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、四十五分間二十五度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（使用する直前に調整したもの）を分注した後、十五分間二十五度の温度で反応させ、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〇・三以上であるものを陽性とし、〇・三未満であるものを陰性とする。

3　リアルタイムＰＣＲ法による検査の場合

一　ヨーネ菌核酸抽出試薬を用いて、検体の糞便から糞便抽出ＤＮＡ液を作製すること。

二　リアルタイムＰＣＲ反応液（ＤＮＡポリメラーゼ、サイバーグリーン、プライマー、ウラシル－Ｎ－グリコシラーゼ、リボヌクレアーゼフリー水を含むもの）〇・〇四五ミリリットルに一で作成した糞便抽出ＤＮＡ液

一　ヨーニンの反応で腫脹の差がめん羊若しくは山羊については四ミリメートル以上又は牛については二ミリメートル以上であり、かつ、補体結合反応法による抗体価が五倍希釈血清以下であるもの

二　ヨーニンの反応で腫脹の差がめん羊又は山羊については二ミリメートル以上四ミリメートル未満であり、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

三　ヨーニンの反応で腫脹の差が二ミリメートル未満であり、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

3　1及び2に該当しないものは、ヨーネ病の患畜又は疑似患畜でないものとする。

二　臨床検査

三　細菌検査

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、四十五分間二十五度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（使用する直前に調整したもの）を分注した後、十五分間二十五度の温度で反応させ、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〇・三以上であるものを陽性とし、〇・三未満であるものを陰性とする。

3　リアルタイムＰＣＲ法による検査の場合

一　ヨーネ菌核酸抽出試薬を用いて、検体の糞便から糞便抽出ＤＮＡ液を作製すること。

二　リアルタイムＰＣＲ反応液（ＤＮＡポリメラーゼ、サイバーグリーン、プライマー、ウラシル－Ｎ－グリコシラーゼ、リボヌクレアーゼフリー水を含むもの）〇・〇四五ｃｃに一で作成した糞便抽出ＤＮＡ液〇・〇〇五

一　エライザ法による反応が陰性であるが、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

二　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未満であるもの

三　ヨーニンの反応で腫脹の差が四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五倍希釈血清以下であるもの

四　ヨーニンの反応で腫脹の差が二ミリメートル以上四ミリメートル未満であり、補体結合反応法による抗体価が五倍希釈血清以上であるもの

五　ヨーニンの反応で腫脹の差が二ミリメートル未満であり、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