



La biologia molecolare applicata alla Melissopalinologia



*Sviluppo di un metodo per la caratterizzazione
dei mieli valdostani attraverso il riconoscimento dei pollini
con Polymerase Chain Reaction (PCR)*

C. GYPPAZ (1), M.F. BORNEY (1), P. BORRELLI (2), V. PORCARO (3).

1. LABORATORIO DI BIOLOGIA, ARPA DELLA VALLE D'AOSTA, SAINT-CHRISTOPHE, ITALY.
2. AMBULATORIO ALLERGOLOGIA E IMMUNOLOGIA CLINICA, OSPEDALE U. PARINI, AOSTA, ITALY.
3. AMBULATORIO TERRITORIALE DI ALLERGOLOGIA, AZIENDA USL VALLE D'AOSTA, AOSTA, ITALY.





L'Allergia alimentare da ingestione di miele è un evento molto raro, tuttavia segnalato in letteratura. Il miele può causare reazioni che variano da **sintomi orofaringei**, fino all'**anafilassi**. Può comparire in soggetti affetti da rinocongiuntivite allergica da pollini, in particolare di *Compositae* e in allergici al veleno d'ape.

10 gr. di miele → dai 20 ai 100.000 **granuli pollinici** che conservano le loro proprietà allergeniche.

Obiettivo → messa a punto di una metodica biomolecolare, alternativa all'analisi melissopalnologica tradizionale, per l'identificazione dei pollini nei mieli.

- Rododendro



- Tarassaco



- Tiglio



- Castagno



Mieli Uniflorali

⊙ **5 campioni** di miele per ogni tipologia

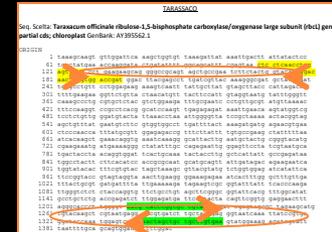
⊙ **Due anni** di produzione (2011-2012)

⊙ **Totale: 40 campioni**



Lo studio condotto ha previsto:

- ricerca delle sequenze d'interesse;
- costruzione dei primers non pubblicati (*Taraxacum* e *Rhododendron*);
- estrazione del DNA;
- analisi in PCR end-point ;
- successiva rivelazione elettroforetica.



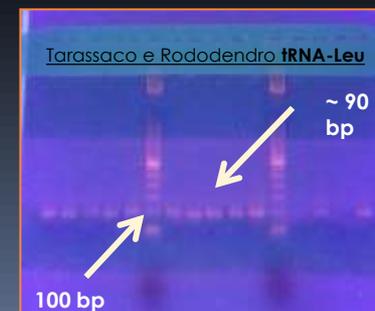
- Tarassaco Forward 5'-AATGCACCCGGTGCCGTA-3'
- Tarassaco Reverse 5'-TTCACAAGCAGCAGCTAGTT-3'
- Rododendro Forward 5'-TAATATCCCCACCCATCCA-3'
- Rododendro Reverse 5'-ATTCCAATAGGATACTCGTGT-3'



Protocollo termici

Denaturazione: 95°C x 10min.	} x 35 cicli
Annealing: 95°C x 1min. 72°C x 1min.	
Estensione: 72°C x 10min.	

Totale circa 2,40 ore

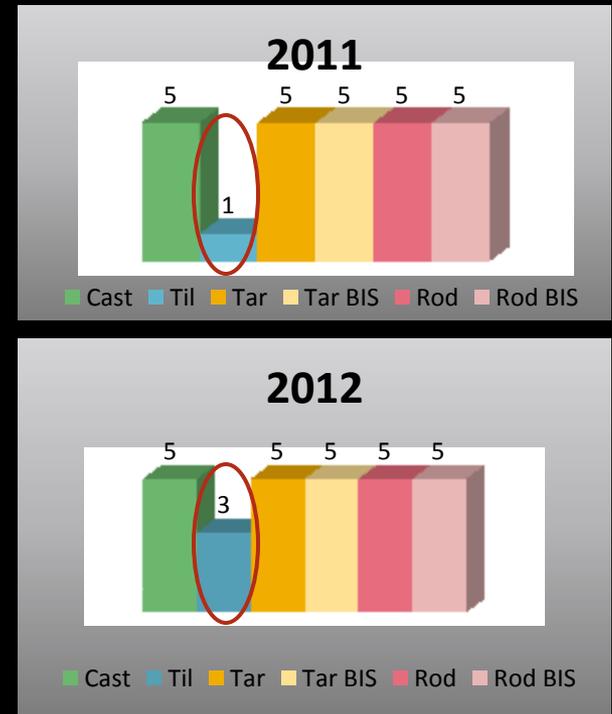




I **risultati** ottenuti hanno permesso di confermare l'applicabilità della metodica utilizzata su tutti i mieli testati e l'idoneità, per le sequenze specifiche disegnate durante lo studio, a rilevare il target.

E' stato altresì possibile verificare il funzionamento dei primers individuati in letteratura anche sui mieli valdostani.

Riscontrate criticità per il TIGLIO



In conclusione, la metodica proposta per l'estrazione del DNA dal miele è risultata adeguata. Inoltre, la caratterizzazione molecolare può essere utilizzata, in appoggio alla melissopalinoologia classica, come un complemento per la valorizzazione dei prodotti contenenti pollini, comportando possibili ricadute anche in ambito allergologico.

GRAZIE per l'ATTENZIONE!