

Determination of Florfenicol Residues in the Edible Tissue of Shrimp Reared in Bushehr Province's Farms (Iran)

Nima Shiry^{1,2*}, Negin Derakhshesh^{1,3}, Ahmad Rahbar¹

¹ Expert, Iran Fisheries Organization, Administration of Khuzestan Province, Abadan, Iran

² Ph.D. in Aquatic Animal Health, Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

³ Ph.D. in Marine Animals Biology, Department of Marine Biology, Faculty of Ocean and Marine Sciences, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran

Received: 20 April 2021 Accepted: 2 May 2021

Abstract

Background and Aim: The health quality of seafood products can be a decisive factor to achieve business prosper and development of global marketing. For this purpose, the present study intends to determine the residues of florfenicol antimicrobial agent in the edible tissue (muscle) of Whiteleg shrimp reared in Bushehr Province's farms.

Methods: 50 Whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) were purchased freshly from 7 farms in regions Helleh, Delvar, Dayyer, Deylam, Sheef, Genaveh, and Mond of Bushehr Province. The samples from abdomen muscle kept at -18 °C until the residues drug tests were performed. The florfenicol concentration was measured through high-performance liquid chromatography (HPLC).

Results: The mean of florfenicol residues in Whiteleg shrimp muscle reared in Bushehr Province was significantly lower than the drug products evaluation standard value (1 µg/g).

Conclusion: Therefore, the daily consumption of the Whiteleg shrimp reared in this region has no health ban in terms of florfenicol accumulation.

Keywords: Drug Residues, Florfenicol, Product Health, Whiteleg Shrimp (*Litopenaeus Vannamei*).

*Corresponding author: Nima Shiry, Email: nimashiry@yahoo.com

Address: Khuzestan Province, Abadan, Helale Bereim, Shohadaye Hasteyee Blv, Iran Fisheries Organization, Administration of Khuzestan Province, Postal code: 71345-1978.

تعیین فلورفنیکل باقیمانده در بافت خوراکی میگوی پرورشی استان بوشهر

نیما شیرینی^{۱*}، نگین درخشش^{۱،۳}، احمد رهبر^۱

^۱ کارشناس، معاونت صید و بنادر ماهیگیری، اداره کل شیلات استان خوزستان، آبادان، ایران

^۲ دانش‌آموخته دکتری تخصصی بهداشت آبزیان، بخش علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

^۳ دانش‌آموخته دکتری تخصصی زیست شناسی جانوران دریایی، گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۰۱/۳۱ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۰۲/۱۲

چکیده

زمینه و هدف: کیفیت بهداشتی یک محصول دریایی می‌تواند نقش تعیین کننده‌ای در موفقیت کسب و کار و توسعه بازار جهانی داشته باشد. بدین منظور، در مطالعه حاضر، باقیمانده داروی آنتی‌باکتریال فلورفنیکل در بافت خوراکی (ماهیچه) میگوی پرورشی در مزارع استان بوشهر تعیین گردید.

روش‌ها: تعداد ۵۰ قطعه میگو پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) از ۷ مزرعه در مناطق حله، دلووار، دیر، دیلم، شیف، گناوه، و موند استان بوشهر در سال ۱۳۹۷ به صورت تازه خریداری شد. نمونه‌های برداشته شده از بخش شکمی میگو تا زمان انجام تست‌های باقیمانده دارویی، در دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شدند. سنجش غلظت فلورفنیکل از طریق کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) به انجام رسید.

یافته‌ها: میانگین باقیمانده فلورفنیکل در میگو پرورشی استان بوشهر به طور معنی‌داری کمتر از مقدار استاندارد ارزیابی محصولات دارویی (برابر با ۱ میکروگرم بر گرم) است.

نتیجه‌گیری: طبق یافته‌های مطالعه حاضر، مصرف روزانه میگوی پرورشی در مزارع استان بوشهر، فاقد منع بهداشتی از نظر انباشتگی فلورفنیکل است.

کلیدواژه‌ها: باقیمانده دارویی، فلورفنیکل، سلامت محصول، میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*).

* نویسنده مسئول: نیما شیرینی. پست الکترونیک: nimashiry@yahoo.com

آدرس: استان خوزستان، آبادان، هلال بریم، بلوار شهدای هسته‌ای، اداره کل شیلات استان خوزستان، معاونت صید و بنادر ماهیگیری، گروه امور صید، واحد آمار. کد پستی: ۷۱۳۴۵-۱۹۷۸.

مقدمه

با وجود اینکه همه‌گیری‌های ویروسی، مهمترین مسئله عفونی در صنعت میگوی کشور هستند (۱)، اما بیماری‌ها با منشأ باکتریایی شامل ویبریوزیس، میگوهای درخشان، سندرم لکه سیاه و حتی نکروز هپاتوپانکراسی (NHP) نیز با ایجاد تلفات قابل توجه، می‌توانند زیان‌های اقتصادی چشمگیری را برای بهره‌برداران میگو به دنبال داشته باشند (۲). از این‌رو، عموماً حفظ سرمایه از اولویت بیشتری نسبت به حفظ کیفیت بهداشتی محصول برخوردار است، و مصرف بی‌رویه و بدون نسخه آنتی‌بیوتیک‌ها دور از ذهن نیست (۳). در واقع بکارگیری نادرست این گروه از داروهای دامپزشکی احتمال بروز مشکلاتی را در بهداشت عمومی افزایش می‌دهد (۴). بیماری‌های باکتریایی اشاره شده، معمولاً بخشی از فلور آب و بدن میگو تلقی می‌شوند و غالباً به دو شکل درمانگاهی، شامل ایجاد ضایعه موضعی در کوتیکول (بیماری جلدی) و عفونت سیستمیک همراه با گندخونی (Septicemia)، دیده می‌شوند (۵). مهمترین باکتری‌های بیماری‌زا در سخت‌پوستان، اعضای خانواده ویبریوناسه (Vibrionaceae) هستند. ویبریوزیس که مهمترین عوامل ایجادکننده آن *V. anguillarum*, *Vibrio alginolyticus* و *V. parahaemolyticus* هستند، گسترش جهانی داشته و در مزارع پرورش میگو، دریاها، خلیج‌ها و خورها دیده می‌شوند. گونه‌هایی نظیر *V. splendidus* و *V. harveyi* را می‌توان از عمده‌ترین عوامل بیماری میگوهای درخشان به شمار آورد (۶).

در میان آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف مورد مصرف در کلینیک‌های دامپزشکی، فلورفنیکل یکی از شناخته‌شده‌ترین‌ها است. این آنتی‌بیوتیک برای رسیدن به اهداف بالینی، از انتشار رضایت بخشی در بافت‌های میزبان برخوردار است. علیرغم وجود بسیاری از مزیت‌ها به نسبت انواع هم خانواده خود نظیر کلرامفنیکل و تیامفنیکل، انباشتگی فلورفنیکل در محصول، همچنان می‌تواند برای مصرف‌کنندگان آبزیان نامطلوب باشد (۷). فلورفنیکل واجد یک اثر مهار (Inhibitory effect) بر همه باکتری‌ها و به ویژه بر جمعیت‌های ویبریو است. حتی زمانی که باقیمانده آن در رسوبات به شکل فرم فعال وجود دارد، می‌تواند در فلور میکروبی بستر استخر تغییر ایجاد کند. نتایج بررسی باقیمانده آنتی‌بیوتیک‌های پر مصرف (فلورفنیکل و اکسی تتراسایکلین) در رسوبات استخرهای پرورشی میگو در کشور اکوادور نشان داد که تعداد کولونی‌های ویبریو در طول دوره درمانی کاهش می‌یابد. اگرچه مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جمعیت‌های باکتریایی جدا شده از رسوبات بستر، از جمله گونه ویبریو تایید شد (۸). مطالعه فارماکولوژی فلورفنیکل در میگوی پا سفید غربی یا وانامی (*Litopenaeus vannamei*) حاکی از پخش گسترده و حذف سریع این دارو از هپاتوپانکراس نسبت به سایر ارگان‌ها و بافت‌های بدن بود (۹).

مسئله باقیمانده آنتی‌بیوتیک‌ها و موادشیمیایی پیشگیری‌کننده از ملانوز در میگوها در سطح بازار جهانی بسیار جدی است. به

طوری که برای نمونه، دست کم ۷۰ درصد نمونه‌های میگو که در فروشگاه‌های آمریکا عرضه می‌شود، دارای مقادیر باقیمانده آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند کلرامفنیکل، و نزدیک به نیمی از نمونه‌ها دارای سولفیت تشخیص داده شدند. اگرچه این مقادیر در محدوده قابل پذیرش سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA: Food and drug administration) قرار داشتند (۴). در ایران نیز به موضوع باقیمانده‌های آنتی‌بیوتیکی در میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) توجه شده و در یک مطالعه میزان کلرامفنیکل، نیتروفران و فورازولیدین کمتر از حداکثر مقادیر توصیه شده در خط مشی‌های کدکس (Codex) تعیین گردیده است (۱۰). نظر به اینکه کیفیت بهداشتی یک محصول دریایی می‌تواند نقش تعیین‌کننده‌ای در موفقیت کسب و کار و توسعه بازار جهانی داشته باشد، و بیش از ۸۵ درصد محصول میگوی وانامی تولیدی ایران به کشورهای خارجی (اروپا، روسیه و چین) صادر می‌شود (۱۱)، در تحقیق پیش رو، باقیمانده داروی آنتی‌باکتریال فلورفنیکل درون بافت خوراکی (ماهیچه) میگوی پرورشی در مزارع استان بوشهر، به عنوان قطب پرورش میگوی کشور، تعیین گردید. این در حالی است که در دو دهه گذشته ضمن توسعه چشمگیر پرورش میگوی وانامی در کشور و جایگزینی تدریجی آن با گونه سفید هندی، به دلیل توجه بیش از حد به کنترل همه‌گیری ناشی از سندرم لکه سفید (WSS: White spot syndrome)، نوعی کمبود در تحقیقات حوزه باقیمانده آنتی‌بیوتیکی در میگو و کنترل بهداشتی این محصول، ایجاد شده است.

روش‌ها

تعداد ۵۰ قطعه میگوی پا سفید غربی یا وانامی (*Litopenaeus vannamei*) از ۷ مزرعه در مناطق حله، دلوار، دیر، دیلم، شیف، گناوه، و موند استان بوشهر (به ترتیب کدهای A الی G)، در فاصله زمانی آبان الی اسفند ۱۳۹۷ به صورت زنده خریداری شد و با سرد کردن با کمک یخ، بیهوشی عمیق القا شد. نمونه‌برداری از ماهیچه شکمی صورت گرفت و نمونه‌ها تا زمان انجام تست‌های باقیمانده دارویی در دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شد (۱۲).

روش آماده‌سازی نمونه‌ها و سنجش شیمیایی فلورفنیکل در پژوهش اخیر ما (۷) شرح داده شده است. بدین ترتیب برای سنجش شیمیایی از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC: High-performance liquid chromatography) و با بکارگیری دستگاه Knauer-HPLC (برلین، آلمان) مجهز شده به یک دتکتور UV (مدل K2500) و انژکتور Rheodyne (مدل ۷۱۲۵) استفاده شد. جداسازی مواد در دمای ۴۰ درجه سلسیوس بر روی یک ستون ۴/۶×۲۰۰ میلی‌متری با 120-A C18 به عنوان فاز ثابت (جامد) انجام گرفت. فاز مایع (آب- استونیتریل) از فیلتر سرسرنگی ۰/۴۵ میکرومتری عبور داده شد و از طریق همونایزر

نتایج

نتایج حاصل از تحلیل نمودارهای کروماتوگرافی نشان داد که کمینه، میانگین و بیشینه مقادیر فلورفینیکل تجمع یافته در نمونه‌ها، برابر با ۰ (غیرقابل تشخیص)، $0.195 (\pm 0.02)$ و $0.23 (\pm 0.03)$ $\mu\text{g/g}$ می‌گروگرم بر گرم بودند. بر اساس آزمون کولموگروف اسمیرنوف، تفاوت معنی‌داری بین فراوانی مشاهدات باقیمانده دارویی در میگو نمونه با مقادیر مورد انتظار ثبت نشد و توزیع جامعه نرمال بود. بنابراین به منظور مقایسه آماری، از آزمون‌های پارامتریک استفاده شد.

جدول ۱- نتایج مقایسه باقیمانده دارویی فلورفینیکل را با مقدار استاندارد اروپایی (۱ میکروگرم بر گرم وزن بدن) نشان داده است. بر این اساس، میانگین باقیمانده فلورفینیکل در ماهیچه شکمی میگوی وانامی پرورشی در استان بوشهر به طور معنی‌داری کمتر از مقدار استاندارد بهداشتی است ($P < 0.05$).

اولتراسونیک گاززدایی گردید. نرخ جریان فاز مایع بر روی ستون معادل ۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود.

حدود تشخیص (LOD: Limit of detection) و مقدار سنجی (LOQ: Limit of quantification) فلورفینیکل توسط سیستم به ترتیب برابر با 0.024 و 0.073 قسمت در میلیون و انحراف معیار نسبی (RDS) داده‌های منحنی استاندارد مربوط به غلظت‌های کمینه، بهینه و بیشینه به ترتیب معادل $19/87$ ، $5/84$ و $5/5$ درصد به‌دست آمد. متوسط خطای نسبی RE: Relative error (به عنوان شاخص صحت اندازه‌گیری) و میانگین نرخ بازیابی نسبی (RR: Relative recovery) دارو به ترتیب معادل $3/81$ و $96/18$ درصد ثبت شد. باقیمانده دارویی در نمونه‌های ماهیچه با استفاده از تست تک نمونه‌ای با استاندارد ارزیابی محصولات دارویی (۱۳) (برابر با ۱ میکروگرم بر گرم) مقایسه شد. محاسبات آماری در محیط نرم افزار SPSS ۲۰ صورت گرفت.

جدول ۱- میانگین سطوح باقیمانده فلورفینیکل در میگوی پرورشی مزارع استان بوشهر در مقایسه با استاندارد بین‌المللی

مزرعه	غلظت میانگین	MRL	مرجع استاندارد	تفاوت میانگین از استاندارد	T	Df	P-Value
(بر حسب میکروگرم بر گرم)							
A	0.434	۱	محصولات دارویی اروپا	-0.566	$-1557/13$	۷	0.0001
B	0.147	“	“	-0.853	$-644/73$	۵	0.0001
C	0.000	“	“	$-1/00$	$-43/89$	۵	0.0001
D	0.512	“	“	-0.488	$-255/357$	۷	0.0001
E	0.138	“	“	-0.862	$-488/122$	۵	0.0001
F	0.098	“	“	0.902	$-1877/43$	۵	0.0001
G	0.041	“	“	-0.96	$-55/11$	۹	0.0001

از این بود که مقدار کلرامفینیکل در عضله بیش از مقدار مجاز برای مصرف‌کننده نبوده است (۱۰) و از این نظر با نتایج مطالعه حاضر سازگار است. اگرچه استاندارد اروپایی به نسبت سخت‌گیرانه‌تر است.

به نظر می‌رسد، مهمترین عامل در پایین بودن انباشتگی این دارو، علیرغم مصرف گاه به گاه برای کنترل بیماری‌های باکتریایی و یا ویژگی‌های فارماکولوژیک، بالا بودن دمای آب مزارع پرورش میگوست (۱۴). اگرچه، نمی‌توان نظارت دامپزشکان بر مصرف دوزاژ صحیح فلورفینیکل را در کنترل بیماری‌های باکتریایی نادیده گرفت.

با توجه به فرصت طلب بودن باکتری‌های پاتوژن برای میگوهای پرورشی، مسئله اصلی، برای کنترل این نوع عفونت‌ها، بهبود کیفیت آب است (۲). به طور کلی، اساس مدیریت بهداشتی به ویژه برای مهار عفونت‌های باکتریایی در مزارع پرورش میگو بر کاهش بار آلودگی با مواد آلی، افزایش سطح کیفی آب، تغذیه مناسب، افزایش تعویض آب و ضد عفونی نمودن مداوم آب استوار است.

بحث

بکارگیری آنتی‌بیوتیک فلورفینیکل با توجه به ویژگی‌های فارماکولوژیک ذاتی آن، و همچنین سازگاری بالای فیزیولوژیک با میگوی وانامی شامل پخش مناسب در بدن از طریق همولنف و سینوس پشت قلب، متابولیسم دو مرحله‌ای توسط هپاتوپانکراس و حذف داروی مادر و متابولیت آن (فلورفینیکل آمین) از طریق گوارش و سیستم دفعی نفریک توصیه شده است (۹)، که مطابقت بالایی با نتایج پژوهش حاضر دارد.

تحقیقی که روی مقادیر ۷ نوع آنتی‌بیوتیک در بافت خوراکی میگوهای وارداتی از کشورهای حوزه آسیای جنوب شرقی و آمریکای لاتین به ایالات متحده آمریکا انجام شده، نیز نشان داده که مقادیر تمامی این داروها در محدوده استاندارد FDA بوده و از میان آنها کلرامفینیکل به عنوان آنتی‌بیوتیک هم‌خانواده فلورفینیکل تنها در ۷ درصد نمونه‌ها وجود داشته است و نسبت به سایر داروهای آنتی‌میکروبیال از وضعیت فارماکولوژیکی به مراتب بهتری برخوردار بوده است (۴). مقایسه باقیمانده آنتی‌بیوتیکی در میگوهای سفید هندی پرورشی در ایران با استاندارد غذایی کدکس نیز حاکی

نتیجه گیری

مقایسه داده‌های حاصل در مطالعه حاضر با استاندارد اروپایی ارزیابی محصولات دارویی بیانگر این مسئله است که این مقادیر در محدوده قابل قبولی قرار دارند. بنابراین مصرف روزانه میگوی پرورشی با سفید غریبی یا وانامی (*Litopenaeus vannamei*) در مزارع استان بوشهر منع بهداشتی از نظر انباشتگی فلورفنیکل ندارد.

تشکر و قدردانی: بر خود لازم می‌دانیم تا مراتب قدردانی

خود را نسبت به جناب آقای مهندس حسین علی شمسایی (کارشناس آزمایشگاه مرکزی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز) و سرکارخانم دکتر طه‌پورا شمالی (دانشیار بخش دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز) که در به سرانجام رسیدن این پژوهش یاری‌مان کردند، اعلام نماییم.

نقش نویسندگان: شیری: ارائه ایده و طرح اولیه/

روش‌شناسی تحقیق/ جمع‌آوری نمونه‌ها/ عملیات آزمایشگاهی/ تحلیل و تفسیر داده‌ها، درخشش: نگارش گزارش علمی/ نظارت، رهبر: ویراستاری/ ارزیابی نهایی. همه نویسندگان در نگارش اولیه مقاله یا بازنگری آن سهیم بودند و همه با تایید نهایی مقاله حاضر، مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می‌پذیرند.

تضاد منافع: نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ گونه تضاد

منافی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

منابع

- Gholamhosseini A, Kheirandish MR, Shiry N, Akhlaghi M, Soltanian S, Roshanpour H, et al. Use of a methanolic olive leaf extract (*Olea europaea*) against white spot virus syndrome in *Penaeus vannamei*: Comparing the biochemical, hematological and immunological changes. *Aquaculture*. 2020; 528:735556. doi:10.1016/j.aquaculture.2020.735556
- Afsharnasab A, 2007. Shrimp viral diseases. Publication of Iran Fisheries Research Institute, Tehran. 210p.
- Shiry N, Soltanian S, Shomali T. Determination of optimal clinical dosage of orally administered florfenicol in rainbow trout with the experimental Streptococcosis/ Lactococcosis, and assessment of drug residues in their liver and muscles. *Iran*. 2020; 16(66): 49-62. doi:10.22055/IVJ.2019.160880.2100
- Khan M, Lively JA. Determination of sulfite and antimicrobial residue in imported shrimp to the USA. *Aquaculture Reports*. 2020; 18: 100529. doi:10.1016/j.aqrep.2020.100529
- Johnson SK. Handbook of Shrimp Diseases. Texas A&M University. 1991. 28p.

بدین ترتیب راهکارهای ذیل برای مدیریت بهینه بهداشتی در

مزارع پرورش میگو بیان می‌شود:

- به منظور پیشگیری از بیماری ویبریوزیس، راهکارهایی از جمله: بهبود تغذیه؛ کاهش بار میکروبی آب؛ و حذف عوامل تنش از استخرها و تانک‌ها، پیشنهاد شده است.
- استفاده از آب ضدعفونی شده، کاهش بار مواد آلی استخرها و تانک‌ها و ضدعفونی آنها از راه‌های موثر در کنترل و پیشگیری از بیماری میگوهای درخشان است. برخی معتقدند که تعویض آب تا میزان ۹۰ درصد در بهبود میگوهای مبتلا، مفید است (۵). در صورت پیشرفت بیماری و بهبود نیافتن میگوها، مقتضی است که تمامی گله معدوم شده و پس از ضدعفونی، مجدداً استخرها ذخیره‌سازی شوند.
- پیشگیری و کنترل سندرم لکه سیاه مانند سایر بیماری‌های باکتریایی است. تحریک پوست‌اندازی نیز می‌تواند منجر به جدا شدن پوست آلوده و عامل پاتوژن از میگوها گردد. بار مواد آلی زیاد یکی از عوامل گسترش این بیماری است.
- بکارگیری این راهکارهای مدیریتی، می‌تواند به کاهش تجویز و استفاده از دارو درمانی منجر شود (۱۵). به هر حال، پایش محصولات دریایی توسط سازمان دامپزشکی کشور یا سایر دستگاه‌های ذیربط در جهت دستیابی به توسعه پایدار و با تاکید بر حقوق مصرف‌کننده ضروری به نظر می‌رسد. پیشنهاد می‌شود این دست تحقیقات در سایت‌های مختلف پرورش میگوی کشور در استان‌های تولیدکننده نظیر سایت چوبیده (آبادان، خوزستان)، حسینه (بندر لنگه، هرمزگان) و گوآتر (چابهار، بلوچستان) ادامه یابد تا تصویر دقیق‌تری از وضعیت بهداشتی و باقیمانده دارویی ترسیم گردد.

- Bondad-Reantaso MG, McGladdery SE, East I, Subasinghe RP. 2001. Asia Diagnostic Guide to Aquatic Animal Diseases, Chapter 4: Crustacean diseases. FAO Fisheries Technical Paper 402/2.
- Shiry N, Shomali T, Soltanian S, Akhlaghi M. Comparative single-dose pharmacokinetics of orally administered florfenicol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) at health and experimental infection with *Streptococcus iniae* or *Lactococcus garvieae*. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 2019;41(6): 51-64. doi:10.1111/jvp.12736
- Uyaguari M, Montoya N. Antibiotic Accumulation in Shrimp Pond Sediments. *Research News from Ecuador: Global Aquaculture Advocate*. 2003.78-81.
- Towers L. Effects of florfenicol on white shrimp. *The Fish Site*. 2015. Accessible from 16 February 2015. at: <https://thefishsite.com/articles/effect-of-florfenicol-on-white-shrimp>
- Motallebi AA. Detection of antibiotic residue, chloramphenicol, nitrofurans, furazolidone, matrix and drug residue in shrimp *Penaeus indicus* in Iran.

Journal of Comparative Pathology. 2006; 3(1): 375-384.

11. Iran Fisheries Organization. Statistical yearbook of fisheries (2013-2018). Deputy of Planning and Resource Management, Statistics Group. 2018. 33p.

12. Wang J, MacNeil JD, Kay JF. Chemical analysis of antibiotic residues in food. A John Wiley & Sons, Inc., Publication, Hoboken NJ, USA. 2012. doi:10.1002/9781118067208

13. Fadaeifard F, Rahimi E, Raissy M, Faghani M. Determination of florfenicol residues in the muscle and liver of cultured rainbow trout in Iran by ELISA. Journal of Chemistry & Health Risk. 2015;5(4): 267-272. doi:10.22034/JCHR.2015.544116

14. Schering-Plough Animal Health Corp. Freedom of information summary, Original new animal drug application, AQUAFLO® Type A Medicated Article (florfenicol), An Antibiotic, For the control of mortality in catfish due to enteric septicemia of catfish associated with *Edwardsiella ictaluri*. (3th ed.) NADA. 2005;141-246. P. 5-16.

15. Newman SG. Why are antibiotic residues in farmed shrimp a big deal? Global Aquaculture Advocate. 2019. Accessible from 18 November 2019 at:

<https://www.aquaculturealliance.org/advocate/why-are-antibiotic-residues-in-farmed-shrimp-a-big-deal/>