

## Protocolo de PCR para la detección del gen *piIV* en aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* productores de KPC

**Comentario:** La amplificación positiva se encuentra asociada con *K. pneumoniae* productora de KPC del ST258.

Nombre primer	Gen	Secuencia 5'--3'
piIVF	piIV	TGATGCTGATGGCAGACTGA
piIVR		TGTAGTCACACCCTGCCCA

Tamaño amplicon	Ciclado
320 pb	Desnaturalización inicial = 94°C por 5min; Ciclado= 30-35 ciclos: 94°C 30seg -- 53° 30seg -- 72°C 60seg; Extension final = 72°C por 10min

Reacción de PCR --> Vol. final = 25ul	
Reactivo	Volumen
ADN	2,5 ul
Buffer 10X	2,5 ul
MgCl <sub>2</sub> (50 mM)	0,75 ul
dNTP's (10 mM)	0,5 ul
Taq pol (5U/ul)	0,15 ul
Primer Forward (10 µM)	0,5 ul
Primer Reverse (10 µM)	0,5 ul
H <sub>2</sub> O	17,6 ul
<b>Vol. Final</b>	<b>25 ul</b>

Referencia
Adler, A. "Development and validation of a multiplex PCR assay for identification of the epidemic ST-258/512 KPC-producing <i>Klebsiella pneumoniae</i> clone". <i>Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases</i> 2014 78, 12-15