

MBL-Multiplex

Protocolo de PCR múltiple para la detección de los genes *blaVIM*, *blaIMP* y *blaNDM* en bacilos gram negativos

| Nombre primer | Gen | Secuencia 5'--3' |
|---------------|-----|------------------------------------|
| VIM-F | VIM | AGT GGT GAG TAT CCG ACA G |
| VIM-R | | ATG AAA GTG CGT GGA GAC |
| IMP-UF1 | IMP | GGY GTT TWT GTT CAT ACW TCK TTY GA |
| IMP-UR1 | | GGY ARC CAA ACC ACT ASG TTA TCT |
| NDM-F | NDM | AGC ACA CTT CCT ATC TCG AC |
| NDM-R | | GGC GTA GTG CTC AGT GTC |

| Tamaño amplicon | Ciclado |
|---|---|
| VIM= 261 pb IMP = 404 pb NDM = 512 pb | Desnaturalización inicial = 94°C por 5min; Ciclado= 30-35 ciclos: 94°C 30seg -- 50° 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 ₂ (50 mM) | 0,75 ul |
| dNTP's (10 mM) | 0,5 ul |
| Taq pol (5U/ul) | 0,2 ul |
| Primers vim-F/R (10 µM) | 0,5 ul (c/u) |
| Primers ndm-F/R (10 µM) | 0,5 ul (c/u) |
| Primers impU-1/2 (10 µM) | 1,2 ul (c/u) |
| H ₂ O | 14,15 ul |
| Vol. Final | 25 ul |

| Referencia |
|---|
| Servicio Antimicrobianos, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán". |