

ISSN 1825-2893

MATTIOLI 1885

VOLUME V, 1/2009

G | E | A



GIORNALE EUROPEO DI AEROBIOLOGIA  
MEDICINA AMBIENTALE E INFEZIONI AEROTRASMESSE

EUROPEAN JOURNAL OF AEROBIOLOGY AND ENVIRONMENTAL MEDICINE

1/2009

Associazione Italiana di Aerobiologia  
**Atti del XII Congresso Nazionale**  
**"Salute dell'ambiente salute dell'uomo"**

*Firenze, 7-9 maggio 2009*

OFFICIAL JOURNAL OF AIA - ISDE

# LA BIOLOGIA MOLECOLARE NEL MONITORAGGIO AEROBIOLOGICO: PROSPETTIVE PER IL RICONOSCIMENTO DEI POLLINI ALLERGENICI

A. CRISTOFORI, S. LONGHI, P. GATTO, F. CRISTOFOLINI, M.S. GRANDO, E. GOTTARDINI

Centro Ricerca e Innovazione IASMA, Fondazione Edmund Mach - Area Ambiente e Risorse Naturali, San Michele all'Adige (TN)

L'attuale norma applicata nel monitoraggio aerobiologico (UNI 11108:2004) prevede il riconoscimento e il conteggio al microscopio ottico dei granuli pollinici aerodispersi. I costi connessi all'applicazione di tale metodica di analisi, sia in termini di tempo che di personale specializzato, rappresentano spesso un fattore limitante per l'ampliamento delle reti territoriali di campionamento, necessarie per la produzione di informazioni dettagliate relative al carico pollinico di specifiche aree. Il presente studio valuta le potenzialità delle metodiche biomolecolari di PCR quantitativa in tempo reale per l'identificazione e la quantificazione dei granuli pollinici raccolti attraverso la rete di campionatori volumetrici tipo-Hirst diffusi sul territorio, allo scopo di sviluppare un sistema rapido e affidabile da poter applicare al monitoraggio aerobiologico.

## Materiali e metodi

Campioni di polline e foglie sono stati raccolti in provincia di Trento da un set di piante selezionate in base al loro potenziale allergenico; per la verifica della quantificazione, sono state allestite sospensioni a diverse concentrazioni di uno o due taxa pollinici. Lo sviluppo delle metodiche di riconoscimento e quantificazione dei pollini attraverso l'analisi del DNA nucleare ha richiesto i seguenti passaggi:

1. messa a punto di un protocollo di estrazione del DNA da polline libero o legato a nastro siliconato Melinex®;

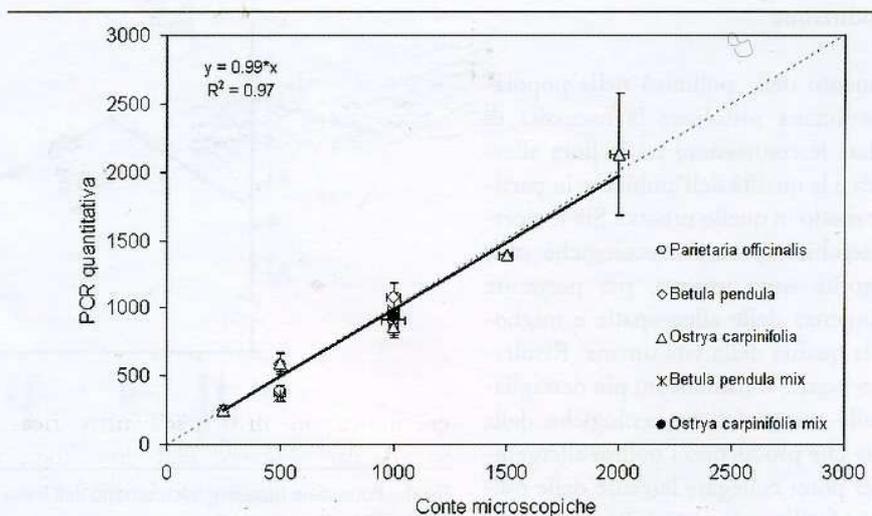


Fig. 1 - Numero medio di granuli pollinici stimato attraverso conte microscopiche o PCR quantitativa. Le barre rappresentano l'errore standard

2. identificazione e sequenziamento di regioni di DNA nucleare taxon-specifiche per l'amplificazione in PCR;
3. costruzione di curve standard per la quantificazione dei diversi taxa pollinici;
4. confronto tra numero di granuli pollinici stimati con conta microscopica tradizionale e con PCR quantitativa.

## Risultati

L'estrazione da polline libero e su nastro ha fornito DNA di buona qualità per le successive analisi di PCR. L'approccio bioinformatico e la ricerca in letteratura hanno permesso di individuare regioni di DNA specifiche per tutte le specie polliniche analizzate. Sono state quindi dis-

egnate opportune coppie di primer per l'amplificazione del materiale genetico nucleare e specifiche sonde per la quantificazione del DNA. Attraverso l'utilizzo delle curve standard taxon-specifiche è stato possibile verificare la corretta quantificazione del DNA pollinico anche in presenza di due specie nello stesso campione. La regressione lineare applicata al numero di granuli di DNA stimato con conta microscopica verso PCR quantitativa mostra come esista una forte concordanza tra i valori forniti dalle due metodologie (Figura 1).

Lo studio è stato realizzato nell'ambito del progetto CARPOL, finanziato dalla Fondazione Cassa di Risparmio di Trento Rovereto.