

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE CEPAS DE *Listeria monocytogenes* AISLADAS DEL HOSPITAL MATERNO INFANTIL SAN BARTOLOMÉ, LIMA-PERÚ

Molecular characterization of *Listeria monocytogenes* strains isolated from Hospital Materno Infantil San Bartolomé, Lima-Perú

Miguel Villegas^{1,2}, Amparo I Zavaleta², Javier Soto¹, Nazario Silva¹

¹Laboratorio de Microbiología del Hospital Materno Infantil San Bartolomé. ²Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

RESUMEN

La listeriosis afecta principalmente a gestantes, neonatos, ancianos y pacientes con baja respuesta inmune, entre otros; es causada por *Listeria monocytogenes*. En este estudio se caracterizaron molecularmente 20 cepas clínicas de *L. monocytogenes* aisladas a partir de 18 casos de listeriosis perinatal procedente del Hospital San Bartolomé de Lima-Perú durante los años 2001 al 2005. Las bacterias fueron caracterizadas inicialmente con pruebas bacteriológicas convencionales, tales como presencia de β -hemólisis incompleta, reacción CAMP positiva con *Staphylococcus aureus* y negativa con *Rhodococcus equi*, así como, la utilización diferencial de carbohidratos D-glucosa y L-ramnosa, pero no de D-xilosa ni D-manitol. Las cepas fueron identificadas mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y tipificadas con la técnica del ADN Polimórfico Amplificado al Azar (RAPD) utilizando los cebadores OMP-01, M13, M132, PJ108 y PJ118. Con OMP-01 y PJ108 se obtuvieron seis RAPD (tipo): ocho cepas con el tipo AI, tres con cada uno de los tipos A-II, A-III y B-II, dos con tipo B-I y una con el tipo A-IV. Se concluye que, de los 18 casos de listeriosis, se aislaron 20 cepas de *L. monocytogenes* con seis genotipos diferentes, siendo el RAPD tipo A-I, el más frecuente con el 40% (8/20) de las cepas estudiadas.

Palabras clave: *Listeria monocytogenes*, listeriosis, RAPD, genotipado.

SUMMARY

Listeriosis primarily affects pregnant women, newborns, elderly people and patients with low immune response, among others, and is caused by *Listeria monocytogenes*. In this study we characterized molecularly 20 strains of *L. monocytogenes* isolated from 18 cases of perinatal listeriosis in Hospital San Bartolomé of Lima-Perú, during 2001 to 2005 years. The bacteria were characterized initially by conventional bacteriological testing, such as β -hemolysis incomplete, CAMP reaction positive with *Staphylococcus aureus* and negative with *Rhodococcus equi* and the differential utilization of carbohydrates as D-glucose and L-rhamnose, but not D-xylose and D-mannitol. Then, strains were identified by polymerase chain reaction (PCR) and typed by the technique of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) primers using OMP-01, M13, M132, PJ108 and PJ118. With primers OMP-01 and PJ108 were obtained six RAPD patterns: eight strains with AI pattern, three with AII, AIII and BII patterns each one, two and one with BI and AIV patterns, respectively. In conclusion, from the 18 cases of listeriosis were isolated 20 strains of *L. monocytogenes* with six different genotypes being the AI RAPD pattern the most common with 40% (8/20) of the strains studied.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, listeriosis, RAPD, genotyping.

INTRODUCCIÓN

Listeria monocytogenes es una bacteria intracelular Gram negativa, que se transmite por alimentos contaminados, capaz de invadir células intestinales y viajar por vía linfática o sanguínea hasta alcanzar el hígado y bazo, donde se multiplica y disemina por el organismo, con especial tropismo hacia el cerebro y el útero grávido^(1,2). *L. monocytogenes* causa listeriosis que afecta principalmente a gestantes, neonatos, ancianos; pacientes con cáncer infectados con VIH, usuarios de corticoides y trasplantados, entre otros^(3,4).

En Perú, la listeriosis no se documenta de manera sistemática, sin embargo en otros países como Estados Unidos se estiman 12 casos de listeriosis por cien mil gestantes y 8,6 casos por 100 mil nacidos vivos, con una reducción progresiva de casos debido a las estrictas políticas de salubridad impuestas en la industria de alimentos y por la sensibilización del tema en la población⁽⁵⁾. En Chile, se reportó el aumento de casos hasta 4,2 por mil gestantes en un nosocomio capitalino durante el 2008⁽⁶⁾.

La identificación y caracterización de microorganismos patógenos emergentes, como *L.*

monocytogenes, permite un mejor control de las cepas circulantes en casos de brotes. Por ello, en el presente estudio se identifican y caracterizan molecularmente cepas de *L. monocytogenes* aisladas a partir de casos de listeriosis atendidos en el Hospital San Bartolomé de Lima-Perú, un establecimiento de salud materno infantil de referencia nacional.

MATERIAL Y MÉTODOS

Casos y cepas clínicas

En los registros médicos del Hospital San Bartolomé se han reportado 52 casos de listeriosis perinatal entre los años 2001 y 2005. Fueron excluidos 34 casos (22 por cultivos negativos, 10 por cultivos ser diferentes a *Listeria* y dos por falta de datos), de los 18 restantes, se aislaron 20 cepas de *Listeria* sp. debido a que en dos de estos casos se aislaron 2 cepas. Se revisaron los historiales clínicos correspondientes (de la madre y del recién nacido) y se registraron los datos clínicos y epidemiológicos pertinentes.

Caracterización bacteriológica

Se realizaron cultivos sobre agar sangre de carnero al 5% y agar tripticasa de soya, incubándose a 37 °C durante 48 h en condiciones de aerobiosis. Con las colonias obtenidas se identificó el género y especie bacteriana: el género *Listeria* se determinó mediante técnicas convencionales como tinción Gram, pruebas de catalasa, motilidad diferencial, rojo de metilo y Voges-Proskauer, tolerancia al NaCl 6,5% y crecimiento en agar bilis esculina; la especie *L. monocytogenes* se determinó con la presencia de β -hemólisis, prueba de CAMP (con *S. aureus* ATCC 25923 y *R. equi* ATCC 6939) y fermentación de carbohidratos: D-glucosa, L-ramnosa, D-xilosa y D-manitol.

Caracterización molecular

Extracción y purificación del ADN genómico. Se obtuvieron cultivos líquidos de *L. monocytogenes* en caldo tripticasa de soya con extracto de levadura al 0,6% incubados a 37 °C por 18 h, luego se centrifugaron a 5000 rpm por 5 min y lavaron de dos a tres veces con buffer salino fosfato. Cada precipitado celular se resuspendió en buffer Tris-NaCl-EDTA y lisozima, e incubó a 37 °C por 2 h. Después, se agregó SDS al 1% y proteinasa K (100 μ g/mL) e incubó a 50 °C durante 12 h. El ADN se extrajo con igual volumen de fenol-cloroformo (1:1), se precipitó con acetato de sodio 3M e isopropanol y centrifugó a 1200 rpm por 5 min. Finalmente, el precipitado se lavó con etanol al 70%, se disolvió en 50 μ L de buffer Tris

EDTA y se guardó a 4 °C. El ADN purificado se separó por electroforesis en gel de agarosa al 1% en buffer Tris-Acetato-EDTA 1X a 80 V por 1 h. La concentración del ADN extraído se determinó por comparación con cantidades conocidas del marcador de peso molecular fago Lambda / Hind III.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Se utilizaron cebadores diseñados a partir del gen *iap* específicos para *L. monocytogenes*: Mono A (5'-CAAACCTGCTAACACAGCTACT-3') y *LisiB*: (5'-TTATACGCGACCGAAGCCAAC-3'), según Bubert y col ⁽⁷⁾. El volumen final de la reacción fue de 50 μ L, conteniendo buffer 1X, MgCl₂ 1,5 mM, desoxirribonucleótidos trifosfato (dNTP) 200 μ M de cada uno, enzima *Taq* ADN polimerasa 1U, cebadores 20 μ M de cada uno, y ADN genómico 100 ng. La amplificación se realizó en el termociclador Perkin Elmer 2400. Las condiciones de reacción fueron las siguientes: a) desnaturalización inicial a 95 °C por 3 min; b) 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 45 s, hibridación a 55 °C por 1 min y extensión a 72 °C por 45 s, c) un ciclo final de extensión de 72 °C por 7 min. Se utilizaron controles de ADN positivo (*L. monocytogenes* ATCC 19118) y negativo (*E. coli* ATCC 43887). Los productos de PCR se separaron por electroforesis en gel de agarosa al 1% utilizando buffer Tris-Borato-EDTA 1X a 80 V durante 1 h. Se utilizó el marcador de peso molecular ladder 1 kb.

ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD).

Se utilizaron 5 cebadores de secuencia arbitraria y tamaño variable de 10 a 20 bases descritos por otros investigadores ⁽⁸⁻¹⁴⁾. Estos son: OMP-01 (CTTGGTGGCT), M₁₃₂ (GAGGGTGGCGGTTCT), P₁₁₈ (TGTCGTGCTGTTTCTG), P₁₁₀₈ (GCTTATTCTTGACATCCA) y M₁₃ (GTTGTAAAACGACGGCCAGT). El volumen final de la reacción de PCR fue de 50 μ L conteniendo buffer 1X, MgCl₂ 2,5 mM, dNTP 200 μ M de cada uno, *Taq* DNA polimerasa 1U, cebador 20 μ M y ADN genómico 50 ng. Las condiciones de amplificación fueron semejantes a las descritas antes para la PCR, excepto la temperatura de hibridación que fue de 36 °C para el cebador OMP-01 y 50 °C para el resto de cebadores. Los productos del RAPD fueron separados por electroforesis en gel de agarosa al 1%, utilizando buffer TBE 1X. Se utilizaron los marcadores de peso molecular ladder 100 pb y 1 kb. Los perfiles de ADN se registraron con una cámara fotográfica polaroid y fueron analizados visualmente. Los fragmentos de ADN obtenidos en el RAPD se calificaron como idénticos o diferentes en base al número y tamaño de los fragmentos de ADN obtenidos para cada cebador.

Asimismo, según los perfiles de ADN observados, las cepas en estudio se agruparon por genotipos.

RESULTADOS

Se identificaron 20 cepas de *L. monocytogenes* aisladas a partir de 18 casos de listeriosis perinatal atendidos en el Hospital San Bartolomé de Lima (tablas 1 y 2). En el caso 4, se aisló una cepa del líquido amniótico de la madre y otra de la sangre de su recién nacido (cepas 4 y 4') y en el caso 12, se aislaron dos cepas de un mismo neonato, de secreción conjuntival y sangre (cepas 12 y 12', respectivamente). Las gestantes fueron mujeres jóvenes con edad promedio de 25 años y rango de edades entre 16 a 35 años, el 61% (11/18) proceden de los distritos del cono norte y 39% (7/18) del cercado de Lima, incluyendo La Victoria. El 83% (15/18) de las madres tuvieron recién nacidos vivos, no obstante, se registraron tres casos fatales.

De las cepas en estudio, el 25% (5/20) se aisló de gestantes y el 75% (15/20) de recién nacidos; 65% (13/20) a partir de muestras de sangre, 15% (3/20) de líquido amniótico, 15% (3/20) líquido cefalorraquídeo y 5% (1/20) secreción conjuntival. F Todas las cepas estudiadas mostraron las mismas características fenotípicas de *L. monocytogenes*; fueron positivas a la prueba de catalasa, motilidad y rojo de metilo/Voges Proskauer, toleraron bilis y sal, presentaron β -hemólisis incompleta y tuvieron reacción de CAMP positiva con *S. aureus* y negativa con *R. equi*. Asimismo, tuvieron fermentación de carbohidratos diferenciada con utilización de D-glucosa y L-ramnosa, pero no de D-manitol ni D-xilosa.

La identificación molecular de las cepas se determinó mediante la visualización de los productos amplificados del gen *iap* de *L. monocytogenes* obtenidos por PCR, siendo el tamaño de los productos amplificados de aproximadamente 660 pb. El RAPD, con los cebadores M132, PJ118 y M13, mostró perfiles de ADN idénticos para todas las cepas. Sin embargo, con los cebadores OMP-01 y PJ108, se obtuvieron fragmentos de ADN entre 0,2 y 3,0 kb. En base al número y tamaño de fragmentos observados, se determinó arbitrariamente los RAPD tipo del presente estudio. Con OMP-01 se obtuvieron dos perfiles de ADN diferentes denominados A y B (figura 1); mientras que con PJ108 se visualizaron cuatro perfiles de ADN asignados como I, II, III y IV (figura 2).

De las cepas clínicas en estudio, 15 (75%) se catalogaron dentro del tipo A y 5 (25%) del tipo B; del mismo modo, 10 fueron consideradas del tipo I, 6 del tipo II, 3 del tipo III y una del tipo IV (5%). El cebador PJ108 permitió discriminar en 4 subgrupos las cepas

Tabla 1. Casos de listeriosis perinatal identificados en el Hospital San Bartolomé de Lima.

Caso Nº	Gestante		Producto de la gestación	Fecha de presentación
	Procedencia (Distrito)	Edad (años)		
1	Comas	19	RN vivo	Feb 2001
2	La Victoria	21	RN vivo	Jul 2001
3	Cercado	20	RN vivo	Ago 2001
4	Cercado	22	RN vivo	Oct 2001
5	Cercado	23	RN vivo	Oct 2002
6	Puente Piedra	26	Óbito Fetal	Ene 2003
7	Cercado	27	Natimuerto	Ene 2003
8	SJL	26	RN vivo	Feb 2003
9	Comas	35	RN vivo	Oct 2003
10	Los Olivos	26	RN vivo	Ene 2004
11	La Victoria	29	Aborto	Abr 2004
12	Comas	29	RN vivo	Jul 2004
13	Comas	22	RN vivo	Nov 2004
14	Comas	24	RN vivo	Nov 2004
15	Cercado	20	RN vivo	Nov 2004
16	Independencia	21	RN vivo	Mar 2005
17	Los Olivos	35	RN vivo	May 2005
18	Comas	16	RN vivo	Jun 2005

RN, recién nacido o neonato; SJL, San Juan de Lurigancho.

Tabla 2. Cepas de *L. monocytogenes* aisladas en el Hospital San Bartolomé de Lima.

Código CEFA	Muestra biológica	Grupo Poblacional	RAPD tipo	
			OMP-01	PJ108
1	Sangre	Neonato	A	II
2	Sangre	Neonato	A	III
3	Sangre	Neonato	A	I
4	Líquido Amniótico	Gestante	A	II
4'	Sangre	Neonato	A	II
5	LCR	Neonato	B	I
6	Líquido Amniótico	Gestante	A	I
7	Sangre	Neonato	A	I
8	Sangre	Neonato	B	I
9	Sangre	Neonato	A	I
10	Sangre	Neonato	A	IV
11	Sangre	Gestante	A	I
12	Secreción Conjuntival	Neonato	A	III
12'	Sangre	Neonato	A	III
13	Sangre	Neonato	B	II
14	LCR	Neonato	B	II
15	LCR	Neonato	B	II
16	Sangre	Gestante	A	I
17	Líquido Amniótico	Gestante	A	I
18	Sangre	Neonato	A	I

LCR, líquido cefalorraquídeo.

de perfil tipo A y en dos grupos las cepas tipo B; así se obtuvieron seis RAPD tipo denominados: A-I, A-II, A-III, A-IV, B-I y B-II. El genotipo más frecuente fue el RAPD tipo A-I con el 40% de las cepas en estudio (8/20). Las cepas se distribuyeron así: ocho en el tipo A-I, tres en cada uno de los tipos A-II, A-III y B-II, dos en el tipo B-I y una en el tipo A-IV (Tabla 2). No se encontró relación entre genotipo y edad, procedencia de la madre, tipo de muestra biológica, ni grupo poblacional de aislamiento.

Se observó concordancia de genotipos en las cepas pareadas: tipo A-II para las cepas 4 y 4' de la

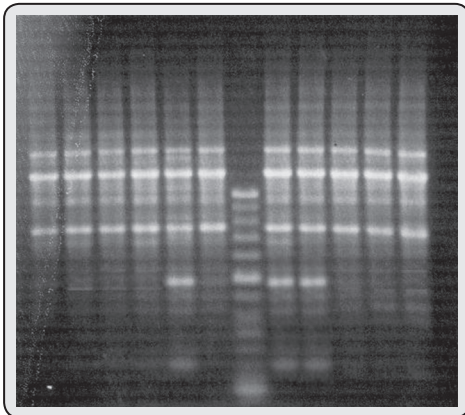


Figura 1. RAPD de las cepas de *L. monocytogenes* obtenidos con cebador OMP-01 en gel de agarosa al 1%. El números de las líneas indican el código de cepa y las letras señalan el tipo de perfil de ADN obtenido con el cebador OMP-01; Lm, *L. monocytogenes* ATCC 19118; MP, marcador de peso molecular (ADN del fago Lambda/ Hind III).

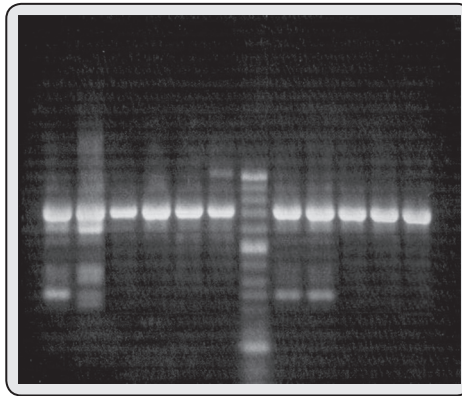


Figura 2. RAPD de las cepas de *L. monocytogenes* obtenidos con cebador PJ108 en gel de agarosa al 1%. Los números arábigos indican el código de cepa y los números romanos señalan el tipo de perfil de ADN obtenido con el cebador PJ108; Lm, *L. monocytogenes* ATCC 19118; MP, marcador de peso molecular (ADN del fago Lambda/ Hind III).

madre y su neonato correspondiente, y tipo A-III para las cepas 12 y 12' de sangre y secreción conjuntival de un mismo neonato.

DISCUSIÓN

La susceptibilidad de la listeriosis en la gestación está documentada en más de 40 especies animales, incluida el hombre, siendo los factores de riesgo para desarrollar infección: la disminución de la inmunidad y la permeabilidad de la barrera placentaria ^(3, 15). La transmisión perinatal puede ocurrir por vía transplacentaria en cualquier momento del embarazo, durante el parto (por aspiración o deglución de secreciones contaminadas) o después del parto por transmisión cruzada o ingesta de leche contaminada ⁽¹⁶⁾. Se considera que, si la gestante está infectada, entonces el feto será afectado en más del 90% de los casos, conllevando al aborto, óbito fetal o parto prematuro con sepsis neonatal ⁽¹⁷⁾. La enfermedad materna es benigna pero la afectación del producto es grave y letal en el 20 a 30% de los casos ⁽¹⁸⁾, en este estudio se encontró pérdida del producto en el 17% de casos.

El aislamiento bacteriano de muestras no estériles como heces, meconio y secreción cervicovaginal, no tienen mayor significado sin un contexto clínico compatible; así, por ejemplo, se aísla *L. monocytogenes* en las heces del 1 al 10% de personas sanas ⁽¹⁹⁾. En este trabajo, las muestras clínicas procedieron de lugares estériles, principalmente de sangre (65%). Durante la gestación, el estado de portador asintomático en secreción cervicovaginal representa un factor de riesgo para la transmisión al producto, vía canal

del parto, pero no para el desarrollo de enfermedad en la madre ⁽²⁰⁾.

La particularidad de *L. monocytogenes* en mantener constantes sus características fenotípicas en las pruebas microbiológicas convencionales, hace necesaria la utilización de técnicas moleculares para su tipificación, así como para determinar asociación entre cepas aisladas e infección ⁽²¹⁾. Las pruebas serológicas no ayudan en el ámbito clínico porque

unos pocos serotipos (4b, 1/2a y 1/2b) se asocian al 95% de todas las infecciones ⁽²²⁾. El RAPD es una técnica molecular sencilla, rápida y de bajo costo, que permite discriminar eficazmente entre cepas no relacionadas, aunque se requiere estandarizar previamente las condiciones de la PCR para garantizar su reproducibilidad ⁽²³⁾.

Lawrence y col. ⁽⁹⁾, utilizando el cebador OMP-01 identificaron 33 RAPD tipo de 91 cepas no relacionadas de *L. monocytogenes* de origen ambiental, alimentario y clínico. En otro estudio, Gravesen y col. ⁽¹⁰⁾, compararon diferentes técnicas de genotipificación, observando 10 RAPD tipo en 48 cepas de *L. monocytogenes* de origen animal y ambiental, con capacidad discriminatoria moderada de la técnica. No obstante, los investigadores precisan que no existe correlación entre los tipos obtenidos por las diferentes técnicas. Wagner y col. ⁽¹¹⁾, empleando la técnica RAPD con 20 cebadores, identificaron 10 RAPD tipo en 52 cepas de *L. monocytogenes* procedentes de una fábrica de alimentos, sin embargo, cuando utilizaron el cebador OMP-01 identificaron solo 6 RAPD tipo.

Lado y Yousef ⁽¹³⁾, compararon la tipificación molecular de 9 cepas de *L. monocytogenes* mediante las técnicas RAPD y PFGE. Con la técnica RAPD, utilizaron los cebadores PJ108 y PJ118, identificando 3 RAPD tipo; mientras que con PFGE observaron 9 tipos. No obstante, Louie y col ⁽¹⁴⁾ estudiaron 51 cepas de *L. monocytogenes* mediante las técnicas RAPD, ribotipificación y PFGE; observaron 21 patrones de banda con la técnica RAPD, siendo la más rápida, sencilla, barata y de alto poder discriminatorio. En esta investigación, se encontró mejor capacidad discriminatoria con el cebador PJ108

que con el empleo de OMP-01, semejante a lo señalado por otros autores^(13,14).

En conclusión, se aislaron 20 cepas clínicas de *L. monocytogenes* a partir de 18 casos de listeriosis perinatal atendidos en el Hospital San Bartolomé de Lima, todas las cepas se identificaron mediante las características fenotípicas convencionales y se confirmaron por PCR. Las cepas en estudio, se tipificaron mediante la técnica RAPD con los cebadores OMP-01 y P108, observando 6 perfiles RAPD tipo: 8 cepas del tipo A-I, 3 en cada uno de los tipos A-II, A-III y B-II, 2 del tipo B-I y una del tipo IV.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Benadof D. *Listeria monocytogenes*. Rev Chilena Infectol 2008; 25(5): 350.
2. Miranda G, Orellana P, Dellien H, Switt M. Romboencefalitis por *Listeria monocytogenes*. Patología emergente en relación al brote epidémico. Presentación de tres casos clínicos. Rev Med Chile 2009; 137(12): 1602-6.
3. Ramaswamy V, Cresence V, Rejitha J, Lekshmi M, Dharsana K, Prasad S, et al. *Listeria*-review of epidemiology and pathogenesis. J Microbiol Immunol Infect 2007; 40(1): 4-13.
4. Freitag N, Port G, Miner M. *Listeria monocytogenes*-from saprophyte to intracellular pathogen. Nat Rev Microbiol 2009; 7(9): 623-8.
5. Janakiraman V. Listeriosis in pregnancy: diagnostic, treatment, and prevention. Rev Obstet Gynecol 2008; 1(4): 179-85.
6. Noriega M, Ibáñez S, González P, Yamamoto M, Astudillo J, González M, et al. *Listeria monocytogenes*: Informe de un aumento de casos en mujeres embarazadas y revisión de la literatura. Rev Chilena Infectol 2008; 25(5): 342-9.
7. Bubert A, Hein I, Rauch M, Lehner A, Yoon B, Goebel W, Wagner M. Detection and differentiation of *Listeria* spp. by single reaction based on multiplex PCR. Appl Environ Microbiol 1999; 65(10): 4688-92.
8. Estrada O, Zavaleta A. Genotipificación de cepas *Listeria monocytogenes* aisladas de leche cruda de diferentes ganaderías de Lima mediante el ADN polimórfico amplificado al azar. Ciencia e Investigación 2004; 7(1): 9-15.
9. Lawrence L, Harvey J, Gilmour A. Development of random amplification of Polymorphic DNA typing method for *Listeria monocytogenes*. Appl Environ Microbiol 1993; 59(9): 3117-9.
10. Gravesen A, Jacobsen T, Moller P, Hansen F, Larsen A, Kochel S. Genotyping of *Listeria monocytogenes*: comparison of RAPD, ITS and PFGE. Int J Food Microbiol 2000; 57(1-2): 43-51.
11. Wagner M, Maderner A, Brandl E. Random amplification of polymorphic DNA for tracing and molecular epidemiology of *Listeria* contamination in cheese plant. J Food Protection 1996; 59(6): 384-9.
12. Wulf G, Gram L, Ahrens P, Vogel BF. One group of genetically similar *Listeria monocytogenes* strains frequently dominates and persists in several fish slaughter and smokehouses. App Environ Microbiol 2006; 72(6): 4313-22.
13. Lado B, Yousef A. Selection and identification of a *Listeria monocytogenes* target strain for pulsed electric field process optimization. App Environ Microbiol 2003; 69(4): 2223-9.
14. Louie M, Jayaratne P, Luchsinger I, Devenish J, Yao J, Schlech W, et al. Comparison of ribotyping, arbitrarily primed PCR and pulsed-field gel electrophoresis for molecular typing of *Listeria monocytogenes*. J Clin Microbiol 1996; 34(1): 15-9.
15. Larraín D, Abarzúa F, De Jourdan F, Merino P, Belmar C, García P. Infecciones por *Listeria monocytogenes* en mujeres embarazadas: experiencia del Hospital Clínico de la Pontificia Universidad Católica de Chile. Rev Chilena Infectol 2008; 25(5): 336-41.
16. Robbins J, Skrzypczynska K, Zeldovich V, Kapidzid M, Bakardjiev A. Placental syncytiotrophoblast constitutes a major barrier to vertical transmission of *Listeria monocytogenes*. PLoS Pathog 2010; 6(1): e1000732.
17. Costa M, Toyos P, Coto G, Fernández B, López J. Listeriosis perinatal: ¿una infección emergente? An Pediatr (Barc) 2009; 70: 301-2.
18. Cheung V, Sirkin W. Listeriosis complicating pregnancy. CMAJ 2009; 181(11): 821-2.
19. Sánchez L, Capdevila E, Porta R, Molina V, Viñes L, Serra B. Listeriosis perinatal: también aumenta la incidencia en otras regiones. An Pediatr (Barc) 2010; 72: 149-50.
20. Tam C, Erebara A, Einarson A. Food-borne illnesses during pregnancy: prevention and treatment. Can Fam Physician 2010; 56 (4): 341-3.
21. Conly J, Johnston B. Listeria: A persistent food-borne pathogen. Can J Infect Dis Med Microbiol 2008; 19(5): 327-8.
22. Ireton K. Entry of the bacterial pathogen *Listeria monocytogenes* in to mammalian cells. Cell Microbiol 2007; 9(6): 1365-75.
23. Chen S, Lu F, Lee P, Lu C, Chen C, Chou H, et al. Neonatal listeriosis. J Formos Med Assoc 2007; 106(2): 161-4.

Manuscrito recibido el: 16/08/2012

Aceptado para su publicación el: 10/12/2012

Correspondencia:

Nombre: Mg. Miguel Villegas Chiroque

Dirección: Jr. Puno 1002- Cercado de Lima, Perú

e-mail: mivichiz003@yahoo.es