

# 家畜伝染病予防法施行規則

昭和26年 5月31日 農林省 令 第35号

家畜伝染病予防法施行規則の一部を改正する省令

平成23年 4月22日 農林水産省 令 第27号

## 改正前

## 改正後

- その他 -

施行日：平成23年 4月22日

別表第一（第九条、第三十七条関係）  
検査の方法

区分	術式	要領	判定
ブルセラ病（牛の場合）	1 急速凝集反応法による検査 一 検査の反応が陽性である場合には、2の検査を行う。 二 診断に用いる抗原は、ブルセラ急速診断用菌液とする。 2 酵素免疫測定法（以下「エライザ法」という。）による検査 3 補体結合反応検査 一 エライザ法による検査	1 急速凝集反応法の場合 一 二十度から三十度までの温度の下において、ガラス平板上に血清〇・〇四cc及び〇・〇二ccを置き、これらにそれぞれ急速診断用菌液〇・〇四ccを混和して五分を経過するまでの間におけるその凝集の程度により判定すること。 二 一の混和液の全てが凝集しないもの及び一の混和液のうち血清〇・〇四ccとの混和液が凝集し、血清〇・〇二ccとの混和液が凝集しないものは、これを陰性とする。 2 エライザ法の場合 一 保存液の除去後、ブルセラ病診断用抗原を固相化した検査用プ	1 次のいずれかに該当するものは、ブルセラ病の患畜とする。 一 エライザ法による反応が陽性であり、補体結合反応検査による反応が陰性でないもの 二 細菌検査においてブルセラ病の病原体が認められるもの 2 エライザ法による反応が陽性であるもの（1及び3の三に該当するものを除く。） は、ブルセラ病の疑似患畜とする。 3 次のいずれかに該当するものは、ブルセラ病の患畜又は疑似患畜でないものとする。 一 急速凝集反応法による反応が陰性であるもの 二 エライザ法による反応が陰性であるもの 三 補体結合反応検査による反応が陰性であるもの

別表第一（第九条、第三十七条関係）  
検査の方法

区分	術式	要領	判定
ブルセラ病（牛の場合）	1 急速凝集反応法による検査 一 検査の反応が陽性である場合には、2の検査を行う。 二 診断に用いる抗原は、ブルセラ急速診断用菌液とする。 2 酵素免疫測定法（以下「エライザ法」という。）による検査 3 補体結合反応検査 一 エライザ法による検査	1 急速凝集反応法の場合 一 二十度から三十度までの温度の下において、ガラス平板上に血清〇・〇四cc及び〇・〇二ccを置き、これらにそれぞれ急速診断用菌液〇・〇四ccを混和して五分を経過するまでの間におけるその凝集の程度により判定すること。 二 一の混和液の全てが凝集しないもの及び一の混和液のうち血清〇・〇四ccとの混和液が凝集し、血清〇・〇二ccとの混和液が凝集しないものは、これを陰性とする。 2 エライザ法の場合 一 保存液の除去後、ブルセラ病診断用抗原を固相化した検査用プ	1 次のいずれかに該当するものは、ブルセラ病の患畜とする。 一 エライザ法による反応が陽性であり、補体結合反応検査による反応が陰性でないもの 二 細菌検査においてブルセラ病の病原体が認められるもの 2 エライザ法による反応が陽性であるもの（1及び3の三に該当するものを除く。） は、ブルセラ病の疑似患畜とする。 3 次のいずれかに該当するものは、ブルセラ病の患畜又は疑似患畜でないものとする。 一 急速凝集反応法による反応が陰性であるもの 二 エライザ法による反応が陰性であるもの 三 補体結合反応検査による反応が陰性であるもの

る検査の反応が陽性である場合に実施する。  
二 診断に用いる抗原は、生理食塩液でブルセラ補体結合反応用可溶性抗原の原液を二単位となるように薄めたものとする。  
4 1 から3 までの検査以外の検査（ただし、三の検査は、必要と認められる場合に行えばよい。）  
一 疫学的検査  
二 臨床検査  
三 細菌検査

レート（以下「ブルセラ診断プレート」という。）に、血清希釈用液で所定の倍率に希釈した指示血清及び被検牛血清を分注した後、密封し、三十分間二十度から三十度までの温度で感作すること。  
二 一により感作したブルセラ診断プレートを洗浄液で三回洗浄し、これに洗浄液で所定の倍数に希釈した二次抗体溶液を分注した後、密封し、三十分間二十度から三十度までの温度で感作すること。  
三 二により感作したブルセラ診断プレートを洗浄液で三回洗浄し、これに発色基質液（使用する直前に調整したもの）を分注した後、十分間二十度から三十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三十

る検査の反応が陽性である場合に実施する。  
二 診断に用いる抗原は、生理食塩液でブルセラ補体結合反応用可溶性抗原の原液を二単位となるように薄めたものとする。  
4 1 から3 までの検査以外の検査（ただし、三の検査は、必要と認められる場合に行えばよい。）  
一 疫学的検査  
二 臨床検査  
三 細菌検査

レート（以下「ブルセラ診断プレート」という。）に、血清希釈用液で所定の倍率に希釈した指示血清及び被検牛血清を分注した後、密封し、三十分間二十度から三十度までの温度で感作すること。  
二 一により感作したブルセラ診断プレートを洗浄液で三回洗浄し、これに洗浄液で所定の倍数に希釈した二次抗体溶液を分注した後、密封し、三十分間二十度から三十度までの温度で感作すること。  
三 二により感作したブルセラ診断プレートを洗浄液で三回洗浄し、これに発色基質液（使用する直前に調整したもの）を分注した後、十分間二十度から三十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三十

以上であるものを陽性と  
し、三十未満であるものを陰性とするこ  
と。

3 補体結合反  
応検査の場合  
一十六時間か  
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)に二%め  
ん羊感作血球  
液(あらかじめ  
検定した二  
単位の溶血素  
液と二%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  
度により判定  
すること。

二五倍の希釈  
血清において  
五十%溶血阻  
止未満である  
ものを陰性と  
すること。

4 急速凝集反  
応法による検  
査において陰  
性であつても  
急速凝集反応  
法による検査  
以外の検査の  
結果ブルセラ  
病にかかつて  
いるおそれが

以上であるも  
のを陽性と  
し、三十未満  
であるものを  
陰性とするこ  
と。

3 補体結合反  
応検査の場合  
一十六時間か  
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)に二%め  
ん羊感作血球  
液(あらかじめ  
検定した二  
単位の溶血素  
液と二%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  
度により判定  
すること。

二五倍の希釈  
血清において  
五十%溶血阻  
止未満である  
ものを陰性と  
すること。

4 急速凝集反  
応法による検  
査において陰  
性であつても  
急速凝集反応  
法による検査  
以外の検査の  
結果ブルセラ  
病にかかつて  
いるおそれが

		<p>あると認められた牛については、急速凝集反応法による検査の結果が判明した日から十四日以上二十一日以内の間隔を置いてエライザ法及び補体結合反応法による検査を行うこと。</p> <p>5 ブルセラ病の患畜と同居した牛については、十四日以上六十日以内の間隔を置いて検査を繰り返し、その牛及びその牛と同居する全ての家畜が陰性となるまで検査を行うこと。</p>			<p>あると認められた牛については、急速凝集反応法による検査の結果が判明した日から十四日以上二十一日以内の間隔を置いてエライザ法及び補体結合反応法による検査を行うこと。</p> <p>5 ブルセラ病の患畜と同居した牛については、十四日以上六十日以内の間隔を置いて検査を繰り返し、その牛及びその牛と同居する全ての家畜が陰性となるまで検査を行うこと。</p>		
ブルセラ病 (牛以外の家畜の場合)	<p>1 凝集反応検査 次の一又は二の方法による。ただし、二の検査の反応が陰性でない場合には、一の検査を行う。</p> <p>一 試験管凝集反応法 診断に用いる抗原は、〇・五％石</p>	<p>1 試験管凝集反応法の場合 一 二十時間から二十四時間までの間三七度の温度で感作した時における希釈血清（血清を〇・五％石炭酸加生理食塩液で五倍、十倍、二十倍及び四十倍に希釈し、これらに等量の抗原を加えて血清の最終希釈倍数をそれぞれ十倍、二十倍、四十倍及び八十倍としたもの）の凝集の程度により陽性、陰性又は疑反応を判定すること。</p>	<p>1 次のいずれかに該当するものは、ブルセラ病の患畜とする。</p> <p>一 試験管凝集反応法による反応が八十倍希釈血清において陽性であるもの</p> <p>二 試験管凝集反応法による反応が四十倍希釈血清において陽性であり、補体結合反応法による反応が陰性でないもの</p> <p>三 細菌検査においてブルセラ病の病原体が認められるもの</p> <p>2 次のいずれかに該当するもの（3の四に該当するものを除く。）は、ブルセラ病の疑似患畜とする。</p> <p>一 試験管凝集反応法による反応が</p>	ブルセラ病 (牛以外の家畜の場合)	<p>1 凝集反応検査 次の一又は二の方法による。ただし、二の検査の反応が陰性でない場合には、一の検査を行う。</p> <p>一 試験管凝集反応法 診断に用いる抗原は、〇・五％石</p>	<p>1 試験管凝集反応法の場合 一 二十時間から二十四時間までの間三七度の温度で感作した時における希釈血清（血清を〇・五％石炭酸加生理食塩液で五倍、十倍、二十倍及び四十倍に希釈し、これらに等量の抗原を加えて血清の最終希釈倍数をそれぞれ十倍、二十倍、四十倍及び八十倍としたもの）の凝集の程度により陽性、陰性又は疑反応を判定すること。</p>	<p>1 次のいずれかに該当するものは、ブルセラ病の患畜とする。</p> <p>一 試験管凝集反応法による反応が八十倍希釈血清において陽性であるもの</p> <p>二 試験管凝集反応法による反応が四十倍希釈血清において陽性であり、補体結合反応法による反応が陰性でないもの</p> <p>三 細菌検査においてブルセラ病の病原体が認められるもの</p> <p>2 次のいずれかに該当するもの（3の四に該当するものを除く。）は、ブルセラ病の疑似患畜とする。</p> <p>一 試験管凝集反応法による反応が</p>

炭酸加生理食塩液でブルセラ診断用菌液の原液を十倍に薄めたものとする。  
二 急速凝集反応法  
抗原は、ブルセラ急速診断用菌液とする。  
2 補体結合反応検査  
一次の場合に実施する。  
イ 試験管凝集反応法による反応が疑反応又は陽性である場合  
口 凝集反応検査以外の検査の結果ブルセラ病にかかっているおそれがあると認められた家畜について  
四十倍以上の希釈血清において五十%凝集以上（原血清一cc当たり一〇〇国際単位以上）であるものを陽性とし、二十倍希釈血清において二十五%凝集以下（原血清一cc当たり五十国際単位未満）であるものを陰性とし、陽性及び陰性でないもの（原血清一cc当たり五十国際単位以上一〇〇国際単位未満）を疑反応とすること。  
2 急速凝集反応法の場合  
一 二十度から三十度までの温度の下において、ガラス平板上に血清〇・〇四cc及び〇・〇二ccを置き、これらにそれぞれ急速診断用菌液〇・〇四ccを混和して五分を経過するまでの間におけるその凝集の程度により判定すること。  
二 一の混和液の全てが凝集しないもの及び一の混和液のうち血清〇・〇四ccとの混和液が凝集し、血清〇・〇二ccとの混和液が凝集しないもの

四十倍希釈血清において陽性であり、補体結合反応法による反応が陰性であるもの  
二 試験管凝集反応法による反応が疑反応であり、補体結合反応法による反応が陰性でないもの  
三 試験管凝集反応法による反応が陰性であり、補体結合反応法による反応が陰性でないもの  
3 次のいずれかに該当するものは、ブルセラ病の患畜又は疑似患畜でないものとする。  
一 試験管凝集反応法による反応が陰性であるもの（2の三に該当するものを除く。）  
二 急速凝集反応法による反応が陰性であるもの  
三 試験管凝集反応法による反応が疑反応であり、補体結合反応法による反応が陰性であるもの  
四 ブルセラ病の疑似患畜についての再検査の判定が引き続き二回疑似患畜であるもの

炭酸加生理食塩液でブルセラ診断用菌液の原液を十倍に薄めたものとする。  
二 急速凝集反応法  
抗原は、ブルセラ急速診断用菌液とする。  
2 補体結合反応検査  
一次の場合に実施する。  
イ 試験管凝集反応法による反応が疑反応又は陽性である場合  
口 凝集反応検査以外の検査の結果ブルセラ病にかかっているおそれがあると認められた家畜について  
四十倍以上の希釈血清において五十%凝集以上（原血清一cc当たり一〇〇国際単位以上）であるものを陽性とし、二十倍希釈血清において二十五%凝集以下（原血清一cc当たり五十国際単位未満）であるものを陰性とし、陽性及び陰性でないもの（原血清一cc当たり五十国際単位以上一〇〇国際単位未満）を疑反応とすること。  
2 急速凝集反応法の場合  
一 二十度から三十度までの温度の下において、ガラス平板上に血清〇・〇四cc及び〇・〇二ccを置き、これらにそれぞれ急速診断用菌液〇・〇四ccを混和して五分を経過するまでの間におけるその凝集の程度により判定すること。  
二 一の混和液の全てが凝集しないもの及び一の混和液のうち血清〇・〇四ccとの混和液が凝集し、血清〇・〇二ccとの混和液が凝集しないもの

四十倍希釈血清において陽性であり、補体結合反応法による反応が陰性であるもの  
二 試験管凝集反応法による反応が疑反応であり、補体結合反応法による反応が陰性でないもの  
三 試験管凝集反応法による反応が陰性であり、補体結合反応法による反応が陰性でないもの  
3 次のいずれかに該当するものは、ブルセラ病の患畜又は疑似患畜でないものとする。  
一 試験管凝集反応法による反応が陰性であるもの（2の三に該当するものを除く。）  
二 急速凝集反応法による反応が陰性であるもの  
三 試験管凝集反応法による反応が疑反応であり、補体結合反応法による反応が陰性であるもの  
四 ブルセラ病の疑似患畜についての再検査の判定が引き続き二回疑似患畜であるもの

ての検査の場合  
ハ疑似患者について  
の再検査の場合  
ニ患者又は疑似患者と同居した家畜について  
の検査の場合  
ホその他必要と認め  
る場合  
ニ診断に用いる抗原は、生理食塩液でブルセラ補体結合反応用可溶性抗原の液を二単位となるように薄めたものとする。  
3 凝集反応検査及び補体結合反応検査以外の検査  
(ただし、三の検査は、必要と認め  
る場合に行

は、これを陰性とするこ  
と。  
3 補体結合反応の場合  
一十六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)に二%めん羊感作血球液(あらかじめ検定した二単位の溶血素液と二%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判定すること。  
ニ五倍の希釈血清において五十%溶血阻止未満であるものを陰性とするこ  
と。  
4 凝集反応検査において陰性であつても凝集反応検査以外の検査の結果ブルセラ病にかかつて  
いるおそれがあると認められた家畜については、凝集反応検査の結果が判明した

ての検査の場合  
ハ疑似患者について  
の再検査の場合  
ニ患者又は疑似患者と同居した家畜について  
の検査の場合  
ホその他必要と認め  
る場合  
ニ診断に用いる抗原は、生理食塩液でブルセラ補体結合反応用可溶性抗原の液を二単位となるように薄めたものとする。  
3 凝集反応検査及び補体結合反応検査以外の検査  
(ただし、三の検査は、必要と認め  
る場合に行

は、これを陰性とするこ  
と。  
3 補体結合反応の場合  
一十六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)に二%めん羊感作血球液(あらかじめ検定した二単位の溶血素液と二%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判定すること。  
ニ五倍の希釈血清において五十%溶血阻止未満であるものを陰性とするこ  
と。  
4 凝集反応検査において陰性であつても凝集反応検査以外の検査の結果ブルセラ病にかかつて  
いるおそれがあると認められた家畜については、凝集反応検査の結果が判明した

	<p>えばよい。) 一疫学的検査 二臨床検査 三細菌検査</p>	<p>日から十四日以上二十一日以内の間隔において試験管凝集反応法及び補体結合反応法による検査を行うこと。 5 ブルセラ病の疑似患畜については、十四日以上六十日以内の間隔を繰り返すこと。 6 ブルセラ病の患畜又は疑似患畜と同居した家畜については、十四日以上六十日以内の間隔を繰り返すこと、その家畜及びその家畜と同居する全ての家畜が陰性となるまで検査を行うこと。</p>		<p>えばよい。) 一疫学的検査 二臨床検査 三細菌検査</p>	<p>日から十四日以上二十一日以内の間隔を繰り返すこと。 5 ブルセラ病の疑似患畜については、十四日以上六十日以内の間隔を繰り返すこと。 6 ブルセラ病の患畜又は疑似患畜と同居した家畜については、十四日以上六十日以内の間隔を繰り返すこと、その家畜及びその家畜と同居する全ての家畜が陰性となるまで検査を行うこと。</p>	<p>日から十四日以上二十一日以内の間隔を繰り返すこと。 5 ブルセラ病の疑似患畜については、十四日以上六十日以内の間隔を繰り返すこと。 6 ブルセラ病の患畜又は疑似患畜と同居した家畜については、十四日以上六十日以内の間隔を繰り返すこと、その家畜及びその家畜と同居する全ての家畜が陰性となるまで検査を行うこと。</p>	
結核病	<p>1 ツベルクリン検査 皮内注射法による。ただし、牛については、皮下注射法によること。一皮内注射法 注射に用いるツベルクリン</p>	<p>1 皮内注射法の場合 一ツベルクリンの注射後七十二時間を経過した時における注射部位の皮膚の厚さと注射前における同部位の皮膚の厚さとの差（以下「腫（しゆ）脹の差」という。）及び注射部位の皮膚の組織の硬結（以下「硬結」という。）の有無により陽性、陰性又は疑反応を判定すること。</p>	<p>1 次のいずれかに該当するものは、結核病の患畜とする。 一ツベルクリンの反応が陽性であるもの 二ツベルクリンの反応が陽性でないがツベルクリンによる検査以外の検査により明らかに結核病にかかっていると診断できるもの 三結核病の疑似患畜についての再検査において引き続き二回ツベルクリン反応が疑反応であるもの 2 次のいずれかに該当するものは、結核病の疑似</p>	結核病	<p>1 ツベルクリン検査 皮内注射法による。ただし、牛については、皮下注射法によること。一皮内注射法 注射に用いるツベルクリン</p>	<p>1 皮内注射法の場合 一ツベルクリンの注射後七十二時間を経過した時における注射部位の皮膚の厚さと注射前における同部位の皮膚の厚さとの差（以下「腫（しゆ）脹の差」という。）及び注射部位の皮膚の組織の硬結（以下「硬結」という。）の有無により陽性、陰性又は疑反応を判定すること。</p>	<p>1 次のいずれかに該当するものは、結核病の患畜とする。 一ツベルクリンの反応が陽性であるもの 二ツベルクリンの反応が陽性でないがツベルクリンによる検査以外の検査により明らかに結核病にかかっていると診断できるもの 三結核病の疑似患畜についての再検査において引き続き二回ツベルクリン反応が疑反応であるもの 2 次のいずれかに該当するものは、結核病の疑似</p>

は、牛にあつてはツベルクリン原液とし、山羊にあつては五十%ツベルクリン原液とし、注射量は、〇・一ccとする。

口注射部位は、尾根部の側の皺（すへき）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。

皮下注射法注射に用いるツベルクリンは、〇・五%石炭酸水でツベルクリンの原液を十倍に薄めたも

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、同一人で行うこと。

三腫（しゆ）脹の差が五ミリメートル以上であつて硬結を伴うものを陽性、腫（しゆ）脹の差が三ミリメートル以下であつて硬結を伴わないものを陰性、陽性及び陰性でないものを疑反応とすること。

四ツベルクリンの注射後四十八時間を経過した時における注射部位の皮膚の厚さと注射前における同部位の皮膚の厚さとの差が五ミリメートル以上であつて硬結を伴うものは、その時において陽性の判定をすることができる。

五結核病の疑似患畜については、十四日以上六十日以内の間隔をおいて検査を繰り返すこと。

六結核病の患畜又は疑似患畜と同居した牛については、十四日以

患畜とする。

一ツベルクリン反応が疑反応であるもの

二ツベルクリンの反応が陰性であるがツベルクリンによる検査以外の検査により結核病にかかっている疑いがあると診断できるもの

3 1及び2に該当しないものは、結核病の患畜又は疑似患畜でないものとする。

は、牛にあつてはツベルクリン原液とし、山羊にあつては五十%ツベルクリン原液とし、注射量は、〇・一ccとする。

口注射部位は、尾根部の側の皺（すへき）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。

皮下注射法注射に用いるツベルクリンは、〇・五%石炭酸水でツベルクリンの原液を十倍に薄めたも

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、同一人で行うこと。

三腫（しゆ）脹の差が五ミリメートル以上であつて硬結を伴うものを陽性、腫（しゆ）脹の差が三ミリメートル以下であつて硬結を伴わないものを陰性、陽性及び陰性でないものを疑反応とすること。

四ツベルクリンの注射後四十八時間を経過した時における注射部位の皮膚の厚さと注射前における同部位の皮膚の厚さとの差が五ミリメートル以上であつて硬結を伴うものは、その時において陽性の判定をすることができる。

五結核病の疑似患畜については、十四日以上六十日以内の間隔をおいて検査を繰り返すこと。

六結核病の患畜又は疑似患畜と同居した牛については、十四日以

患畜とする。

一ツベルクリン反応が疑反応であるもの

二ツベルクリンの反応が陰性であるがツベルクリンによる検査以外の検査により結核病にかかっている疑いがあると診断できるもの

3 1及び2に該当しないものは、結核病の患畜又は疑似患畜でないものとする。

のとし、注射量は、次の区分によるものとする。満一才以上五<sup>CC</sup>満一才未満三<sup>CC</sup>二ツベルクリン以外の検査一疫学的検査二臨床検査

上六十日以内の間隔を繰り返して検査を繰り返す。引き続き二回の検査においてその牛及びその牛と同居する全ての牛が陰性となるまで検査を行うこと。  
二 皮下注射法の場合  
一 ツベルクリンの注射後八時間から二十四時間までの間に二時間ごとに行う検温における最高体温と注射前に四時間ごとに三回以上行った検温における最高体温との差及び注射後における熱候により陽性、陰性又は疑反応を判定すること。  
二 体温の差が一度以上の増温を示し、熱候の持続するものを陽性、〇・六度以下の増温にとどまり熱候の持続しないものを陰性、陽性又は陰性でないものを疑反応とすること。  
三 注射後二十時間の検温において引き続き体温の上昇する傾向のあるものは、更に二十四時間から三十六時間の間に検査を行い、判定をすること。

のとし、注射量は、次の区分によるものとする。満一才以上五<sup>CC</sup>満一才未満三<sup>CC</sup>二ツベルクリン以外の検査一疫学的検査二臨床検査

上六十日以内の間隔を繰り返して検査を繰り返す。引き続き二回の検査においてその牛及びその牛と同居する全ての牛が陰性となるまで検査を行うこと。  
二 皮下注射法の場合  
一 ツベルクリンの注射後八時間から二十四時間までの間に二時間ごとに行う検温における最高体温と注射前に四時間ごとに三回以上行った検温における最高体温との差及び注射後における熱候により陽性、陰性又は疑反応を判定すること。  
二 体温の差が一度以上の増温を示し、熱候の持続するものを陽性、〇・六度以下の増温にとどまり熱候の持続しないものを陰性、陽性又は陰性でないものを疑反応とすること。  
三 注射後二十時間の検温において引き続き体温の上昇する傾向のあるものは、更に二十四時間から三十六時間の間に検査を行い、判定をすること。

<p>ヨーネ病</p> <p>1 予備的抗体検出法（以下「スクリーニング法」という。）による検査</p> <p>牛についての検査の場合に実施することができる。ただし、検査の反応が陽性である場合には、</p> <p>2、</p> <p>3、4</p> <p>又は5の検査を行うものとする。</p> <p>2 エライザ法による検査</p> <p>牛についての検査の場合に実施する。ただし、必要と認める場合には、ヨーニン検査を行うことができる。</p> <p>3</p>	<p>1 スクリーニング法 ◆追加◆による検査の場合</p> <p>一 ヨーネ菌粗抽出抗原を固相化したプレート（以下「スクリーニングプレート」という。）に、試料希釈吸収液で所定の倍数に希釈し、十五分間十六度から二十六度までの温度で感作した指示血清及び被検牛血清を分注した後、密封し、四十五分間十六度から二十六度までの温度で感作すること。</p> <p>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。</p> <p>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</p>	<p>1 次のいずれかに該当するものは、ヨーネ病の患畜とする。</p> <p>一 慢性で頑固な水様性下痢、栄養不良、泌乳量の低下等の臨床症状を示し、細菌検査（直接鏡検）で塊状の抗酸菌が証明されたもの</p> <p>二 細菌検査（分離培養）において菌分離陽性となったもの</p> <p>三 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（しゅ）脹の差が二ミリメートル以上であるもの</p> <p>四 ヨーニンの反応で腫（しゅ）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</p> <p>五 ヨーネ病の疑似患畜についてのエライザ法による再検査においてエライザ法による反応が陽性となったもの</p> <p>六 ヨーネ病の疑似患畜についての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の四、五若しくは六になつたもの</p> <p>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</p>	<p>ヨーネ病</p> <p>1 予備的抗体検出法（以下「スクリーニング法」という。）による検査</p> <p>牛についての検査の場合に実施することができる。ただし、検査の反応が陽性である場合には、</p> <p>2、</p> <p>3、4</p> <p>又は5の検査を行うものとする。</p> <p>2 エライザ法による検査</p> <p>牛についての検査の場合に実施する。ただし、必要と認める場合には、ヨーニン検査を行うことができる。</p> <p>3</p>	<p>1 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・フレイ菌抽出抗原で血清処理するもの）による検査の場合</p> <p>一 ヨーネ菌粗抽出抗原を固相化したプレート（以下「スクリーニングプレート」という。）に、試料希釈吸収液で所定の倍数に希釈し、十五分間十六度から二十六度までの温度で感作した指示血清及び被検牛血清を分注した後、密封し、四十五分間十六度から二十六度までの温度で感作すること。</p> <p>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。</p> <p>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、</p>	<p>1 次のいずれかに該当するものは、ヨーネ病の患畜とする。</p> <p>一 慢性で頑固な水様性下痢、栄養不良、泌乳量の低下等の臨床症状を示し、細菌検査（直接鏡検）で塊状の抗酸菌が証明されたもの</p> <p>二 細菌検査（分離培養）において菌分離陽性となったもの</p> <p>三 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（しゅ）脹の差が二ミリメートル以上であるもの</p> <p>四 ヨーニンの反応で腫（しゅ）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</p> <p>五 ヨーネ病の疑似患畜についてのエライザ法による再検査においてエライザ法による反応が陽性となったもの</p> <p>六 ヨーネ病の疑似患畜についての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の四、五若しくは六になつたもの</p> <p>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</p>
--	---	--	--	--	--

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、 $0.1\text{cc}$ とする。  
二 注射部位は、尾根部の皺（すう）壁（へき）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 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っているおそれがあるため、めん羊又は山羊

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。◆追加◆  
2 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

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。  
一 実施した検査がエライザ法によるものだけである場合に、エライザ法による反応が陽性であるもの  
二 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（しゆ）脹の差が二ミリメートル以上であるもの  
三 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（しゆ）脹の差が二ミリメートル未満であるもの  
四 ヨーニンの反応で腫（しゆ）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  
五 ヨーニンの反応で腫（しゆ）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であるもの  
六 ヨーニンの反応で腫（しゆ）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。

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、 $0.1\text{cc}$ とする。  
二 注射部位は、尾根部の皺（すう）壁（へき）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 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っているおそれがあるため、めん羊又は山羊

これに基質溶液を分注した後、十分間十六度から二十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・フレイ菌可溶性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

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。  
一 実施した検査がエライザ法によるものだけである場合に、エライザ法による反応が陽性であるもの  
二 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（しゆ）脹の差が二ミリメートル以上であるもの  
三 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（しゆ）脹の差が二ミリメートル未満であるもの  
四 ヨーニンの反応で腫（しゆ）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  
五 ヨーニンの反応で腫（しゆ）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であるもの  
六 ヨーニンの反応で腫（しゆ）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。

についての検査の場合  
二 患者又は疑似患者と同居しためん羊又は山羊についての検査の場合  
三 その他必要と認められる場合  
5 エライザ法による検査、ヨーニン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

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判定すること。  
四 吸光度値が $0.35$ 以上であるものを陽性とし、 $0.35$ 未満であるものを陰性とする。  
3 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（しゆ）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。  
4 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

についての検査の場合  
二 患者又は疑似患者と同居しためん羊又は山羊についての検査の場合  
三 その他必要と認められる場合  
5 エライザ法による検査、ヨーニン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

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 $0.3$ 以上であるものを陽性とし、 $0.3$ 未満であるものを陰性とする。  
3 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

	<p>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%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%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。</p> <p>5 ヨーネ病の疑似患畜については、細菌検査（分離培養）又は牛にあつては初回検査の三十日後（ヨーニン検査を実施していない場合は十四日後）にエライザ法による検査、めん羊若しくは山羊にあつては初回検査の九十日後にヨーニン検査及び補体結合反応検査を実施すること。</p>	<p>5 ヨーネ病の疑似患畜については、細菌検査（分離培養）又は牛にあつては初回検査の三十日後（ヨーニン検査を実施していない場合は十四日後）にエライザ法による検査、めん羊若しくは山羊にあつては初回検査の九十日後にヨーニン検査及び補体結合反応検査を実施すること。</p>	<p>1 次のいずれかに該当するものは、伝達性海綿状脳症の患畜とする。 一 牛について</p>		<p>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。</p> <p>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。</p> <p>三 二により感作した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判定すること。</p> <p>四 吸光度値が〇・三五以上であるものを陽性とし、〇・三五未満であるものを陰性とする。</p> <p>4 ヨーニン検査の場合 一 ヨーニンの</p>	
伝達性海綿状脳症	<p>1 エライザ法による検査</p> <p>2 ウエスタ</p>	<p>1 エライザ法（サンドイッチ酵素抗体法（牛海綿状脳症診断用酵素抗体反応キッ</p>	<p>1 次のいずれかに該当するものは、伝達性海綿状脳症の患畜とする。 一 牛について</p>		<p>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。</p> <p>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。</p> <p>三 二により感作した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判定すること。</p> <p>四 吸光度値が〇・三五以上であるものを陽性とし、〇・三五未満であるものを陰性とする。</p> <p>4 ヨーニン検査の場合 一 ヨーニンの</p>	

ンブ  
ロット  
法による  
検査  
及び免疫  
組織  
化学的  
検査  
エライザ  
法による  
検査の反  
応が陰  
性でない  
場合に  
実施  
する。  
3 エ  
ライザ  
法による  
検査、ウ  
エスタン  
ブ  
ロット  
法による  
検査  
及び免疫  
組織  
化学的  
検査  
以外の  
検査  
一 疫  
学的  
検査  
二 臨  
床検査

トを使用して  
行うものに限  
る。)による  
方法)による  
検査の場合  
一 緩衝液で所  
定の倍数に希  
釈した延髄の  
門(かんぬ  
き)部を含む  
脳乳剤とプロ  
テインゼK  
を混合し、十  
分間三十七度  
の温度で保温  
した後、濃縮  
し、五分間百  
度の温度で処  
理すること。  
二 抗プリオン  
蛋白質抗体を  
固相化した検  
査用プレート  
(以下「TSE  
診断プレート  
」とい  
う。)により  
調整した被  
検検体を緩  
衝液で所定の  
倍数に希釈  
し、当該検  
体を分注した  
後、密封し、  
七十五分間三  
十七度の温度  
で感作した  
上、洗浄液で  
洗浄すること。  
三 二により処  
理したTSE  
診断プレート  
に酵素標識抗  
体液(使用する  
直前に調整  
したもの)を  
分注した後、  
密封し、一時  
間四度の温度  
で感作する  
こと。  
四 三により感  
作したTSE  
診断プレート  
を洗浄液で洗  
浄し、これに

は、エライザ法  
(サンドイッチ酵  
素抗体法(牛海綿  
状脳症診断用酵素  
抗体反応キットを  
使用して行うもの  
に限る。))による  
方法)、エライザ  
法(サンドイッチ  
酵素抗体法(アビ  
ジン-ビオチン  
カップリング法)  
による方法)、エ  
ライザ法(サンド  
イッチ酵素抗体法  
(ワンステップ測  
定法)による方  
法)又はエライザ  
法(サンドイッチ  
酵素抗体法(ワン  
ポット前処理法)  
による方法)によ  
る検査の反応が陽  
性であり、かつ、  
ウエスタンブロッ  
ト法による検査又  
は免疫組織化学的  
検査により、異常  
プリオン蛋白質の  
存在が認められる  
もの。  
二 めん羊又は山  
羊については、ウ  
エスタンブロッ  
ト法による検査又は  
免疫組織化学的検  
査により、異常プ  
リオン蛋白質の存  
在が認められるも  
の。  
2 1に該当しな  
いものは伝達性海  
綿状脳症の患畜で  
ないものとする。

注射後四十八  
時間から七十  
二時間までの  
間における腫  
(しゅ)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%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%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

基質溶液（使用する直前に調整したもの）を分注した後、遮光して三十分間室温で感作し、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判定すること。

五 吸光度値が陰性対照の平均吸光度値に所定の値を加えた値（以下この項、第三項及び第四項において「カットオフ値」という。）の九十パーセント以上であるものを再検査することとし、カットオフ値の九十パーセント未満であるものを陰性とする。

六 五により再検査することとなった検体のサンプルについてTSE診断プレートの二穴を利用して再検査を実施し、二穴のうちいずれかの吸光度値がカットオフ値の九十パーセント以上であるものを陽性とし、二穴ともカットオフ値の九十パーセント未満であるものを陰性とする。

2 エライザ法（サンドイッチ

いては、細菌検査（分離培養）又は牛にあつては初回検査の三十日後（ヨーニン検査を実施していない場合は十四日後）にエライザ法による検査、めん羊若しくは山羊にあつては初回検査の九十日後にヨーニン検査及び補体結合反応検査を実施すること。

伝達性海綿状脳症	<p>1 エライザ法による検査</p> <p>2 ウェスタンブロット法による検査及び免疫組織化学的検査 エライザ法による検査の反応が陰性でない場合に実施する。</p> <p>3 エライザ法による検査、ウェスタンブロット法による検査及び免疫組織化学的</p>	<p>1 エライザ法（サンドイッチ酵素抗体法（牛海綿状脳症診断用酵素抗体反応キットを使用する。）による方法）による検査の場合 一 緩衝液で所定の倍数に希釈した延髄の門（かんぬき）部を含む脳乳剤とプロテイナーゼKを混合し、十分間三十七度の温度で保温した後、濃縮し、五分間百度の温度で処理すること。 二 抗プリオン蛋白質抗体を固相化した検査用プレート（以下「TSE診断プレート」という。）により調整した被検検体を緩衝液で所定の倍数に希釈</p>	<p>1 次のいずれかに該当するものは、伝達性海綿状脳症の患畜とする。 一 牛については、エライザ法（サンドイッチ酵素抗体法（牛海綿状脳症診断用酵素抗体反応キットを使用する。）による方法）、エライザ法（サンドイッチ酵素抗体法（アビジン-ビオチンカップリング法）による方法）、エライザ法（サンドイッチ酵素抗体法（ワンステップ測定法）による方法）又はエライザ法（サンドイッチ酵素抗体法（ワンポット前処理法）による方法）による検査の反応が陽性であり、かつ、ウェスタンブロット法による検査又は免疫組織化学的検査により、異常プリオン蛋白質の存在が認められるもの。</p>
----------	--	--	--

チ酵素抗体法  
(アビジン-  
ビオチンカッ  
プリング法)  
による検査の  
場合  
一 プレートに  
プロテイナー  
ゼKが分注さ  
れた緩衝液で  
所定の倍数に  
希釈した延髄  
の門(かんぬ  
き)部を含む  
脳乳剤を分注  
した後、密封  
し、十二分間  
から十六分間  
までの間十七  
度から二十七  
度までの温度  
で振とうした  
後、二十八分  
間から三十二  
分間までの間  
四十度から四  
十四度までの  
温度で振とう  
し、当該プ  
レートに消化  
停止薬を分注  
すること。  
二 一により調  
整した被検検  
体を密封し、  
二十八分間か  
ら三十二分間  
までの間十七  
度から二十七  
度までの温度  
で振とうした  
後、ストレプ  
トアビジンを  
固相化した検  
査用プレート  
(以下「スト  
レプトアビジ  
ン固相プレー  
ト」とい  
う。)に当該  
検体を分注す  
ること。  
三 二により処  
理したストレ  
プトアビジン  
固相プレート

検査以  
外の検  
査  
一 疫  
学的検  
査  
二 臨  
床検査

し、当該検体  
を分注した  
後、密封し、  
七十五分間三  
十七度の温度  
で感作した  
上、洗浄液で  
洗浄すること。  
三 二により処  
理したTSE  
診断プレート  
に酵素標識抗  
体液(使用する  
直前に調整  
したもの)を  
分注した後、  
密封し、一時  
間四度の温度  
で感作するこ  
と。  
四 三により感  
作したTSE  
診断プレートを  
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、遮光し  
て三十分間室  
温で感作し、  
反応停止液を  
分注し、所定  
の波長で測定  
した吸光度値  
により判定す  
ること。  
五 吸光度値が  
陰性対照の平  
均吸光度値に  
所定の値を加  
えた値(以下  
この項、第三  
項及び第四項  
において  
「カットオフ  
値」とい  
う。)の九十  
パーセント以  
上であるもの  
を再検査する  
こととし、  
カットオフ値  
の九十パーセ  
ント未満であ

二 めん羊又は山  
羊については、ウ  
エスタンプロット  
法による検査又は  
免疫組織化学的検  
査により、異常プ  
リオン蛋白質の存  
在が認められるも  
の。  
2 1に該当しな  
いものは伝達性海  
綿状脳症の患畜で  
ないものとする。

に検出用溶液を分注した後、密封し、五十五分間から六十五分間までの間十七度から二十七度までの温度で振とうすること。

四 三により処理したストレプトアビジン固相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、密封し、八分間から十二分間までの間十七度から二十七度までの温度で振とうし、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判定すること。

五 吸光度値が、陰性対照の中央値に所定の値を乗じて得た値に所定の値を加えた値（以下この項において「カットオフ値」という。）以上であるものを再検査することとし、カットオフ値未満であるものを陰性とするこ

と。  
六 五により再検査することとなった検体のサンプルについてストレプトアビジン固相プレートの二穴を利用して再検査を

るものを陰性とするこ  
と。  
六 五により再検査することとなった検体のサンプルについてTSE診断プレートの二穴を利用して再検査を実施し、二穴のうちいずれかの吸光度値がカットオフ値の九十パーセント以上であるものを陽性とし、二穴ともカットオフ値の九十パーセント未満であるものを陰性とするこ

こと。  
2 エライザ法  
（サンドイッチ酵素抗体法  
（アビジン-  
ビオチンカッ  
プリング法）  
による方法）  
による検査の  
場合

プレートに  
プロテイナー  
ゼKが分注さ  
れた緩衝液で  
所定の倍数に  
希釈した延髄  
の門（かんぬ  
き）部を含む  
脳乳剤を分注  
した後、密封  
し、十二分間  
から十六分間  
までの間十七  
度から二十七  
度までの温度  
で振とうした  
後、二十八分  
間から三十二  
分間までの間  
四十度から四  
十四度までの  
温度で振とう  
し、当該プ  
レートに消化

実施し、二穴のうちいずれかの吸光度値がカットオフ値以上であるものを陽性とし、二穴ともカットオフ値未満であるものを陰性とする。

3 エライザ法  
(サンドイッチ酵素抗体法  
(ワンステップ測定法)による方法)による検査の場合

一 緩衝液で所定の倍数に希釈した延髄の門(かんぬき)部を含む脳乳剤をデオキシリボヌクレアーゼI及びコラゲナーゼで処理し、プロテイナーゼKと混合し、三十分間三十七度の温度で保温した後、濃縮し、五分間百度の温度で処理すること。

二 TSE 診断プレートにより調整した被検検体を緩衝液で所定の倍数に希釈し、当該検体を分注すること。

三 二により処理したTSE診断プレートに酵素標識抗体液を分注した後、密封し、一時間三十七度の温度で感作すること。

停止薬を分注すること。

二 一により調整した被検検体を密封し、二十八分間から三十二分間までの間十七度から二十七度までの温度で振とうした後、ストレプトアビジンを固相化した検査用プレート(以下「ストレプトアビジン固相プレート」という。)に当該検体を分注すること。

三 二により処理したストレプトアビジン固相プレートに検出用溶液を分注した後、密封し、五十五分間から六十五分間までの間十七度から二十七度までの温度で振とうすること。

四 三により処理したストレプトアビジン固相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、密封し、八分間から十二分間までの間十七度から二十七度までの温度で振とうし、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判定すること。

五 吸光度値

四 三により感作したTSE診断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、遮光して三十分間室温で感作し、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判定すること。

五 カットオフ値の九十パーセント以上であるものを再検査することとし、カットオフ値の九十パーセント未満であるものを陰性とする

こと。  
六 五により再検査することとなった検体のサンプルについてTSE診断プレートの二穴を利用して再検査を実施し、二穴のうちいずれかの吸光度値がカットオフ値以上であるものを陽性とし、二穴ともカットオフ値未満であるものを陰性とする

こと。  
4 エライザ法  
(サンドイッチ酵素抗体法  
(ワンポット前処理法)による方法)による検査の場合

一 破碎した延髄の門(かんぬき)部、プロテイナーゼ

が、陰性対照の中央値に所定の値を乗じて得た値に所定の値を加えた値(以下この項において「カットオフ値」という。)以上であるものを再検査することとし、カットオフ値未満であるものを陰性とする

こと。  
六 五により再検査することとなった検体のサンプルについてストレプトアビジン固相プレートの二穴を利用して再検査を実施し、二穴のうちいずれかの吸光度値がカットオフ値以上であるものを陽性とし、二穴ともカットオフ値未満であるものを陰性とする

こと。  
3 エライザ法  
(サンドイッチ酵素抗体法  
(ワンステップ測定法)による方法)による検査の場合

一 緩衝液で所定の倍数に希釈した延髄の門(かんぬき)部を含む脳乳剤をデオキシリボヌクレアーゼI及びコラゲナーゼで処理し、プロテイナーゼKと混合

K及びマイクロバイアルセリンプロテインナーゼを混合し、均一となるように攪拌した後、十分間五十六度の温度で感作し、十分間百度の温度で処理してから三十七度の温度以下に冷却すること。

二 T S E 診断プレートに、一により調整した被検検体を分注した後、密封し、一時間三十七度の温度で感作した上、洗浄液で洗浄すること。

三 二により処理した T S E 診断プレートに標識抗体液を分注した後、密封し、三十分間四度から八度までの温度で感作すること。

四 三により感作した T S E 診断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、遮光して三十分間室温で感作し、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判定すること。

五 カットオフ値の九十パーセント以上であるものを再検査することとし、カット

し、三十分間三十七度の温度で保温した後、濃縮し、五分間百度の温度で処理すること。

二 T S E 診断プレートに一により調整した被検検体を緩衝液で所定の倍数に希釈し、当該検体を分注すること。

三 二により処理した T S E 診断プレートに酵素標識抗体液を分注した後、密封し、一時間三十七度の温度で感作すること。

四 三により感作した T S E 診断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、遮光して三十分間室温で感作し、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判定すること。

五 カットオフ値の九十パーセント以上であるものを再検査することとし、カットオフ値の九十パーセント未満であるものを陰性とすること。

六 五により再検査することとなった検体のサンプルについて T S E

オフ値の九十パーセント未満であるものを陰性とする

こと。  
六五により再検査することとなった検体のサンプルについてTSE診断プレート

の二穴を利用して再検査を実施し、二穴のうちいずれかの吸光度値がカットオフ値以上のものを陽性とし、二穴ともカットオフ値未満のものを陰性

とすること。  
5 ウェスタンブロット法による検査の場合  
一 緩衝液で所定の倍数に希釈した延髄の門（かんぬき）部を含む脳乳剤とプロテイナーゼKを混合し、三十分間三十七度の温度で保温した後、濃縮し、五十分間百度の温度で処理すること。

二 一により調整した被検検体及び指示検体をゲルに注入し、三十分間二百ボルトで電気泳動した後、当該ゲルからブロッティング膜へ蛋白質の転写を行うこと。

三 二により調整したブロッティング膜に

診断プレート

の二穴を利用して再検査を実施し、二穴のうちいずれかの吸光度値がカットオフ値以上であるものを陽性とし、二穴ともカットオフ値未満であるものを陰性

とすること。  
4 エライザ法  
（サンドイッチ酵素抗体法（ワンポット前処理法）による方法）による検査の場合  
一 破碎した延髄の門（かんぬき）部、プロテイナーゼK及びマイクロバイアルセリンプロテイナーゼを混合し、均一となるように攪拌した後、十分間五十六度の温度で感作し、十分間百度の温度で処理してから三十七度の温度以下に冷却すること。

二 TSE診断プレートに、一により調整した被検検体を分注した後、密封し、一時間三十七度の温度で感作した上、洗浄液で洗浄すること。

三 二により処理したTSE診断プレートに標識抗体液を分注した

抗プリオン蛋白質抗体を加え、一時間室温で感作し、洗浄液で洗浄した後、標識抗体を加え、四十五分間室温で感作すること。

四三により調整したブロッキング膜を洗浄液で洗浄し、化学発光試薬と反応させ、異常プリオン蛋白質の存在を確認すること。

#### 6 免疫組織化学的検査の場合

一 門（かんぬき）部を含む延髄を中性緩衝ホルマリンで固定し、三叉神経脊髄路核、孤束核及び迷走神経背側核が含まれる部分を切り出し、ギ酸で不活化処理した後、パラフィン包埋及び薄切を行い標本作製すること。

二 一により作製した標本をギ酸及びオートクレーブにより処理し、抗プリオン蛋白質抗体を加え、六十分間室温で感作すること。

三 二により調整した標本を緩衝液で洗浄した後、標識抗体及び酵素標識試薬を加え、二十分間

後、密封し、三十分間四度から八度までの温度で感作すること。

四 三により感作したTSE診断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、遮光して三十分間室温で感作し、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判定すること。

五 カットオフ値の九十パーセント以上であるものを再検査することとし、カットオフ値の九十パーセント未満であるものを陰性とする

こと。  
六 五により再検査することとなった検体のサンプルについてTSE診断プレートの二穴を利用して再検査を実施し、二穴のうちいずれかの吸光度値がカットオフ値以上のものを陽性とし、二穴ともカットオフ値未満のものを陰性とする

こと。  
5 ウェスタンブロット法による検査の場合

一 緩衝液で所定の倍数に希釈した延髄の門（かんぬ

		室温で感作し、基質を加え、発色させること。 四三により調整した標本を光学顕微鏡で観察し、異常プリオン蛋白質の存在を確認すること。			き) 部を含む脳乳剤とプロテイナーゼKを混合し、三十分間三十七度の温度で保温した後、濃縮し、五分間百度の温度で処理すること。 二一により調整した被検検体及び指示検体をゲルに注入し、三十分間二百ボルトで電気泳動した後、当該ゲルからブロッキング膜へ蛋白質の転写を行うこと。 三二により調整したブロッキング膜に抗プリオン蛋白質抗体を加え、一時間室温で感作し、洗浄液で洗浄した後、標識抗体を加え、四十五分間室温で感作すること。 四三により調整したブロッキング膜を洗浄液で洗浄し、化学発光試薬と反応させ、異常プリオン蛋白質の存在を確認すること。 6 免疫組織化学的検査の場合 一 門(かんぬき)部を含む延髄を中性緩衝ホルマリンで固定し、三叉神経脊髄路核、孤束核及び迷走神経背
馬伝染性貧血	<p>1 エライザ法による検査</p> <p>2 寒天ゲル内沈降反応検査</p> <p>3 エライザ法による検査及び寒天ゲル内沈降反応検査以外の検査</p> <p>一 疫学的検査</p> <p>二 臨床検査(ただし、口については必要と認める場合に行えばよい。)</p> <p>イ 体温検測</p> <p>ロ 赤血球数の計算</p>	<p>1 エライザ法による検査の場合</p> <p>一 馬伝染性貧血診断用抗原を固相化したプレート(以下「伝貧診断プレート」という。)を洗浄液で洗浄後、コーティング剤を分注し、六十分間三十七度の温度で感作すること。</p> <p>二 所定の倍数に希釈した指示血清及び被検血清を洗浄した伝貧診断プレートに分注し、四十分間三十七度の温度で感作すること。</p> <p>三 二により感作した伝貧診断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液を分注した後、二十分間三十七度の温度で感作すること。</p> <p>四 三により感作した伝貧診断プレートを洗浄液で洗浄し、これに基</p>	<p>1 次のいずれかに該当するものは馬伝染性貧血の患畜とする。</p> <p>一 寒天ゲル内沈降反応検査の結果が陽性であるもの</p> <p>二 寒天ゲル内沈降反応検査の結果は疑反応であるが、認めることができない原因がないのに、時々発熱し、血液一立方ミリメートル中の赤血球数が五〇〇万以下のもの</p> <p>三 馬伝染性貧血の疑似患畜についての再検査の結果、いずれか一の希釈倍率において陽性であるもの</p> <p>2 寒天ゲル内沈降反応検査の結果が疑反応であり、馬伝染性貧血の患畜と認められないものは、馬伝染性貧血の疑似患畜とする。</p> <p>3 次のいずれかに該当するものは、馬伝染性貧血の患畜又は疑似患畜でないものとする。</p> <p>一 エライザ法による検査の結果が陰性のもの</p> <p>二 1及び2に該当しないもの</p> <p>三 馬伝染性貧血の疑似患畜についての再検査の結</p>		

質溶液を分注した後、十分間室温で反応させ、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判定すること。

五 被検検体の吸光度値が指示弱陽性血清の平均吸光度値に〇・八を乗じた値未満であるものを陰性とし、それ以外のものについては、寒天ゲル内沈降反応検査を実施すること。

2 寒天ゲル内沈降反応検査の場合

一 精製寒天〇・八g、アジ化ナトリウム〇・一g及び生理食塩液一〇〇ccの比率で混合し、加熱溶解したものを、透明なガラス平板上におおむね厚さ三ミリメートルとなるように注ぎ、凝固させ寒天平板とした後、直径五ミリメートルの穴を一個あけ、その周りに三ミリメートルの等間隔で直径五ミリメートルの穴を六個あけること。

二 寒天平板にあけられた七個の穴のうち中心の穴に馬

果、いずれの希釈倍率においても陽性でないもの

側核が含まれる部分を切り出し、ギ酸で不活化処理した後、パラフィン包埋及び薄切を行い標本作製すること。

二 一により作製した標本をギ酸及びオートクレーブにより処理し、抗プリオン蛋白質抗体を加え、六十分間室温で感作すること。

三 二により調整した標本を緩衝液で洗浄した後、標識抗体及び酵素標識試薬を加え、二十分間室温で感作し、基質を加え、発色させること。

四 三により調整した標本を光学顕微鏡で観察し、異常プリオン蛋白質の存在を確認すること。

馬伝染性貧血

1 エライザ法による検査

2 寒天ゲル内沈降反応検査

3 エライザ法による検査及び寒天ゲル内沈降反応検査以外

1 エライザ法による検査の場合

一 馬伝染性貧血診断用抗原を固相化したプレート（以下「伝貧診断プレート」という。）を洗浄液で洗浄後、コーティング剤を分注し、六十分間三十七度の温度で感作すること。

二 所定の倍数に希釈した指

1 次のいずれかに該当するものは馬伝染性貧血の患畜とする。

一 寒天ゲル内沈降反応検査の結果が陽性であるもの

二 寒天ゲル内沈降反応検査の結果は疑反応であるが、認めることができない原因がないのに、時々発熱し、血液一立方ミリメートル中の赤血球数が五〇〇万以下のもの

三 馬伝染性貧血の疑似患畜について

伝染性貧血診断用寒天ゲル内沈降反応抗原（以下「抗原」という。）、周辺の六個の穴のうち二個の穴（二個の穴の位置は、中心の穴をはさんで対面する位置とする。）に指示血清、他の四個の穴一個につき一頭の被検馬血清（以下「血清」という。）をそれぞれ充満した後、二十四時間から九十六時間の間湿度を保ちながら常温で反応させ、抗原と血清との間に現れる沈降線の有無により判定すること。

三 寒天ゲル内沈降反応検査の判定は次により行うこと。

イ 抗原と血清との間に、抗原と指示血清との間に生じた沈降線（以下「標準沈降線」という。）と融合する沈降線を生ずるものを陽性とする。

ロ 抗原と血清との間に沈降線が見られず、標準沈降線が外反又は直進して当該血清を注入した穴に接近し、又は到達

## の検査

### 一 疫学的検査

### 二 臨床検査

（ただし、口については必要と認められる場合に行えばよい。）

### イ 体温検測

### ロ 赤血球数の計算

示血清及び被検血清を洗浄した伝染性貧血診断プレートに分注し、四十分間三十七度の温度で感作すること。

三 二により感作した伝染性貧血診断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液を分注した後、二十分間三十七度の温度で感作すること。

四 三により感作した伝染性貧血診断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、十分間室温で反応させ、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判定すること。

五 被検検体の吸光度値が指示弱陽性血清の平均吸光度値に〇・八を乗じた値未満であるものを陰性とし、それ以外のものについては、寒天ゲル内沈降反応検査を実施すること。

2 寒天ゲル内沈降反応検査の場合

一 精製寒天 〇・八g、アジ化ナトリウム〇・一g及

ての再検査の結果、いずれか一の希釈倍率において陽性であるもの

2 寒天ゲル内沈降反応検査の結果が疑反応であり、馬伝染性貧血の患者と認められないものは、馬伝染性貧血の疑似患者とする。

3 次のいずれかに該当するものは、馬伝染性貧血の患者又は疑似患者でないものとする。

一 エライザ法による検査の結果が陰性のもの

二 1及び2に該当しないもの

三 馬伝染性貧血の疑似患者についての再検査の結果、いずれの希釈倍率においても陽性でないもの

しているものを陰性とする  
こと。  
ハ 抗原と血清  
の間に、標準  
沈降線と融合  
しない沈降線  
を生じ、標準  
沈降線は外反  
又は直進して  
当該血清を注  
入した穴に接  
近し、又は到  
達しているも  
のを陰性とす  
ること。  
ニ イ、ロ及び  
ハに該当しな  
いものを疑反  
応とすること。  
3 エライザ法  
による検査及  
び寒天ゲル内  
沈降反応検査  
以外の検査の  
場合  
赤血球数の計  
算は、血球計  
算機を用いて  
行うこと。  
4 馬伝染性貧  
血の疑似患畜  
については、  
検査の日から  
十五日から二  
十五日までの  
間に、寒天ゲ  
ル内沈降反応  
検査の再検査  
を行うこと。  
この場合に  
は、当該馬の  
原血清、二倍  
希釈血清、四  
倍希釈血清及  
び八倍希釈血  
清について検  
査を行い、そ  
の判定はそれ  
ぞれの希釈血  
清ごとに行う  
こと。

び生理食塩液  
一〇〇ccの比  
率で混合し、  
加熱溶解した  
ものを、透明  
なガラス平板  
上におおむね  
厚さ三ミリ  
メートルとな  
るように注  
ぎ、凝固させ  
寒天平板とし  
た後、直径五  
ミリメートル  
の穴を一個あ  
け、その周り  
に三ミリメー  
トルの等間隔  
で直径五ミリ  
メートルの穴  
を六個あける  
こと。  
二 寒天平板に  
あけられた七  
個の穴のうち  
中心の穴に馬  
伝染性貧血診  
断用寒天ゲル  
内沈降反応抗  
原（以下「抗  
原」とい  
う。）を、周辺  
の六個の穴の  
うち二個の穴  
（二個の穴の  
位置は、中心  
の穴をはさん  
で対面する位  
置とする。）  
に指示血清、  
他の四個の穴  
一個につき一  
頭の被検馬血  
清（以下「血  
清」とい  
う。）をそれ  
ぞれ充滿した  
後、二十四時  
間から九十六  
時間の間湿度  
を保ちながら  
常温で反応さ  
せ、抗原と血  
清との間に現  
れる沈降線の  
有無により判  
定すること。

三 寒天ゲル内沈降反応検査の判定は次により行うこと。

イ 抗原と血清との間に、抗原と指示血清との間に生じた沈降線（以下「標準沈降線」という。）と融合する沈降線を生ずるものを陽性とする。

ロ 抗原と血清との間に沈降線が見られず、標準沈降線が外反又は直進して当該血清を注入した穴に接近し、又は到達しているものを陰性とする。

ハ 抗原と血清の間に、標準沈降線と融合しない沈降線を生じ、標準沈降線は外反又は直進して当該血清を注入した穴に接近し、又は到達しているものを陰性とする。

ニ イ、ロ及びハに該当しないものを疑反応とする。

三 エライザ法による検査及び寒天ゲル内沈降反応検査以外の検査の場合  
赤血球数の計算は、血球計算機を用いて行うこと。

4 馬伝染性貧血の疑似患畜については、検査の日から十五日から二十五日までの間に、寒天ゲル内沈降反応検査の再検査を行うこと。この場合には、当該馬の原血清、二倍希釈血清、四倍希釈血清及び八倍希釈血清について検査を行い、その判定はそれぞれの希釈血清ごとに行うこと。

- 改正法・附則・題名- ～平成23年 4月22日 農林水産省 令 第27号～

施行日：平成23年 4月22日

◆追加◆

附則（平成二三・四・二二農水令二七）

- 改正法・附則- ～平成23年 4月22日 農林水産省 令 第27号～

施行日：平成23年 4月22日

◆追加◆

この省令は、公布の日から施行する。