

## CBP-Multiplex

### Protocolo de PCR múltiple para la detección de los genes *blaKPC*, *blaOXA-48-like*, *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
KPC-F	KPC	AAC AAG GAA TAT CGT TGA TG
KPC-R		AGA TGA TTT TCA GAG CCT TA
OXA48-F	OXA-48-like	ATGCGTGTATTAGCCTTATCGG
OXA48-R2		TGAGCACTTCTTTTGTGATG

Tamaño amplicon	Ciclado
VIM= 261 pb IMP = 404 pb NDM = 512 pb KPC = 916 pb OXA-163 = 763 pb (*)	Desnaturalización inicial = 94°C por 5min; Ciclado= 30-35 ciclos: 94°C 30seg -- 54° 30seg -- 72°C 60seg; Extension final = 72°C por 10min

Reacción de PCR --> Vol. final = 50ul	
Reactivo	Volumen
ADN	5 ul
Buffer 10X	5 ul
MgCl <sub>2</sub> (50 mM)	1,5 ul
dNTP's (10 mM)	1 ul
Taq pol (5U/ul)	0,4 ul
Primers vim-F/R (10 µM)	1 ul (c/u)
Primers ndm-F/R (10 µM)	1 ul (c/u)
Primers impU-1/2 (10 µM)	2,4 ul (c/u)
Primers kpc-F/R (10 µM)	2 ul (c/u)
Primers oxa48-F/R2 (10 µM)	1 ul (c/u)
H <sub>2</sub> O	22,3 ul
<b>Vol. Final</b>	<b>50 ul</b>

Referencia
Servicio Antimicrobianos, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán".
(*) El tamaño 763pb corresponde al producto obtenido para el gen <i>blaOXA-163</i> , Este gen tiene una deleción de 12 nucleotidos respecto a <i>blaOXA-48</i> dentro de la región amplificada, Por lo tanto el tamaño del producto de amplificación para el gen <i>blaOXA-48</i> es de 775pb