ニンは、ヨーニン原液とし、尾根部の雛壁の軟部の皮内に〇・一ミリリットルを注射するものとする。

4　補体結合反応検査　次の場合に実施する。

一　ヨーニン検査の結果ヨーネ病にかかつているおそれがあると認められためん羊又は山羊についての検査の場合

二　患畜又は疑似患畜と同居しためん羊又は山羊についての検査の場合

三　その他必要と認める場合

5　リアルタイムPCR法による検査、ヨーニン検査による検査及び補体結合反応検査以外の検査

一　疫学的検査

二　臨床検査

三　細菌検査

四　その他必要な検査

二　一により感作したスクリーニングプレートを洗浄液で洗浄し、これに標識抗体希釈液で所定の倍数に希釈した酵素標識抗体を分注した後、密封し、三十分間十六度から二十六度までの温度で感作すること。

三　二により感作したスクリーニングプレートを洗浄液で洗浄し、これに基質溶液を分注した後、十分間十六度から二十六度までの温度で反応させ、反応停止液を分注し、所定の波長で測定した吸光度値により算出した指示血清に対する相対吸光度値で判定すること。

四　指示血清に対する相対吸光度値が六十以上であるものを陽性とし、六十未満であるものを陰性とする。

2　スクリーニング法（ヨーネ病診断用抗原固相化酵素抗体反応キット（マイコバクテリウム・フレイ菌可溶化蛋白で血清処理するものに限る。）による方法）による検査の場合

一　スクリーニングプレートに、試料希釈吸収液で所定の倍数に希釈し、十五分間二十五度の温度で感作した指示血清及び被検血清を分注した後、密封し、四十五分間二十五度の温度で感作すること。

二　一により感作したスクリーニングプレートを洗浄液で洗浄し、これに標識抗体希釈液で所定の倍数に希釈した酵素標識抗体を分注した後、密封し、三十分間十六度から二十六度までの温度で感作すること。

三　二により感作したスクリーニングプレートを洗浄液で洗浄し、これに基質溶液を分注した後、十分間十六度から二十六度までの温度で反応させ、反応停止液を分注し、所定の波長で測定した吸光度値により算出した指示血清に対する相対吸光度値で判定すること。

四　指示血清に対する相対吸光度値が六十以上であるものを陽性とし、六十未満であるものを陰性とする。

2　スクリーニング法（ヨーネ病診断用抗原固相化酵素抗体反応キット（マイコバクテリウム・フレイ菌可溶化たん白で血清処理するものに限る。）による方法）による検査の場合

一　スクリーニングプレートに、試料希釈吸収液で所定の倍数に希釈し、十五分間二十五度の温度で感作した指示血清及び被検血清を分注した後、密封し、四十五分間二十五度の温度で感作すること。

二　一により感作したスクリーニングプレートを洗浄液で洗浄し、これに標識抗体希釈液で所定の倍数に希釈した酵素標識抗体を分注した後、密封し、三十分間十六度から二十六度までの温度で感作すること。

三　二により感作したスクリーニングプレートを洗浄液で洗浄し、これに基質溶液を分注した後、十分間十六度から二十六度までの温度で反応させ、反応停止液を分注し、所定の波長で測定した吸光度値により算出した指示血清に対する相対吸光度値で判定すること。

四　指示血清に対する相対吸光度値が六十以上であるものを陽性とし、六十未満であるものを陰性とする。

2　スクリーニング法（ヨーネ病診断用抗原固相化酵素抗体反応キット（マイコバクテリウム・フレイ菌可溶化たん白で血清処理するものに限る。）による方法）による検査の場合

一　スクリーニングプレートに、試料希釈吸収液で所定の倍数に希釈し、十五分間二十五度の温度で感作した指示血清及び被検血清を分注した後、密封し、四十五分間二十五度の温度で感作すること。

二　一により感作したスクリーニングプレートを洗浄液で洗浄し、これに標識抗体希釈液で所定の倍数に希釈した酵素標識抗体を分注した後、密封し、三十分間十六度から二十六度までの温度で感作すること。

三　二により感作したスクリーニングプレートを洗浄液で洗浄し、これに基質溶液を分注した後、十分間十六度から二十六度までの温度で反応させ、反応停止液を分注し、所定の波長で測定した吸光度値により算出した指示血清に対する相対吸光度値で判定すること。

四　指示血清に対する相対吸光度値が六十以上であるものを陽性とし、六十未満であるものを陰性とする。

2　スクリーニング法（ヨーネ病診断用抗原固相化酵素抗体反応キット（マイコバクテリウム・フレイ菌可溶化たん白で血清処理するものに限る。）による方法）による検査の場合

一　スクリーニングプレートに、試料希釈吸収液で所定の倍数に希釈し、十五分間二十五度の温度で感作した指示血清及び被検血清を分注した後、密封し、四十五分間二十五度の温度で感作すること。

二　一により感作したスクリーニングプレートを洗浄液で洗浄し、これに標識抗体希釈液で所定の倍数に希釈した酵素標識抗体を分注した後、密封し、三十分間十六度から二十六度までの温度で感作すること。

三　二により感作したスクリーニングプレートを洗浄液で洗浄し、これに基質溶液を分注した後、十分間十六度から二十六度までの温度で反応させ、反応停止液を分注し、所定の波長で測定した吸光度値により算出した指示血清に対する相対吸光度値で判定すること。

四　指示血清に対する相対吸光度値が六十以上であるものを陽性とし、六十未満であるものを陰性とする。

2　スクリーニング法（ヨーネ病診断用抗原固相化酵素抗体反応キット（マイコバクテリウム・フレイ菌可溶化たん白で血清処理するものに限る。）による方法）による検査の場合

一　スクリーニングプレートに、試料希釈吸収液で所定の倍数に希釈し、十五分間二十五度の温度で感作した指示血清及び被検血清を分注した後、密封し、四十五分間二十五度の温度で感作すること。

二　一により感作したスクリーニングプレートを洗浄液で洗浄し、これに標識抗体希釈液で所定の倍数に希釈した酵素標識抗体を分注した後、密封し、三十分間十六度から二十六度までの温度で感作すること。

三　二により感作したスクリーニングプレートを洗浄液で洗浄し、これに基質溶液を分注した後、十分間十六度から二十六度までの温度で反応させ、反応停止液を分注し、所定の波長で測定した吸光度値により算出した指示血清に対する相対吸光度値で判定すること。

四　指示血清に対する相対吸光度値が六十以上であるものを陽性とし、六十未満であるものを陰性とする。

2　スクリーニング法（ヨーネ病診断用抗原固相化酵素抗体反応キット（マイコバクテリウム・フレイ菌可溶化たん白で血清処理するものに限る。）による方法）による検査の場合

一　スクリーニングプレートに、試料希釈吸収液で所定の倍数に希釈し、十五分間二十五度の温度で感作した指示血清及び被検血清を分注した後、密封し、四十五分間二十五度の温度で感作すること。

二　一により感作したスクリーニングプレートを洗浄液で洗浄し、これに標識抗体希釈液で所定の倍数に希釈した酵素標識抗体を分注した後、密封し、三十分間十六度から二十六度までの温度で感作すること。

三　二により感作したスクリーニングプレートを洗浄液で洗浄し、これに基質溶液を分注した後、十分間十六度から二十六度までの温度で反応させ、反応停止液を分注し、所定の波長で測定した吸光度値により算出した指示血清に対する相対吸光度値で判定すること。

四　指示血清に対する相対吸光度値が六十以上であるものを陽性とし、六十未満であるものを陰性とする。

2　スクリーニング法（ヨーネ病診断用抗原固相化酵素抗体反応キット（マイコバクテリウム・フレイ菌可溶化たん白で血清処理するものに限る。）による方法）による検査の場合

一　スクリーニングプレートに、試料希釈吸収液で所定の倍数に希釈し、十五分間二十五度の温度で感作した指示血清及び被検血清を分注した後、密封し、四十五分間二十五度の温度で感作すること。

二　一により感作したスクリーニングプレートを洗浄液で洗浄し、これに標識抗体希釈液で所定の倍数に希釈した酵素標識抗体を分注した後、密封し、三十分間十六度から二十六度までの温度で感作すること。

三　二により感作したスクリーニングプレートを洗浄液で洗浄し、これに基質溶液を分注した後、十分間十六度から二十六度までの温度で反応させ、反応停止液を分注し、所定の波長で測定した吸光度値により算出した指示血清に対する相対吸光度値で判定すること。

四　指示血清に対する相対吸光度値が六十以上であるものを陽性とし、六十未満であるものを陰性とする。

2　スクリーニング法（ヨーネ病診断用抗原固相化酵素抗体反応キット（マイコバクテリウム・フレイ菌可溶化たん白で血清処理するものに限る。）による方法）による検査の場合

一　スクリーニングプレートに、試料希釈吸収液で所定の倍数に希釈し、十五分間二十五度の温度で感作した指示血清及び被検血清を分注した後、密封し、四十五分間二十五度の温度で感作すること。

3　ヨーニン検査

一　注射に用いるヨーニンは、ヨーニン原液とし、注射量は、〇・一ccとする。

二　注射部位は、尾根部の皺壁の軟部を消毒用アルコールで十分消毒した後皮内に注射するものとする。

4　エライザ法による検査　牛についてのヨーニン検査を実施する場合に併せて実施することができる。

5　補体結合反応検査　次の場合に実施する。

一　ヨーニン検査の結果ヨーネ病にかかつているおそれがあると認められためん羊又は山羊についての検査の場合

二　患畜又は疑似患畜と同居しためん羊又は山羊についての検査の場合

三　その他必要と認める場合

6　リアルタイムPCR法による検査、ヨーニン検査、エライザ法による検査及び補体結合反応検査以外の検査

一　疫学的検査

四　エライザ法による反応が陽性であり、ヨーニンの反応で腫脹の差が二ミリメートル以上であるもの

五　ヨーニンの反応で腫脹の差が二ミリメートル以上であり、補体結合反応法による抗体価が十倍希釈血清以上であるもの

六　ヨーネ病の疑似患畜であるめん羊又は山羊について、九十日後のヨーニン検査及び補体結合反応検査による再検査において四又は2のいずれかになつたもの

七　ヨーネ病の疑似患畜であるめん羊又は山羊について、初回検査後二週間隔で三回以上補体結合反応検査を行い、抗体価の顕著な上昇及びその持続が認められたもの

2　次のいずれかに該当するものは、ヨーネ病の疑似患畜とする。