反応式からヨーネ菌ＤＮＡ濃度を計算し、検体調整液〇・〇二五ミリリットル中のＤＮＡ量が〇・〇〇一ピコグラム以上と判定された検体を陽性とし、それ以外の検体を陰性とすること。

4　ヨーニン検査の場合

一　ヨーニンの注射後四十八時間から七十二時間までの間における腫脹の差を測定すること。

二　注射前における注射部位の皮膚の厚さの測定と注射後における注射部位の皮膚の厚さの測定は、やむをえない事由がある場合のほかは同一人が行うこと。

5　補体結合反応検査の場合

十六時間から二十時間までの間四度から七度までの温度で感作した希釈血清（非働化血清を生理食塩液で五倍、十倍及び二十倍に希釈し、これらに等量の抗原とあらかじめ二単位となるように検定した倍量のモルモット補体を加えたもの）に三パーセントめん羊感作血球液（あらかじめ検定した三単位の溶血素液と三パーセントめん羊血球液を同量混和したもの）を加えて、三十分間三十七度の温度で感作した後の溶血の程度により抗体価を測定すること。

6　ヨーネ病の疑似患畜については、細菌検査（分離培養）又はリアルタイムＰＣＲ法による検査（めん羊若

整液〇・〇二五ｃｃ中のＤＮＡ量が〇・〇〇一ピコグラム以上と判定された検体を陽性とし、それ以外の検体を陰性とすること。

4　ヨーニン検査の場合

一　ヨーニンの注射後四十八時間から七十二時間までの間における腫脹の差を測定すること。

二　注射前における注射部位の皮膚の厚さの測定と注射後における注射部位の皮膚の厚さの測定は、やむをえない事由がある場合のほかは同一人が行うこと。

5　エライザ法による検査の場合

一　保存液の除去後、洗浄液で洗浄したヨーネ病診断用抗原を固相化した検査用プレート（以下「プレート」という。）に、エライザ緩衝液（以下「緩衝液」という。）で所定の倍数に希釈した指示血清及び被検牛血清（マイコバクテリウム・フレイ菌抽出液で吸収処理したもの）を分注した後、密封し、二時間二十五度の温度で感作すること。

二　一により感作したプレートを洗浄液で洗浄し、これに緩衝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、二時間二十五度の温度で感作すること。

三　二により感作したプレートを洗浄液で洗浄