

CBP-Multiplex *Acinetobacter*

Protocolo de PCR múltiple para la detección de los genes *blaOXA-51*, *blaOXA-23*, *blaOXA-58* y *blaNDM* en *Acinetobacter* spp.

Nombre primer	Gen	Secuencia 5'--3'
O51x-F	OXA-51	GAGGCACAGTTTGCTTACAAGC
O51x-R		GCTGAACAACCCATCCAGTT
O23x-F	OXA-23	ACGCCTATTCAAGAGGTAGAG
O23x-R		GTATAGATGCCGGCATTCTGA
O58x-F	OXA-58	AAGTATTGGGGCTTGTGCTG
O58x-R		TACGACGTGCCAATTCTTGA
NDM-F	NDM	AGC ACA CTT CCT ATC TCG AC
NDM-R		GGC GTA GTG CTC AGT GTC

Tamaño amplicon	Ciclado
OXA-51 = 181 pb OXA-23 = 256 pb OXA-58 = 383 pb NDM = 512 pb	Desnaturalización inicial = 94°C por 5min; Ciclado= 30-35 ciclos: 94°C 30seg -- 52° 30seg -- 72°C 60seg; Extension final = 72°C por 10min

Reacción de PCR --> Vol. final = 25 ul	
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 O51x-F/R (10 µM)	0,5 ul (c/u)
Primers O23x-F/R (10 µM)	0,5 ul (c/u)
Primers O58x-F/R (10 µM)	0,5 ul (c/u)
Primers NDM-F/R (10 µM)	0,5 ul (c/u)
H ₂ O	14,55 ul
Vol. Final	25 ul

Referencia
Servicio Antimicrobianos, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán".
Comentarios
OXA-51 es característica de la especie <i>Acinetobacter baumannii</i> . Los primers de OXA-23 amplifican las variantes de OXA-23, OXA-27, OXA-49, entre otras relacionadas. Los primers de OXA-58 amplifican las variantes de OXA-58, OXA-96, OXA-97.