, H., Yulanda, LK., & Nur Nukmah, L.F. Detection and genotype determination of lymphocystis disease virus infecting orange clownfish, *Amphiprion percula* Farmed in Batam, Indonesia. *Indonesian Aquaculture Journal*, 17 (2), 2022, 165-172. DOI:<http://dx.doi.org/10.15578/iaj.17.2.2022.165-172>.
- Nair, R.R., John, K.R., Krishnan, R., Gopi, A., & Safeena, M.P. (2023). PCR detection and phylogenetic analysis of the major capsid protein gene of Lymphocystis disease virus from cultured Asian seabass (*Lates calcarifer* Bloch, 1790) along the west coast of Kerala, India. *Aquaculture International*. DOI:[10.1007/s10499-023-01203-7](https://doi.org/10.1007/s10499-023-01203-7)
- Neave, F. (1936a). Origin of the teleost scale-pattern and the development of the teleost scale. *Nature (Lond.)*, 137: 1034-1035.
- Neave, F. 1936b. The development of the scales of *Salmo*. *Trans. Roy. Soc. Can., Sect. V*, 30: 55-72.
- Neave F. (1936b) The development of the scales of *Salmo.r.* *Trans. Sot. Can.* 5, 55.-72
- Nigrelli, R.F. & Ruggieci, G.D. (1965). Studies in virus diseases of fishes. Spontaneous and experimentally induced cellular hypertrophy (Lymphocystis disease) in fishes of the New York Aquarium with a report of a new cases and an annotated bibliography (1874-1965). *Zoologica*, 50: 83-96.
- Nigrelli, R.F, & Smith, G.M. (1939). Studies in lymphocystis disease in the orange filefish, *Ceratacanthus schoepfi* (Walbaum), from Sandy Hook Bay, N. J. *Zoologica*, 24: 255-266.
- Oh, M.J., Kim, W.S., Kitamura, S.I., Lee, H., Son, B.W, & Jung, T.S. (2006). Change of pathogenicity on olive flounder, *Paralichthys olivaceus* by Co-Infection of *Vibrio harveyi*, *Edwardsiella tarda*, and marine birna virus. *Aquaculture*, 257: 156-160.



- Overstreet, R.M. (1988). Aquatic pollution problems, Southeastern U.S. Coast: histopathological indicator. *Aquat. Toxicol.* 11, 213–239.
- Paperna, I., Sabnai, I., & Colorni, A. (1982). An outbreak of lymphocystis in *Sparus aurata* L. In the Gulf of Aqaba, Red Sea. *Journal of Fish Disease.* 5, 433–437.
- Pekmez, K., M. Kaplan, A.A. Çağırğan, F. Arslan, B. Kafa, & G. Kalaycı. (2022). Molecular characterization of lymphocystis disease virus detected from sea bream in Turkey. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 42 (2): 46–58. <https://doi.org/10.48045/001c.38086>
- Peters, N., & Schmid, W. (1995). Formation and disintegration of virions in lymphocystis cells of plaice *Pleuronectes platessa*. *Dis. Aquat. Org.* Vol. 21: 109–113.
- Pirarat, N., Pratakpiriya, W., Jongnimitpaiboon, K., Sajjawiriyakul, K., Rodkhum, C., & Chansue, N. (2011). Lymphocystis disease in cultured false clown anemone fish (*Amphiprion ocellaris*). *Aqua-culture*, 315, 414–416.
- Qin, W.Q., Gin, K.Y., Lee, L.Y., Gedaria, A.I., & Zhang, S. (2006). Development of cytometry-based method for rapid and sensitive detection of a novel marine fish iridovirus in cell culture. *Journal of Virology Methods*, 125, 49–54.
- Ross, R.M. (1978). Territorial behaviour and ecology of the anemone fish *Amphiprion melanopus* on Guam. *Z Tierpsychol.* 46: 71–83.
- Russel, P.H. (1974). Lymphocystis in wild place *Pleuronectes platessa* (L.), and flounder *Platichthys flesus* (L.) in British coastal waters: a histopathological and serological study. *Journal of Fish Biology* 6: 771–778.
- Sahoo, P.K., & Goodwin, A.E. (2012). Viruses of freshwater finfish in the Asian–Pacific Region. *Indian Journal of Virology*, 23, 99 – 105.
- Schaperclaus, W. (1992). *Fish Diseases*. Volume I dan 2, A.A. Balkema, Rotterdam, p 525.
- Shahi, N., Mallik, S. K., Kala, K., Joshi, N., Patiyal, R. S., Chandra, S., Singh, S & Sarma, D. (2020). Seasonal emergence of benign epidermal tumor in farm-reared adult grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) caused by lymphocystis disease virus at Uttarakhand, India. *Aquaculture*, 735408. doi:10.1016/j.aquaculture.2020.7.
- Shawky, M., Taha, E., Ahmed, B.M., Mahmoud, M.A., Abdelaziz, M., Faisal, M., & Yousif, A. (2021). Initial Evidence That Gilthead Seabream (*Sparus aurata* L.) Is a Host for Lymphocystis Disease Virus Genotype I. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 11. DOI:[10.3390/ani11113032](https://doi.org/10.3390/ani11113032).
- Sheng, X.Z., & Zhan W.B. (2006). Histopathological studies on the target organs of lymphocystis disease virus of fish. *Periodical Ocean University of China* 2006; 36: 749–753.
- Sheng, X.Z., Zhan, W.B., Xu, S.J., & Cheng, S.F. (2007). Histopathological observation of lymphocystis disease and lymphocystis disease virus (LCDV) detection in cultured. *Research* 6 (4), 378–382.
- Sihananto, B.S., Novita, H., Wianty, C., & Lusiastuti, A.M. (2019). A Case Study of Lymphocystis Virus Disease in Farmed Giant Snakehead (*Chana striata*) in Mandiangin, South Kalimantan. *Indonesian Aquaculture Journal*, 14(2),

- 75-81. <https://doi.org/10.15578/iaj.14.2.2019.75-81>.
- Sindermann, C.J. (1970). *Principal diseases of marine fish and shellfish* .52-57., Academic press. New York.
- Siva, M.U., Marudhupandi, T., Haq, M.A.B, & Kumar, T.T.A. (2014). Histopathological study of lymphocystis disease virus (LCDV) in cultured false clownfish, *Amphiprion ocellaris* (Cuvier, 1830) and true clownfish, *Amphiprion percula* (Lacepede, 1802) *Journal of Coastal Life Medicine*. 2014; 2(4): 264-269.  
Doi:10.12980/JCLM.2.2014APJTD-2014-0016.
- Smail, D.A. (1979). Studies on the identification and characterisation of certain fish viruses with special reference to lymphocystis and piscine erythrocytic necrosis (PEN) viruses. University of Plymouth. Theses.
- Sumithra, T.G., Krupesha Sharma, S.R., Neelima, L., Dhanutha, N.R., Joshy, A., Anusree, V.N., Gayathri, S., Raghu, R., Praveen, N.D., Thomas, S., & Rajesh, K.M. (2022). Red sea bream iridovirus infection in cage farmed Asian sea bass (*Lates calcarifer*): Insights into the pathology, epizootiology, and genetic diversity. *Aquaculture*.  
DOI:[10.1016/j.aquaculture.2021.737571](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737571)
- Tidona, C.A, & Darai, G. (1997). The Complete DNA Sequence of Lymphocystis Disease Virus. *Virology* 230, 207–216.
- Valverde, E.J., Cano, I., Labella, A.M., Borrego, J.J., & Castro, D. (2016). Application of a new real-time polymerase chain reaction assay for surveillance studies of lymphocystis disease virus in farmed gilthead seabream. *BMC Veterinary Research*, 12.
- Valverde, E.J., Borrego, J.J., Sarasquete, M.C., Ortiz- Delgado, J.B., & Castro, D. (2017). Target organs for lymphocystis disease virus replication in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Veterinary Research*, 48, 21.
- Valverde, E.J., Labella, A.M., Borrego, J.J. & Castro, D. (2019). *Artemia* spp., a Susceptible Host and Vector for Lymphocystis Disease Virus. *Viruses: An Open Access Journal from MDPI*. 11.506; doi:10.3390/v11060506.
- Van Oosten J. (1957). *The skin and scales*. In: The physiology of fishes. Vol. 1. Brown M.E. (ed.). Academic Press. New York. pp 207-244.
- Vijayapoopathi, S., Ayyaru, G., Kuzhanthavel, R., & Syed, A. (2016). Lymphocystis in Indian oil sardine, *Sardinella longiceps* (Valenciennes 1847). *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 6(8), 611–614. doi:10.1016/s2222-1808(16)61095-2.
- Volpe, E., Errani, F., Mandrioli, L., & Ciulli, S. (2023). Advances in Viral Aquatic Animal Disease Knowledge: The Molecular Methods' Contribution. *Biology*, 12. DOI:[10.3390/biology12030466](https://doi.org/10.3390/biology12030466)
- Wachirachaipaisal, N., & Limsuwan, C. (1985). Study on lymphocystis disease in red soldier fish (*Sarcocentrum rubrum*). Conference on the living aquatic resources. Bangkok, pp. 7–8. March 1985.
- Walker R. (1962). Fine Structure of lymphocystis disease virus in fish. *Virology* 1962; 18: 503-505.

- Walker, R., & Wolf, K. (1962). Virus array in lymphocystis cells of sunfish. *Am Zool*, 2: 566.
- Walker, R. (1965). Viral DNA and cytoplasmic RNA in lymphocystis cells of Fish in "viral Diseases of poikilothermic vertebrates" *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 126: 375.
- Walker, R., & Weissenberg. (1965). Conformity of light and electron-microscopic studies on virus particle distribution in lymphocystis cells of fishes in "Viral Diseases of Poikilothermic Vertebrates" *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 126:386
- Walker, R., & Hill, B.J. (1980). Studies on the culture assay of infectivity and some in vitro properties of lymphocystis virus. *J. Gen. Virol.* 51, 385–395.
- Weissenberg, R. (1965). Fifty Years of research on the lymphocystis disease of fishes (1914-1964). *Ann N Y Acad Sci.* 126: 362-374.
- Welling, S.R. (1970). Biology of some virus diseases of marine fish. A Symposium of the American Fisheries Society on Diseases of Fishes and Shellfishes (ed. S.F. Snieszko). *Spec. Publ. Am. Fish. Soc.* (5): 296-306.
- Williams Jr., E.H., Grizzle, J.M. & Bunkley-Williams, L. (1996). Lymphocystis In Indian glassfish *Chanda ranga* imported from Thailand to Puerto Rico. *J. Aquat. Anim. Health* 8, 173–175. Doi.org/10.1577/1548-8667(1996)008%3C0173:LIIGCR%3E2.3.CO;2
- Woodcock, H.M. (1904). Note on a remarkable parasite of plaice and flounder. *Proc. Trans. L'Pool Biol. Soc.* 18: 143
- Wolf, K. (1988). Lymphocystis disease. In: Wolf K, editor. Fish viruses and fish viral diseases. Ithaca: Comstock Pub Assoc.
- Wu, R.-H., Tang, X.-Q., Sheng, X.-Z., & Zhan, W.-B. (2015). Tissue distribution of the 27.8 kDa receptor and its dynamic expression in response to lymphocystis disease virus infection in Flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Journal of Comparative Pathology*, 153(4), 324–332. doi:10.1016/j.jcpa.2015.10.176.
- Xu, L., Feng, J., & Huang, Y. (2014). Identification of lymphocystis disease virus from paradise fish *Macropodus opercularis* (LCDV-PF). *Archives of Virology*, 159, 2445-2449. DOI:10.1007/s00705-014-2060-0.
- Zhang, Q.Y., Xiao, F., Xie, J., Li, Z.Q., & Gui, J.F., (2004). Complete genome sequence of lymphocystis disease virus isolated from China. *J. Virol.* 78(13), 6982–6994.
- Zhang H, Sheng X, Tang X, Xing J, Chi H and Zhan W (2023) Transcriptome analysis reveals molecular mechanisms of lymphocystis formation caused by lymphocystis disease virus infection in flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Front. Immunol.* 14:1268851. doi: 10.3389/fimmu.2023.1268851.
- Zheng, F., Liu, H., Guo, X., & Wang, B. (2016). Isolation and identification of a new isolate of lymphocystis disease virus isolated from black rockfish (*Sebastes schlegelii*) in China. *Aquaculture*, 451, 340-344. DOI:10.1016/J.AQUACULTURE.2015.09.026.
- Zhong, Y., Fei, C., Tang, X., Zhan, W. & Sheng, X. (2017). A 32 kDa viral attachment protein of lymphocystis disease virus (LCDV) specifically interacts with a 27.8 kDa cellular

receptor from flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Journal of General Virology*. 98:1477–1488 DOI 10.1099/jgv.0.000805.

Zwillenberg L.D, & Wolf, K. (1962). Ultrastructure of lymphocystis virus. *J Virol* 1968; 2: 393-399.