

**DOSSIER DE RECONDUCTION DU TEST BETA-STAR**  
**Beta s.t.a.r.**  
**Test rapide de détection de résidus actifs d'antibiotiques**  
**de la famille des beta-Lactames (pénicillines, céphalosporines) dans le lait**

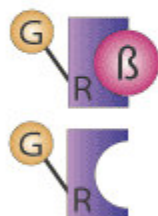
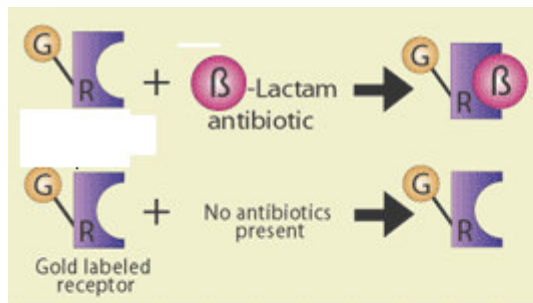
1. UN RAPPEL SUR LA METHODE ALTERNATIVE

- Date de 1<sup>ère</sup> validation AFNOR : 23 mars 2001
- Date de reconduction : 23 mars 2005 reportée au 30 juin 2005

**- Principe de la méthode :**

Le test Beta s.t.a.r. est une méthode du type "Receptor Assay" basée sur l'emploi d'un récepteur spécifique lié à des particules d'or. Il permet la détection rapide, dans le lait, des résidus de pénicillines et de céphalosporines.

Lors de la première étape d'incubation, les antibiotiques beta-lactamines, s'ils sont présents, se lient au récepteur. Pendant la seconde étape d'incubation, le lait migre sur un support immunochromatographique (membrane fixée à une bandelette) qui comporte deux bandes de capture. La première bande retient tous les récepteurs qui n'ont pas lié d'antibiotiques pendant la première étape, faisant apparaître une coloration rouge intense qui traduit une absence de résidus. En cas de présence de beta-lactamines en excès, les complexes récepteurs-antibiotiques formés ne peuvent pas se lier et aucune coloration n'apparaît. La deuxième bande, basée sur la fixation d'un anticorps, sert de référence et fait apparaître dans tous les essais une coloration rouge d'égale intensité.



Récepteurs qui ne seront pas accrochés sur la bandelette

Récepteurs qui seront accrochés sur la bandelette

**- Protocole d'utilisation (schéma) :**



### - Méthode de référence :

Méthode officielle d'acidification au *Streptococcus thermophilus*, suivie de la confirmation par la méthode de diffusion au *Bacillus stearothermophilus* (J.O. du 6.10.1983 et Bulletin FIL 258/1991). Le test officiel français d'acidification est un test de dépistage pour l'ensemble des résidus d'antibiotiques capables d'inhiber le développement de *Streptococcus thermophilus* dans le lait. En l'absence de résidus, ce germe transforme le lactose en acide lactique, ce qui se traduit par une baisse du pH mise en évidence par un changement de couleur d'un indicateur ajouté au milieu. En cas de résultat positif ou douteux avec ce test d'acidification, la législation française prévoit la mise en œuvre de trois tests de confirmation par diffusion en gélose. Un de ces trois tests fait intervenir *Bacillus stearothermophilus* plus particulièrement sensible aux beta-lactamines (et tétracyclines). Un disque de papier filtre imprégné du lait à tester est déposé à la surface d'une gélose ensemencée. Les éventuels résidus diffusent concentriquement dans la gélose autour du disque, ce qui donne, après incubation, une zone dans laquelle le développement du germe a été inhibé.

### - Notice d'utilisation :

Aucune modification n'y a été apportée depuis la première validation.

### - Caractéristiques particulières :

Domaine d'application de la validation :

La validation a porté sur les protocoles suivants:

- protocole pour le beta s.t.a.r. version 25
- protocole pour le beta s.t.a.r. version 100

### - Principaux résultats obtenus lors de la validation initiale :

#### 1-Praticabilité

Les résultats (positifs ou négatifs) sont obtenus en 6 minutes avec le test (beta s.t.a.r., contre 2h30 avec la première partie (acidification) de la méthode de référence.

Les 13 critères d'applicabilité ont été déclarés conformes.

#### 2-Sensibilité (limites de détection)

Des essais ont été effectués en 1999, sur du lait cru supplémenté artificiellement avec les antibiotiques (3lactamines aux 5 niveaux de concentration figurant dans le tableau ci-dessous.

|               | Limites de détection  |                        |                                |
|---------------|-----------------------|------------------------|--------------------------------|
|               | Beta-Star 25 lait cru | Beta-Star 100 lait cru | Beta-Star 100 lait reconstitué |
| Pénicilline G | < 2 µg/l              | < 2 µg/l               | < 2 µg/l                       |
| Ampicilline   | 4 µg/l                | 4 µg/l                 | 4 µg/l                         |
| Cloxacilline  | < 5 µg/l              | < 5 µg/l               | < 5 µg/l                       |
| Céphapirine   | < 5 µg/l              | < 5 µg/l               | < 5 µg/l                       |
| Caftiofur     | < 50 µg/l             | < 50 µg/l              | < 50 µg/l                      |
| Cefquinome    | < 10 µg/l             | < 10 µg/l              | < 10 µg/l                      |
| Céfalonium    | < 5 µg/l              | < 5 µg/l               | < 5 µg/l                       |

LMR : Limite Maximale en Résidus

#### 3-Spécificité

L'analyse d'échantillons de lait cru supplémentés avec 4 antibiotiques n'appartenant pas à la famille des (beta-lactamines (oxytétracycline, dihydrostreptomycine, erythromycine, chloramphenicol), à des concentrations très élevées (50 000 µg/l) n' a pas mis en évidence la présence de réactions croisées.

#### 4-Comparaison de la méthode alternative et de la méthode de référence

Le test beta-star est systématiquement plus sensible que les 2 tests de la méthode de référence en ce qui concerne les beta-lactamines.

Le test beta-star est très spécifique des beta-lactamines. Par contre, les concentrations élevées en résidus d'antibiotiques autres que les beta-lactamines ont donné dans tous les cas des résultats positifs avec le test d'acidification et le test de diffusion même pour les antibiotiques non spécifiques de ce dernier avec *B. stearothermophilus* (1 seul faux-négatif en oxytétracycline).

Aucun résultat faux-positif n'a été obtenu aussi bien sur les 70 échantillons analysés par la méthode de référence que sur les 105 échantillons analysés avec le beta-star.

Les concentrations en beta-lactamines les plus basses ont donné plus de résultats faux-négatifs avec la méthode de référence qu'avec le test beta-star. Par ailleurs les concentrations les plus élevées en résidus de beta-lactamines n'ont pas donné lieu à l'observation de faux-résultats négatifs pour le test beta-star et pour le test d'acidification de la méthode de référence. Par contre on observe avec le test de diffusion un résultat faux-négatif pour l'oxytétracycline.

### 5-Etude collaborative

Les valeurs de fidélité ont été déterminées au cours d'un essai effectué en 2000, comprenant 12 laboratoires.

Chaque laboratoire a reçu 28 échantillons de lait cru, répartis de la manière suivante: 24 échantillons positifs en antibiotiques représentant 12 niveaux en double aveugle et 4 échantillons représentant le lot témoin sans antibiotique.

Les laboratoires ont analysé deux fois chaque échantillon. Trois laboratoires ont utilisé le beta s.t.a.r. version 100 et les neuf autres laboratoires ont utilisé le Beta s.t.a.r. version 25.

Les résultats par niveau de contamination sont les suivants:

| Paires |                                 | Nombre de résultats négatifs | Nombre de résultats positifs | Total |
|--------|---------------------------------|------------------------------|------------------------------|-------|
| A      | Cloxacilline 2.5 µg/l           | 44                           | 4                            | 48    |
| B      | Cloxacilline 5 µg/l             | 13                           | 35                           | 48    |
| C      | Cloxacilline 20 µg/l            | 0                            | 48                           | 48    |
| D      | Cloxacilline 80 µg/l            | 0                            | 48                           | 48    |
| E      | Ceftiofur 25 µg/l               | 46                           | 2                            | 48    |
| F      | Ceftiofur 50 µg/l               | 26                           | 22                           | 48    |
| G      | Ceftiofur 100 µg/l              | 0                            | 48                           | 48    |
| H      | Ceftiofur 200 µg/l              | 0                            | 48                           | 48    |
| I      | Oxytétracycline 50000 µg/l      | 48                           | 0                            | 48    |
| J      | Dihydrostreptomycine 50000 µg/l | 48                           | 0                            | 48    |
| K      | Erythromycine 50000 µg/l        | 48                           | 0                            | 48    |
| L      | Chloramphenicol 50000 µg/l      | 48                           | 0                            | 48    |
| M      | Témoins négatifs                | 96                           | 0                            | 96    |

Le pourcentage de concordance globale avec les résultats attendus est de 89%.

La répétabilité varie de 89 à 100 % pour un même échantillon analysé 2 fois, soit en moyenne 98.5 %.

Pour les paires d'échantillons, la répétabilité varie de 69 à 100 %, soit en moyenne 89 %.

La reproductibilité varie de 52 à 100 %, soit en moyenne 85 %.

#### - Bilan des modifications intervenues dans la méthode alternative :

Aucune modification n'est intervenue dans la méthode alternative depuis la première validation.

## 2. UNE ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

#### - Liste de publications :

- [1] S. Kroll, E. Usleber, KJ. Zaadhof & E. Schneider (2000), 'Evaluation of commercial rapid tests for bet-lactam antibiotics in raw milk', *Proceedings of Euroresidue IV Conference on Residues of Veterinary Drugs in Foods*, LA. Van Rinkel & A. Ruiter Eds., Veldhoven, The Netherlands, 693-697

- [2] JO. Boison (2001) 'Drug Residues in Foods, Diagnostics and Test kits', GENERAL REFEREE REPORTS: JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL, 84 (1) 190-191
- [3] Sternesjo & G. Johnsson (2003) 'The Swedish system for detection and separation of beta-lactam antibiotics contaminated milk – a practical approach' *Milchwissenschaft*, 58 (1/2) 68-69
- [4] G. Suhren & K. Knappstein (2003) Detection of cefquinome in milk by liquid chromatography and screening methods' *Analytica Chimica Acta*, 483, 363-372
- [5] K. Knappstein, G. Suhren & HG. Walte (2003) Influence of milk frequency on withdrawal period after application of beta-lactam antibiotic based drugs' *Analytica Chimica Acta*, 483, 241-249
- [6] G. Suhren & HG. Walte (2003) 'Experiences with the application of method combinations for the detection of residues of antimicrobial drugs in milk for collecting tankers' *Milchwissenschaft*, 58 (9/10) 536-540
- [7] JM. Diserens, A. Beck, MC. Savoy-Perroud, W. H & G. Suhren 'Detection of antibiotic residues in liquid whey and demineralised whey powders' *Bulletin of the IDF* 369, 35-43
- [8] G. Suhren & K. Knappstein (2004) Detection of residues of antibiotics in milk of treated cows by screening methods', *Milchwissenschaft*, 59 (11/12) 656-660
- [9] M. Barbosa, G. Suhren & R. Beukers (2004) 'Suitability and application of available test kits for the detection of residues of antimicrobials in milk from species other than the cow – a review' *Bulletin of the IDF* 390, 29-40
- [10] W. Reybroeck (2004) 'Utilisation des kits de dépistage des inhibiteurs', *Le Point Vétérinaire*, 242, 52-57

**- Synthèse des publications apportant des informations sur la performance de la méthode alternative :**

Ces différentes publications apportent des informations sur la sensibilité et la spécificité du test beta-star vis-à-vis des beta-lactamines. Les analyses ont été réalisées aussi bien sur des matériaux supplémentés que sur des matériaux chargés.

Le pourcentage de faux-positifs et de faux-négatifs est généralement faible (< 10%).

La publication [9] conclue que des tests rapides comme le beta-star destinés initialement aux laits de vache soient applicables aux laits provenant d'autres espèces, avec environ les mêmes sensibilités. Toutefois il peut y avoir une incidence sur le taux de faux-positifs.

Résumé :

| Substance     | MRL | Concentration (ng/ml) resulting in ≥ 90% positive test results [1] | Detection limits (≤ µg/kg) [8] |                  | Sensibilité (µg/kg) [10] |
|---------------|-----|--|--------------------------------|------------------|--------------------------|
|               |     |  | Spiked samples                 | Incurred samples |                          |
| Penicillin G  | 4   | 4  | 2                              | 2                | 3                        |
| Amoxicillin   | 4   | <b>8</b>   |                                |                  | 4                        |
| Ampicillin    | 4   | 4  | 3                              | <b>6</b>         | 4                        |
| Oxacillin     | 30  | 15   |                                |                  |                          |
| Cloxacillin   | 30  | 15   |                                |                  | 6                        |
| Dicloxacillin | 30  | 15   |                                |                  |                          |
| Nafcillin     | 30  | 15   | 30                             |                  | 14                       |
| Cefacetril    | 125 | 62.5   |                                |                  | 40                       |
| Cefazolin     | 50  | <b>100</b>   |                                |                  | 60                       |
| Cefquinom     | 20  | 10   | 10                             | 10               | 10                       |
| Ceftiofur     | 100 | 100  |                                |                  | 110                      |
| Cephapirin    | 10  | <b>20</b>  |                                |                  | 12                       |
| Cefoperazon   | 50  |  |                                |                  | 6                        |
| Cefalexin     | 100 |  |                                |                  | > 1000                   |
| Cefalonium    | 20  |  |                                |                  | 4                        |

En caractères **gras**, la sensibilité du test beta-star est supérieure à la LMR.

[1] : référence à la publication n° [1]

### 3. UN BILAN DES RECLAMATIONS UTILISATEURS

Aucune réclamation utilisateur ayant abouti à la mise en cause des performances du test n'est à signaler.

### 4. UN ETAT DES MODIFICATIONS INTERVENUES DEPUIS LA PRECEDENTE VALIDATION

Il n'y a pas eu de modification de la méthode de référence.

Le référentiel technique de la validation AFNOR a changé. Il existe un référentiel spécifiquement adapté aux méthodes de détection des résidus d'antibiotiques et autres molécules à effet antibactérien dans les produits agroalimentaires (révision 0, validée le 10/05/2005).

Les critères de praticabilité n'ont pas été modifiés.

Les nouvelles exigences de ce référentiel sont identiques à celles utilisées précédemment. Seule l'exploitation des résultats est réellement modifiée. C'est pourquoi une nouvelle exploitation des résultats de l'étude préliminaire a été effectuée suivant ce nouveau référentiel et sera présentée lors de la réunion du Bureau Technique Microbiologie. De même les résultats de l'étude collaborative ont été réexploités.

Voici un résumé des résultats obtenus avec cette nouvelle exploitation :

#### EXPLOITATION DES RESULTATS DE L'ETUDE PRELIMINAIRE SELON LE NOUVEAU REFERENTIEL

##### L'étude préliminaire précédemment organisée remplit les exigences du nouveau référentiel.

Les échantillons ont été codifiés de façon aléatoire afin de réaliser les analyses en aveugle. Le test beta-star étant spécifique des beta-lactamines, 7 antibiotiques appartenant à cette famille (minimum 6) ont été choisis et supplémentés à 4 concentrations différentes. Chaque antibiotique a été testé à 4 concentrations différentes (minimum 3). Chaque concentration d'antibiotique a été préparée en 5 exemplaires. Les échantillons ont été codifiés et les analyses réalisées en aveugle. Chaque échantillon a été analysé 1 fois par la méthode alternative et une fois par la méthode de référence. De plus, une étude de spécificité basée sur 4 autres familles d'antibiotiques a été menée. Au lieu de 20 échantillons de matrice blanche analysés en double, 35 échantillons de matrice blanche ont été analysés en simple par chaque méthode.

|               | Limites de détection  |                        |                                |
|---------------|-----------------------|------------------------|--------------------------------|
|               | Beta-Star 25 lait cru | Beta-Star 100 lait cru | Beta-Star 100 lait reconstitué |
| Pénicilline G | ≤ 2 µg/l              | ≤ 2 µg/l               | ≤ 2 µg/l                       |
| Ampicilline   | 4 µg/l                | 4 µg/l                 | 4 µg/l                         |
| Cloxacilline  | ≤ 5 µg/l              | ≤ 5 µg/l               | ≤ 5 µg/l                       |
| Céphapirine   | ≤ 5 µg/l              | ≤ 5 µg/l               | ≤ 5 µg/l                       |
| Ceftiofur     | ≤ 50 µg/l             | ≤ 50 µg/l              | ≤ 50 µg/l                      |
| Cefquinome    | ≤ 10 µg/l             | ≤ 10 µg/l              | ≤ 10 µg/l                      |
| Céfalonium    | ≤ 5 µg/l              | ≤ 5 µg/l               | ≤ 5 µg/l                       |

|                       | Beta-Star 25 lait cru | Beta-Star 100 lait cru | Beta-Star 100 lait reconstitué |
|-----------------------|-----------------------|------------------------|--------------------------------|
| Taux de faux négatifs | 3/38                  | 1/36                   | 1/36                           |
| Spécificité           | 100 %                 | 100 %                  | 100 %                          |
| Taux de faux positifs | 0                     | 0                      | 0                              |

Le taux de faux négatifs par rapport à la LMR est de 0 % pour les 2 formats du test et les 2 types de lait, puisque l'ampicilline à 2 µg/ml qui donne les faux-négatifs est à une concentration inférieure à la LMR.

### Etude comparative : Calculs et interprétations

Le traitement des données, le calcul des intervalles de confiance (IC) bilatéral à 95 % et les conclusions de l'examen des résultats discordants sont présentés en annexes 8 à 10.

#### Résumé des résultats

|                                | PA | NA | ND | PD  | N   | AC (%)     | N+ | SE (%)    | N-  | SP (%)     |
|--------------------------------|----|----|----|-----|-----|------------|----|-----------|-----|------------|
| Beta-Star 25 lait cru          | 31 | 39 | 19 | 106 | 195 | 35.9 ± 6.9 | 50 | 62 ± 13.7 | 145 | 26.9 ± 7.3 |
| Beta-Star 100 lait cru         | 31 | 37 | 19 | 108 | 195 | 34.9 ± 6.8 | 50 | 62 ± 13.7 | 145 | 25.5 ± 7.2 |
| Beta-Star 100 lait reconstitué | 31 | 37 | 19 | 108 | 195 | 34.9 ± 6.8 | 50 | 62 ± 13.7 | 145 | 25.5 ± 7.2 |

### CONCLUSIONS :

La déviation négative ND vient de la spécificité du test Beta-star pour les beta-lactames, qui donc ne détecte pas les autres antibiotiques, contrairement à la méthode de référence.

La déviation positive PD élevée, l'exactitude relative AC faible et la spécificité relative SP faible du Beta-star sous tous ses formats vient de sa meilleure sensibilité aux beta-lactames que la méthode de référence.

La sensibilité relative est diminuée pour cette même raison.

### EXPLOITATION DES RESULTATS DE L'ETUDE COLLABORATIVE SELON LE NOUVEAU REFERENTIEL

#### L'étude collaborative précédemment organisée remplit les exigences du nouveau référentiel.

12 laboratoires ont participé et rendu des résultats interprétables, sans compter le laboratoire expert et le fabricant. 3 laboratoires ont utilisé le test Beta-Star 100 et 9 laboratoires le test Beta-Star 25. Le test beta-star étant spécifique des beta-lactames, 2 antibiotiques appartenant à cette famille ont été choisis et supplémentés à 4 concentrations différentes. Les matériaux (lait cru) ont été préparés, codifiés et envoyés en double aveugle. Toutes les analyses ont été effectuées en double (en 2 séries d'analyses distinctes) et en aveugle dans chacun des laboratoires participants. Ces laboratoires ont réalisé l'étude avec la méthode alternative seule, alors que le laboratoire expert a mené en parallèle l'analyse des échantillons avec la méthode référence.

| Paires |                                 |
|--------|---------------------------------|
| A      | Cloxacilline 2.5 µg/l           |
| B      | Cloxacilline 5 µg/l             |
| C      | Cloxacilline 20 µg/l            |
| D      | Cloxacilline 80 µg/l            |
| E      | Ceftiofur 25 µg/l               |
| F      | Ceftiofur 50 µg/l               |
| G      | Ceftiofur 100 µg/l              |
| H      | Ceftiofur 200 µg/l              |
| I      | Oxytétracycline 50000 µg/l      |
| J      | Dihydrostreptomycine 50000 µg/l |
| K      | Erythromycine 50000 µg/l        |
| L      | Chloramphenicol 50000 µg/l      |
| M      | Témoins négatifs (4)            |

### **Pourcentages de spécificité et de sensibilité :**

Pour le calcul de la spécificité et de la sensibilité, 4 niveaux doivent être définis dans le projet d'étude collaborative. Le 1<sup>er</sup> niveau L<sub>0</sub> est un matériau blanc (dépourvu de substances à activité antibiotique) (contrôle négatif), le 2<sup>e</sup> niveau L<sub>1</sub> correspond à une concentration conduisant à un résultat négatif (concentration inférieure à la limite de détection), le 3<sup>e</sup> niveau L<sub>2</sub> à une concentration légèrement supérieure au seuil de détection déterminé lors de l'étude préliminaire, et enfin le 4<sup>e</sup> niveau L<sub>3</sub> à une concentration conduisant à un résultat positif.

Les 4 concentrations utilisées pour les calculs sont choisies en fonction de la limite de détection déterminée lors de l'étude préliminaire :

|                     | Cloxacilline          | Ceftiofur             |
|---------------------|-----------------------|-----------------------|
| Limite de détection | ≤ 5 µg/l              | ≤ 50 µg/l             |
| L <sub>0</sub>      | Matériaux blancs (96) | Matériaux blancs (96) |
| L <sub>1</sub>      | 2.5 µg/l              | 25 µg/l               |
| L <sub>2</sub>      | 20 µg/l               | 100 µg/l              |
| L <sub>3</sub>      | 80 µg/l               | 200 µg/l              |

### **Fidélité : Etroitesse de l'accord entre des résultats d'essai indépendants obtenus dans des conditions de répétabilité et de reproductibilité.**

Répétabilité : degré de concordance entre les résultats d'analyses indépendantes, utilisant la même méthode, avec une fraction à analyser identique et dans les mêmes conditions.

Reproductibilité : degré de concordance entre les résultats d'analyses indépendantes, utilisant la même méthode, avec une fraction à analyser identique, mais dans des conditions différentes (laboratoires, opérateurs, équipements différents).

### **Résumé des résultats**

#### ***Pourcentages de spécificité et de sensibilité :***

|              | Spécificité | Sensibilité |
|--------------|-------------|-------------|
| Cloxacilline | 97 %        | 100 %       |
| Ceftiofur    | 99 %        | 100 %       |

**Répétabilité :**

|   | LABORATOIRES |     |    |     |     |     |    |     |     |     |    |     | TOTAL |
|---|--------------|-----|----|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|----|-----|-------|
|   | 1            | 2   | 3  | 4   | 5   | 6   | 7  | 8   | 9   | 10  | 11 | 12  |       |
| Nombre d'analyses identiques <b>sur un même échantillon</b><br>(28 paires par laboratoire)            | 28           | 28  | 25 | 28  | 28  | 28  | 27 | 28  | 28  | 28  | 27 | 28  | 331   |
| <b>Répétabilité en %</b>  | 100          | 100 | 89 | 100 | 100 | 100 | 96 | 100 | 100 | 100 | 96 | 100 | 98,5  |
| * Nombre d'analyses identiques <b>sur deux échantillons identiques</b><br>(26 paires par laboratoire) | 24           | 24  | 18 | 18  | 26  | 26  | 23 | 20  | 26  | 24  | 25 | 24  | 278   |
| <b>Répétabilité en %</b>  | 92           | 92  | 69 | 69  | 100 | 100 | 88 | 77  | 100 | 92  | 96 | 92  | 89,1  |

### **Reproductibilité :**

|       |                 |            |      |
|-------|-----------------|------------|------|
| A     | Cloxacilline    | 2,5 µg/L   | 92%  |
| B     | "               | 5 µg/L*    | 52%  |
| C     | "               | 20µg/L     | 92%  |
| D     | "               | 80, µg/L   | 88%  |
| E     | Ceftiofur       | 25 µg/L    | 96%  |
| F     | "               | 50 µg/L    | 54%  |
| G     | "               | 100 µg/L*  | 60%  |
| H     | "               | 200 µg/L   | 60%  |
| I     | Oxytétracycline | 50000 µg/L | 100% |
| J     | DHS             | 50000 µg/L | 100% |
| K     | Erythromycine   | 50000 µg/L | 100% |
| L     | CAP             | 50000 µg/L | 100% |
| M     | Blancs          |            | 100% |
| Total |                 |            | 85%  |

### **CONCLUSIONS :**

Les paramètres déterminés lors de l'étude collaborative sur la méthode alternative seule montrent que la sensibilité et la spécificité du test Beta-star sont très satisfaisantes, ainsi que la répétabilité et la reproductibilité du test.

#### 5. UNE PRESENTATION DES MODIFICATIONS EVENTUELLES ENVISAGEES DANS LA METHODE ALTERNATIVE

Aucune.

#### 6. UN PROJET DE COMPLEMENT D'ETUDE DE VALIDATION

Etant donné les éléments présentés ci-dessus, aucun complément d'étude n'est envisagé.

**Annexe 1 : PRESENTATION DES DONNEES BRUTES SELON LE NOUVEAU REFERENTIEL : PENICILLINE G**

**Beta star 25**

|           | Lait cru    |                       |       |
|-----------|-------------|-----------------------|-------|
|           | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total |
| Reference | 5           | 0                     | 5     |
| Beta-star | 0           | 5                     | 5     |
| Total     | 5           | 5                     | 10    |

**Beta star 100**

|           | Lait cru    |                       |       |
|-----------|-------------|-----------------------|-------|
|           | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total |
| Reference | 5           | 0                     | 5     |
| Beta-star | 0           | 5                     | 5     |
| Total     | 5           | 5                     | 10    |

**Beta star 100**

|           | Lait reconstitué |                       |       |
|-----------|------------------|-----------------------|-------|
|           | Négatif (-)      | Résultats Positif (+) | Total |
| Reference | 5                | 0                     | 5     |
| Beta-star | 0                | 5                     | 5     |
| Total     | 5                | 5                     | 10    |

**Pénicilline G 4 µg/l**

|           | Lait cru    |                       |       |
|-----------|-------------|-----------------------|-------|
|           | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total |
| Reference | 5           | 0                     | 5     |
| Beta-star | 0           | 5                     | 5     |
| Total     | 5           | 5                     | 10    |

**Pénicilline G 4 µg/l**

|           | Lait cru    |                       |       |
|-----------|-------------|-----------------------|-------|
|           | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total |
| Reference | 5           | 0                     | 5     |
| Beta-star | 0           | 5                     | 5     |
| Total     | 5           | 5                     | 10    |

**Pénicilline G 4 µg/l**

|           | Lait reconstitué |                       |       |
|-----------|------------------|-----------------------|-------|
|           | Négatif (-)      | Résultats Positif (+) | Total |
| Reference | 5                | 0                     | 5     |
| Beta-star | 0                | 5                     | 5     |
| Total     | 5                | 5                     | 10    |

**Pénicilline G 8 µg/l**

|           | Lait cru    |                       |       |
|-----------|-------------|-----------------------|-------|
|           | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total |
| Reference | 0           | 5                     | 5     |
| Beta-star | 0           | 5                     | 5     |
| Total     | 0           | 10                    | 10    |

**Pénicilline G 8 µg/l**

|           | Lait cru    |                       |       |
|-----------|-------------|-----------------------|-------|
|           | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total |
| Reference | 0           | 5                     | 5     |
| Beta-star | 0           | 5                     | 5     |
| Total     | 0           | 10                    | 10    |

**Pénicilline G 8 µg/l**

|           | Lait reconstitué |                       |       |
|-----------|------------------|-----------------------|-------|
|           | Négatif (-)      | Résultats Positif (+) | Total |
| Reference | 0                | 5                     | 5     |
| Beta-star | 0                | 5                     | 5     |
| Total     | 0                | 10                    | 10    |

**Pénicilline G 16 µg/l**

|           | Lait cru    |                       |       |
|-----------|-------------|-----------------------|-------|
|           | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total |
| Reference | 0           | 5                     | 5     |
| Beta-star | 0           | 5                     | 5     |
| Total     | 0           | 10                    | 10    |

**Pénicilline G 16 µg/l**

|           | Lait cru    |                       |       |
|-----------|-------------|-----------------------|-------|
|           | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total |
| Reference | 0           | 5                     | 5     |
| Beta-star | 0           | 5                     | 5     |
| Total     | 0           | 10                    | 10    |

**Pénicilline G 16 µg/l**

|           | Lait reconstitué |                       |       |
|-----------|------------------|-----------------------|-------|
|           | Négatif (-)      | Résultats Positif (+) | Total |
| Reference | 0                | 5                     | 5     |
| Beta-star | 0                | 5                     | 5     |
| Total     | 0                | 10                    | 10    |

**Annexe 2 : PRESENTATION DES DONNEES BRUTES SELON LE NOUVEAU REFERENTIEL : AMPICILLINE**

| Ampicilline 2 µg/l | Lait cru    |                       | Ampicilline 2 µg/l |       | Lait cru    |                       | Ampicilline 2 µg/l |             | Lait reconstitué      |       |
|--------------------|-------------|-----------------------|--------------------|-------|-------------|-----------------------|--------------------|-------------|-----------------------|-------|
|                    | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Négatif (-)        | Total | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total              | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total |
| Reference          | 5           | 0                     | 5                  | 5     | 5           | 0                     | 9                  | 5           | 0                     | 5     |
| Beta-star          | 3           | 2                     | 1                  | 5     | 4           | 4                     | 14                 | 1           | 4                     | 5     |
| Total              | 8           | 2                     | 19                 | 10    | 4           | 4                     | 15                 | 6           | 4                     | 10    |

| Ampicilline 4 µg/l | Lait cru    |                       | Ampicilline 4 µg/l |       | Lait cru    |                       | Ampicilline 4 µg/l |             | Lait reconstitué      |       |
|--------------------|-------------|-----------------------|--------------------|-------|-------------|-----------------------|--------------------|-------------|-----------------------|-------|
|                    | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Négatif (-)        | Total | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total              | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total |
| Reference          | 5           | 0                     | 5                  | 5     | 5           | 0                     | 18                 | 5           | 0                     | 5     |
| Beta-star          | 0           | 5                     | 0                  | 5     | 5           | 5                     | 24                 | 0           | 5                     | 5     |
| Total              | 5           | 5                     | 37                 | 10    | 5           | 5                     | 25                 | 5           | 5                     | 10    |

| Ampicilline 8 µg/l | Lait cru    |                       | Ampicilline 8 µg/l |       | Lait cru    |                       | Ampicilline 8 µg/l |             | Lait reconstitué      |       |
|--------------------|-------------|-----------------------|--------------------|-------|-------------|-----------------------|--------------------|-------------|-----------------------|-------|
|                    | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Négatif (-)        | Total | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total              | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total |
| Reference          | 0           | 5                     | 0                  | 5     | 5           | 5                     | 32                 | 0           | 5                     | 5     |
| Beta-star          | 0           | 5                     | 0                  | 5     | 5           | 5                     | 33                 | 0           | 5                     | 5     |
| Total              | 0           | 10                    | 55                 | 10    | 10          | 10                    | 39                 | 0           | 10                    | 10    |

| Ampicilline 16 µg/l | Lait cru    |                       | Ampicilline 16 µg/l |       | Lait cru    |                       | Ampicilline 16 µg/l |             | Lait reconstitué      |       |
|---------------------|-------------|-----------------------|---------------------|-------|-------------|-----------------------|---------------------|-------------|-----------------------|-------|
|                     | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Négatif (-)         | Total | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total               | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total |
| Reference           | 0           | 5                     | 0                   | 5     | 5           | 5                     | 41                  | 0           | 5                     | 5     |
| Beta-star           | 0           | 5                     | 0                   | 5     | 5           | 5                     | 42                  | 0           | 5                     | 5     |
| Total               | 0           | 10                    | 73                  | 10    | 10          | 10                    | 48                  | 0           | 10                    | 10    |

**Annexe 3 : PRESENTATION DES DONNEES BRUTES SELON LE NOUVEAU REFERENTIEL : CLOXACILLINE**

| <b>Cloxacilline 5 µg/l</b> |             |                          |       | <b>Cloxacilline 5 µg/l</b> |             |                          |       | <b>Cloxacilline 5 µg/l</b> |             |                          |       |
|----------------------------|-------------|--------------------------|-------|----------------------------|-------------|--------------------------|-------|----------------------------|-------------|--------------------------|-------|
| <b>Lait cru</b>            |             |                          |       | <b>Lait cru</b>            |             |                          |       | <b>Lait reconstitué</b>    |             |                          |       |
|                            | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                            | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                            | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |
| Reference                  | 5           | 0                        | 5     | Reference                  | 5           | 0                        | 9     | Reference                  | 5           | 0                        | 5     |
| Beta-star                  | 0           | 5                        | 5     | Beta-star                  | 0           | 5                        | 15    | Beta-star                  | 0           | 5                        | 5     |
| Total                      | 5           | 5                        | 10    | Total                      | 19          | 5                        | 16    | Total                      | 5           | 5                        | 10    |

| <b>Cloxacilline 20 µg/l</b> |             |                          |       | <b>Cloxacilline 20 µg/l</b> |             |                          |       | <b>Cloxacilline 20 µg/l</b> |             |                          |       |
|-----------------------------|-------------|--------------------------|-------|-----------------------------|-------------|--------------------------|-------|-----------------------------|-------------|--------------------------|-------|
| <b>Lait cru</b>             |             |                          |       | <b>Lait cru</b>             |             |                          |       | <b>Lait reconstitué</b>     |             |                          |       |
|                             | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                             | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                             | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |
| Reference                   | 5           | 0                        | 5     | Reference                   | 5           | 0                        | 18    | Reference                   | 5           | 0                        | 5     |
| Beta-star                   | 0           | 5                        | 5     | Beta-star                   | 0           | 5                        | 24    | Beta-star                   | 0           | 5                        | 5     |
| Total                       | 5           | 5                        | 10    | Total                       | 37          | 5                        | 25    | Total                       | 5           | 5                        | 10    |

| <b>Cloxacilline 80 µg/l</b> |             |                          |       | <b>Cloxacilline 80 µg/l</b> |             |                          |       | <b>Cloxacilline 80 µg/l</b> |             |                          |       |
|-----------------------------|-------------|--------------------------|-------|-----------------------------|-------------|--------------------------|-------|-----------------------------|-------------|--------------------------|-------|
| <b>Lait cru</b>             |             |                          |       | <b>Lait cru</b>             |             |                          |       | <b>Lait reconstitué</b>     |             |                          |       |
|                             | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                             | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                             | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |
| Reference                   | 5           | 0                        | 5     | Reference                   | 5           | 0                        | 27    | Reference                   | 5           | 0                        | 5     |
| Beta-star                   | 0           | 5                        | 5     | Beta-star                   | 0           | 5                        | 33    | Beta-star                   | 0           | 5                        | 5     |
| Total                       | 5           | 5                        | 10    | Total                       | 55          | 5                        | 34    | Total                       | 5           | 5                        | 10    |

| <b>Cloxacilline 320 µg/l</b> |             |                          |       | <b>Cloxacilline 320 µg/l</b> |             |                          |       | <b>Cloxacilline 320 µg/l</b> |             |                          |       |
|------------------------------|-------------|--------------------------|-------|------------------------------|-------------|--------------------------|-------|------------------------------|-------------|--------------------------|-------|
| <b>Lait cru</b>              |             |                          |       | <b>Lait cru</b>              |             |                          |       | <b>Lait reconstitué</b>      |             |                          |       |
|                              | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                              | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                              | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |
| Reference                    | 0           | 5                        | 5     | Reference                    | 0           | 5                        | 41    | Reference                    | 0           | 5                        | 5     |
| Beta-star                    | 0           | 5                        | 5     | Beta-star                    | 0           | 5                        | 42    | Beta-star                    | 0           | 5                        | 5     |
| Total                        | 0           | 10                       | 10    | Total                        | 73          | 10                       | 48    | Total                        | 0           | 10                       | 10    |

**Annexe 4 : PRESENTATION DES DONNEES BRUTES SELON LE NOUVEAU REFERENTIEL : CEPHAPIRINE**

| <b>Beta star 25</b>        |             |                          |       | <b>Beta star 100</b>       |             |                          |       | <b>Beta star 100</b>       |             |                          |       |
|----------------------------|-------------|--------------------------|-------|----------------------------|-------------|--------------------------|-------|----------------------------|-------------|--------------------------|-------|
| <b>Céphapirine 5 µg/l</b>  |             | <b>Lait cru</b>          |       | <b>Céphapirine 5 µg/l</b>  |             | <b>Lait cru</b>          |       | <b>Céphapirine 5 µg/l</b>  |             | <b>Lait reconstitué</b>  |       |
|                            | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                            | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                            | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |
| Reference                  | 5           | 0                        | 5     | Reference                  | 5           | 0                        | 9     | Reference                  | 5           | 0                        | 5     |
| Beta-star                  | 0           | 5                        | 5     | Beta-star                  | 0           | 5                        | 15    | Beta-star                  | 0           | 5                        | 5     |
| Total                      | 5           | 5                        | 10    | Total                      | 19          | 5                        | 16    | Total                      | 5           | 5                        | 10    |
| <b>Céphapirine 10 µg/l</b> |             | <b>Lait cru</b>          |       | <b>Céphapirine 10 µg/l</b> |             | <b>Lait cru</b>          |       | <b>Céphapirine 10 µg/l</b> |             | <b>Lait reconstitué</b>  |       |
|                            | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                            | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                            | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |
| Reference                  | 5           | 0                        | 5     | Reference                  | 5           | 0                        | 18    | Reference                  | 5           | 0                        | 5     |
| Beta-star                  | 0           | 5                        | 5     | Beta-star                  | 0           | 5                        | 24    | Beta-star                  | 0           | 5                        | 5     |
| Total                      | 5           | 5                        | 10    | Total                      | 37          | 5                        | 25    | Total                      | 5           | 5                        | 10    |
| <b>Céphapirine 20 µg/l</b> |             | <b>Lait cru</b>          |       | <b>Céphapirine 20 µg/l</b> |             | <b>Lait cru</b>          |       | <b>Céphapirine 20 µg/l</b> |             | <b>Lait reconstitué</b>  |       |
|                            | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                            | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                            | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |
| Reference                  | 5           | 0                        | 5     | Reference                  | 5           | 0                        | 27    | Reference                  | 5           | 0                        | 5     |
| Beta-star                  | 0           | 5                        | 5     | Beta-star                  | 0           | 5                        | 33    | Beta-star                  | 0           | 5                        | 5     |
| Total                      | 5           | 5                        | 10    | Total                      | 55          | 5                        | 34    | Total                      | 5           | 5                        | 10    |
| <b>Céphapirine 40 µg/l</b> |             | <b>Lait cru</b>          |       | <b>Céphapirine 40 µg/l</b> |             | <b>Lait cru</b>          |       | <b>Céphapirine 40 µg/l</b> |             | <b>Lait reconstitué</b>  |       |
|                            | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                            | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                            | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |
| Reference                  | 5           | 0                        | 5     | Reference                  | 5           | 0                        | 36    | Reference                  | 5           | 0                        | 5     |
| Beta-star                  | 0           | 5                        | 5     | Beta-star                  | 0           | 5                        | 42    | Beta-star                  | 0           | 5                        | 5     |
| Total                      | 5           | 5                        | 10    | Total                      | 73          | 5                        | 43    | Total                      | 5           | 5                        | 10    |

**Annexe 5 : PRESENTATION DES DONNEES BRUTES SELON LE NOUVEAU REFERENTIEL : CEFTIOFUR**

| <b>Beta star 25</b>      |             |                       |       | <b>Beta star 100</b>     |             |                       |       | <b>Beta star 100</b>     |             |                         |       |
|--------------------------|-------------|-----------------------|-------|--------------------------|-------------|-----------------------|-------|--------------------------|-------------|-------------------------|-------|
| <b>Ceftiofur 50 µg/l</b> |             | <b>Lait cru</b>       |       | <b>Ceftiofur 50 µg/l</b> |             | <b>Lait cru</b>       |       | <b>Ceftiofur 50 µg/l</b> |             | <b>Lait reconstitué</b> |       |
|                          | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total |                          | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total |                          | Négatif (-) | Résultats Positif (+)   | Total |
| Reference                | 5           | 0                     | 5     | Reference                | 5           | 0                     | 9     | Reference                | 5           | 0                       | 5     |
| Beta-star                | 0           | 5                     | 5     | Beta-star                | 0           | 5                     | 15    | Beta-star                | 0           | 5                       | 5     |
| Total                    | 5           | 5                     | 10    | Total                    | 19          | 5                     | 16    | Total                    | 5           | 5                       | 10    |

| <b>Ceftiofur 100 µg/l</b> |             |                       |       | <b>Ceftiofur 100 µg/l</b> |             |                       |       | <b>Ceftiofur 100 µg/l</b> |             |                         |       |
|---------------------------|-------------|-----------------------|-------|---------------------------|-------------|-----------------------|-------|---------------------------|-------------|-------------------------|-------|
| <b>Ceftiofur 100 µg/l</b> |             | <b>Lait cru</b>       |       | <b>Ceftiofur 100 µg/l</b> |             | <b>Lait cru</b>       |       | <b>Ceftiofur 100 µg/l</b> |             | <b>Lait reconstitué</b> |       |
|                           | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total |                           | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total |                           | Négatif (-) | Résultats Positif (+)   | Total |
| Reference                 | 5           | 0                     | 5     | Reference                 | 5           | 0                     | 18    | Reference                 | 5           | 0                       | 5     |
| Beta-star                 | 0           | 5                     | 5     | Beta-star                 | 0           | 5                     | 24    | Beta-star                 | 0           | 5                       | 5     |
| Total                     | 5           | 5                     | 10    | Total                     | 37          | 5                     | 25    | Total                     | 5           | 5                       | 10    |

| <b>Ceftiofur 200 µg/l</b> |             |                       |       | <b>Ceftiofur 200 µg/l</b> |             |                       |       | <b>Ceftiofur 20 µg/l</b> |             |                         |       |
|---------------------------|-------------|-----------------------|-------|---------------------------|-------------|-----------------------|-------|--------------------------|-------------|-------------------------|-------|
| <b>Ceftiofur 200 µg/l</b> |             | <b>Lait cru</b>       |       | <b>Ceftiofur 200 µg/l</b> |             | <b>Lait cru</b>       |       | <b>Ceftiofur 20 µg/l</b> |             | <b>Lait reconstitué</b> |       |
|                           | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total |                           | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total |                          | Négatif (-) | Résultats Positif (+)   | Total |
| Reference                 | 5           | 0                     | 5     | Reference                 | 5           | 0                     | 27    | Reference                | 5           | 0                       | 5     |
| Beta-star                 | 0           | 5                     | 5     | Beta-star                 | 0           | 5                     | 33    | Beta-star                | 0           | 5                       | 5     |
| Total                     | 5           | 5                     | 10    | Total                     | 55          | 5                     | 34    | Total                    | 5           | 5                       | 10    |

| <b>Ceftiofur 400 µg/l</b> |             |                       |       | <b>Ceftiofur 400 µg/l</b> |             |                       |       | <b>Ceftiofur 400 µg/l</b> |             |                         |       |
|---------------------------|-------------|-----------------------|-------|---------------------------|-------------|-----------------------|-------|---------------------------|-------------|-------------------------|-------|
| <b>Ceftiofur 400 µg/l</b> |             | <b>Lait cru</b>       |       | <b>Ceftiofur 400 µg/l</b> |             | <b>Lait cru</b>       |       | <b>Ceftiofur 400 µg/l</b> |             | <b>Lait reconstitué</b> |       |
|                           | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total |                           | Négatif (-) | Résultats Positif (+) | Total |                           | Négatif (-) | Résultats Positif (+)   | Total |
| Reference                 | 4           | 1                     | 5     | Reference                 | 4           | 1                     | 37    | Reference                 | 4           | 1                       | 5     |
| Beta-star                 | 0           | 5                     | 5     | Beta-star                 | 0           | 5                     | 42    | Beta-star                 | 0           | 5                       | 5     |
| Total                     | 4           | 6                     | 10    | Total                     | 73          | 6                     | 44    | Total                     | 4           | 6                       | 10    |

**Annexe 6 : PRESENTATION DES DONNEES BRUTES SELON LE NOUVEAU REFERENTIEL : CEFQUINOME**

| <b>Beta star 25</b> |                |                    |                    | <b>Beta star 100</b> |                |                  |                    | <b>Beta star 100</b> |                |                         |          |                    |                    |
|---------------------|----------------|--------------------|--------------------|----------------------|----------------|------------------|--------------------|----------------------|----------------|-------------------------|----------|--------------------|--------------------|
| <b>Cefquinome</b>   | <b>10 µg/l</b> | <b>Lait cru</b>    |                    | <b>Cefquinome</b>    | <b>10 µg/l</b> | <b>Lait cru</b>  |                    | <b>Cefquinome</b>    | <b>10 µg/l</b> | <b>Lait reconstitué</b> |          |                    |                    |
|                     |                | <b>Résultats</b>   |                    |                      |                | <b>Résultats</b> |                    |                      |                | <b>Résultats</b>        |          |                    |                    |
|                     |                | <b>Négatif (-)</b> | <b>Positif (+)</b> | <b>Total</b>         |                |                  | <b>Négatif (-)</b> | <b>Positif (+)</b>   | <b>Total</b>   |                         |          | <b>Négatif (-)</b> | <b>Positif (+)</b> |
| Reference           | 5              | 0                  | 5                  | 5                    | Reference      | 5                | 0                  | 9                    | 9              | Reference               | 5        | 0                  | 5                  |
| Beta-star           | 0              | 5                  | 5                  | 5                    | Beta-star      | 0                | 5                  | 15                   | 15             | Beta-star               | 0        | 5                  | 5                  |
| <b>Total</b>        | <b>5</b>       | <b>5</b>           | <b>10</b>          | <b>10</b>            | <b>Total</b>   | <b>19</b>        | <b>5</b>           | <b>16</b>            | <b>16</b>      | <b>Total</b>            | <b>5</b> | <b>5</b>           | <b>5</b>           |
|                     |                |                    |                    |                      |                |                  |                    |                      |                |                         |          |                    |                    |
| <b>Cefquinome</b>   | <b>20 µg/l</b> | <b>Lait cru</b>    |                    | <b>Cefquinome</b>    | <b>20 µg/l</b> | <b>Lait cru</b>  |                    | <b>Cefquinome</b>    | <b>20 µg/l</b> | <b>Lait reconstitué</b> |          |                    |                    |
|                     |                | <b>Résultats</b>   |                    |                      |                | <b>Résultats</b> |                    |                      |                | <b>Résultats</b>        |          |                    |                    |
|                     |                | <b>Négatif (-)</b> | <b>Positif (+)</b> | <b>Total</b>         |                |                  | <b>Négatif (-)</b> | <b>Positif (+)</b>   | <b>Total</b>   |                         |          | <b>Négatif (-)</b> | <b>Positif (+)</b> |
| Reference           | 5              | 0                  | 5                  | 5                    | Reference      | 5                | 0                  | 18                   | 18             | Reference               | 5        | 0                  | 5                  |
| Beta-star           | 0              | 5                  | 5                  | 5                    | Beta-star      | 0                | 5                  | 24                   | 24             | Beta-star               | 0        | 5                  | 5                  |
| <b>Total</b>        | <b>5</b>       | <b>5</b>           | <b>10</b>          | <b>10</b>            | <b>Total</b>   | <b>37</b>        | <b>5</b>           | <b>25</b>            | <b>25</b>      | <b>Total</b>            | <b>5</b> | <b>5</b>           | <b>5</b>           |
|                     |                |                    |                    |                      |                |                  |                    |                      |                |                         |          |                    |                    |
| <b>Cefquinome</b>   | <b>40 µg/l</b> | <b>Lait cru</b>    |                    | <b>Cefquinome</b>    | <b>40 µg/l</b> | <b>Lait cru</b>  |                    | <b>Cefquinome</b>    | <b>40 µg/l</b> | <b>Lait reconstitué</b> |          |                    |                    |
|                     |                | <b>Résultats</b>   |                    |                      |                | <b>Résultats</b> |                    |                      |                | <b>Résultats</b>        |          |                    |                    |
|                     |                | <b>Négatif (-)</b> | <b>Positif (+)</b> | <b>Total</b>         |                |                  | <b>Négatif (-)</b> | <b>Positif (+)</b>   | <b>Total</b>   |                         |          | <b>Négatif (-)</b> | <b>Positif (+)</b> |
| Reference           | 5              | 0                  | 5                  | 5                    | Reference      | 5                | 0                  | 27                   | 27             | Reference               | 5        | 0                  | 5                  |
| Beta-star           | 0              | 5                  | 5                  | 5                    | Beta-star      | 0                | 5                  | 33                   | 33             | Beta-star               | 0        | 5                  | 5                  |
| <b>Total</b>        | <b>5</b>       | <b>5</b>           | <b>10</b>          | <b>10</b>            | <b>Total</b>   | <b>55</b>        | <b>5</b>           | <b>34</b>            | <b>34</b>      | <b>Total</b>            | <b>5</b> | <b>5</b>           | <b>5</b>           |
|                     |                |                    |                    |                      |                |                  |                    |                      |                |                         |          |                    |                    |
| <b>Cefquinome</b>   | <b>80 µg/l</b> | <b>Lait cru</b>    |                    | <b>Cefquinome</b>    | <b>80 µg/l</b> | <b>Lait cru</b>  |                    | <b>Cefquinome</b>    | <b>80 µg/l</b> | <b>Lait reconstitué</b> |          |                    |                    |
|                     |                | <b>Résultats</b>   |                    |                      |                | <b>Résultats</b> |                    |                      |                | <b>Résultats</b>        |          |                    |                    |
|                     |                | <b>Négatif (-)</b> | <b>Positif (+)</b> | <b>Total</b>         |                |                  | <b>Négatif (-)</b> | <b>Positif (+)</b>   | <b>Total</b>   |                         |          | <b>Négatif (-)</b> | <b>Positif (+)</b> |
| Reference           | 5              | 0                  | 5                  | 5                    | Reference      | 5                | 0                  | 36                   | 36             | Reference               | 5        | 0                  | 5                  |
| Beta-star           | 0              | 5                  | 5                  | 5                    | Beta-star      | 0                | 5                  | 42                   | 42             | Beta-star               | 0        | 5                  | 5                  |
| <b>Total</b>        | <b>5</b>       | <b>5</b>           | <b>10</b>          | <b>10</b>            | <b>Total</b>   | <b>73</b>        | <b>5</b>           | <b>43</b>            | <b>43</b>      | <b>Total</b>            | <b>5</b> | <b>5</b>           | <b>5</b>           |

**Annexe 7 : PRESENTATION DES DONNEES BRUTES SELON LE NOUVEAU REFERENTIEL : CEFALONIUM**

| <b>Beta star 25</b>      |             |                          |       | <b>Beta star 100</b>     |             |                          |       | <b>Beta star 100</b>     |             |                          |       |
|--------------------------|-------------|--------------------------|-------|--------------------------|-------------|--------------------------|-------|--------------------------|-------------|--------------------------|-------|
| <b>Céfalonium 5 µg/l</b> |             | <b>Lait cru</b>          |       | <b>Céfalonium 5 µg/l</b> |             | <b>Lait cru</b>          |       | <b>Céfalonium 5 µg/l</b> |             | <b>Lait reconstitué</b>  |       |
|                          | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                          | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                          | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |
| Reference                | 5           | 0                        | 5     | Reference                | 5           | 0                        | 9     | Reference                | 5           | 0                        | 5     |
| Beta-star                | 0           | 5                        | 5     | Beta-star                | 0           | 5                        | 15    | Beta-star                | 0           | 5                        | 5     |
| Total                    | 5           | 5                        | 10    | Total                    | 19          | 5                        | 16    | Total                    | 5           | 5                        | 10    |

| <b>Céfalonium 10 µg/l</b> |             |                          |       | <b>Céfalonium 10 µg/l</b> |             |                          |       | <b>Céfalonium 10 µg/l</b> |             |                          |       |
|---------------------------|-------------|--------------------------|-------|---------------------------|-------------|--------------------------|-------|---------------------------|-------------|--------------------------|-------|
| <b>Céfalonium 10 µg/l</b> |             | <b>Lait cru</b>          |       | <b>Céfalonium 10 µg/l</b> |             | <b>Lait cru</b>          |       | <b>Céfalonium 10 µg/l</b> |             | <b>Lait reconstitué</b>  |       |
|                           | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                           | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                           | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |
| Reference                 | 5           | 0                        | 5     | Reference                 | 5           | 0                        | 18    | Reference                 | 5           | 0                        | 5     |
| Beta-star                 | 0           | 5                        | 5     | Beta-star                 | 0           | 5                        | 24    | Beta-star                 | 0           | 5                        | 5     |
| Total                     | 5           | 5                        | 10    | Total                     | 37          | 5                        | 25    | Total                     | 5           | 5                        | 10    |

| <b>Céfalonium 20 µg/l</b> |             |                          |       | <b>Céfalonium 20 µg/l</b> |             |                          |       | <b>Céfalonium 20 µg/l</b> |             |                          |       |
|---------------------------|-------------|--------------------------|-------|---------------------------|-------------|--------------------------|-------|---------------------------|-------------|--------------------------|-------|
| <b>Céfalonium 20 µg/l</b> |             | <b>Lait cru</b>          |       | <b>Céfalonium 20 µg/l</b> |             | <b>Lait cru</b>          |       | <b>Céfalonium 20 µg/l</b> |             | <b>Lait reconstitué</b>  |       |
|                           | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                           | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                           | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |
| Reference                 | 5           | 0                        | 5     | Reference                 | 5           | 0                        | 27    | Reference                 | 5           | 0                        | 5     |
| Beta-star                 | 0           | 5                        | 5     | Beta-star                 | 0           | 5                        | 33    | Beta-star                 | 0           | 5                        | 5     |
| Total                     | 5           | 5                        | 10    | Total                     | 55          | 5                        | 34    | Total                     | 5           | 5                        | 10    |

| <b>Céfalonium 40 µg/l</b> |             |                          |       | <b>Céfalonium 40 µg/l</b> |             |                          |       | <b>Céfalonium 40 µg/l</b> |             |                          |       |
|---------------------------|-------------|--------------------------|-------|---------------------------|-------------|--------------------------|-------|---------------------------|-------------|--------------------------|-------|
| <b>Céfalonium 40 µg/l</b> |             | <b>Lait cru</b>          |       | <b>Céfalonium 40 µg/l</b> |             | <b>Lait cru</b>          |       | <b>Céfalonium 40 µg/l</b> |             | <b>Lait reconstitué</b>  |       |
|                           | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                           | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |                           | Négatif (-) | Résultats<br>Positif (+) | Total |
| Reference                 | 0           | 5                        | 5     | Reference                 | 0           | 5                        | 41    | Reference                 | 0           | 5                        | 5     |
| Beta-star                 | 0           | 5                        | 5     | Beta-star                 | 0           | 5                        | 42    | Beta-star                 | 0           | 5                        | 5     |
| Total                     | 0           | 10                       | 10    | Total                     | 73          | 10                       | 48    | Total                     | 0           | 10                       | 10    |

Beta-Star 25 lait cru

|       | MR + | MR - | Total |
|-------|------|------|-------|
| MA +  | 31   | 106  | 137   |
| MA -  | 19   | 39   | 58    |
| Total | 50   | 145  | 195   |

MA : méthode alternative

MR : méthode de référence

Exactitude relative :  $AC = (31+39)*100/195 =$

Spécificité relative :  $SP = (39/145)*100 =$

Sensibilité relative :  $SE = (31/50)*100 =$

Beta-Star 100 lait cru

|       | MR + | MR - | Total |
|-------|------|------|-------|
| MA +  | 31   | 109  | 139   |
| MA -  | 19   | 37   | 56    |
| Total | 50   | 145  | 195   |

Exactitude relative :  $AC = (31+37)*100/195 =$

Spécificité relative :  $SP = (37/145)*100 =$

Sensibilité relative :  $SE = (31/50)*100 =$

Beta-Star 100 lait reconstitué

|       | MR + | MR - | Total |
|-------|------|------|-------|
| MA +  | 31   | 109  | 139   |
| MA -  | 19   | 37   | 56    |
| Total | 50   | 145  | 195   |

Exactitude relative :  $AC = (31+37)*100/195 =$

Spécificité relative :  $SP = (37/145)*100 =$

Sensibilité relative :  $SE = (31/50)*100 =$

Beta-Star 25 lait cru

10 <p< 90 %

AC :  $\pm 0.069$

SP :  $\pm 0.073$

SE :  $\pm 0.137$

Beta-Star 100 lait cru

10 <p< 90 %

AC :  $\pm 0.068$

SP :  $\pm 0.072$

SE :  $\pm 0.137$

Beta-Star 100 lait reconstitué

10 <p< 90 %

AC :  $\pm 0.068$

SP :  $\pm 0.072$

SE :  $\pm 0.137$

Beta-Star 25 lait cru

$$Y = PD + ND = 106 + 19 = 125$$

La déviation positive PD est élevée, mais très différente de la déviation négative ND.

Test de Mac Namar (annexe B) :

$$\chi^2 = d^2/Y = IPD - NDI^2/y = 60.5 > 3.841$$

Donc les 2 méthodes sont différentes pour  $\alpha = 0.05$ .

Beta-Star 100 lait cru

$$Y = PD + ND = 108 + 19 = 127$$

La déviation positive PD est élevée, mais très différente de la déviation négative ND.

Test de Mac Namar (annexe B) :

$$\chi^2 = d^2/Y = IPD - NDI^2/y = 62.4 > 3.841$$

Donc les 2 méthodes sont différentes pour  $\alpha = 0.05$ .

Beta-Star 100 lait reconstitué

$$Y = PD + ND = 108 + 19 = 127$$

La déviation positive PD est élevée, mais très différente de la déviation négative ND.

Test de Mac Namar (annexe B) :

$$\chi^2 = d^2/Y = IPD - NDI^2/y = 62.4 > 3.841$$

Donc les 2 méthodes sont différentes pour  $\alpha = 0.05$ .