



Prevalencia de hipersensibilidad al polen de *Cupressus* en pacientes alérgicos en Monterrey, México¹

Liborio Rafael Leal García,* Sandra Nora González Díaz,* María del Carmen Zárate Hernández,* Alfredo Arias Cruz,* Lucía Leal Villarreal,* María Amelia Manrique López,* Dora Alicia Valdés Burnes*

RESUMEN

Antecedentes: el polen de *Cupressus* es uno de los principales agentes causales de enfermedades respiratorias alérgicas en Norteamérica. En un estudio previo de la concentración polínica de Monterrey, este polen ocupó el tercer lugar en frecuencia.

Objetivo: conocer la sensibilización a *Cupressus* en pacientes atendidos en el Centro Regional de Alergia e Inmunología Clínica del Hospital Universitario José Eleuterio González.

Material y métodos: se diseñó un estudio observacional, transversal y prospectivo en el que se aplicó un cuestionario para valorar los síntomas alérgicos y la potencial exposición al polen, una prueba cutánea con extracto alérgico de *Cupressus* en dilución de 1:20 y una prueba cutánea con otros 36 aeroalergenos.

Resultados: se realizó la prueba cutánea con extracto alérgico de *Cupressus* en 256 pacientes, de los cuales 136 eran mujeres; en cuanto a la edad, 130 eran menores de 18 años y 126, adultos. La prueba fue positiva en 39 individuos (15.2%). De los 36 aeroalergenos probados en el centro, *Cupressus* ocupó el séptimo lugar en frecuencia. De los 130 menores de 18 años, sólo 10 (7.7%) fueron positivos, en tanto que entre los 129 adultos, el número aumentó a 29 (22.5%, $p = 0.001$). Los pacientes con prueba positiva a *Cupressus* también dieron positivo al menos a otro aeroalergeno en 97% de los casos ($p \leq 0.001$).

Conclusiones: la sensibilización a *Cupressus* resultó ser alta en este grupo de estudio (15.2%). Debe considerarse la aplicación rutinaria de extracto alérgico de *Cupressus* en pacientes con alergia respiratoria; sin embargo, es necesario realizar más pruebas para conocer con precisión la prevalencia de esta sensibilización y sus posibles implicaciones clínicas en esta población.

Palabras clave: *Cupressus*, sensibilización, pruebas cutáneas, prevalencia, rinitis.

ABSTRACT

Background: *Cupressus* pollen is one of the main causes of allergic respiratory disease in North America. In a previous study of pollen concentration in Monterrey, *Cupressus* occupied the 3rd place in frequency.

Objective: To know the sensitization to *Cupressus* in patients treated at our center.

Methods: We conducted an observational, cross-sectional and prospective study, with a questionnaire to assess potential exposure and allergic symptoms to pollen, skin tests with allergen extract of *Cupressus* 1:20 dilution, and skin tests with others 36 aeroallergens in our hospital.

Results: We did *Cupressus* skin test in 256 patients (136 women), 130 younger than 18 years old and 126 adults. The skin test was positive in 39 patients (15.2%). Of the 36 aeroallergens tested, *Cupressus* occupied the 7th place in frequency. Of the 130 under 18 years, only 10 (7.7%) had a positive skin test. Among the other 129 adults, 29 (22.5%) had a positive skin test ($p = 0.001$). Patients with a positive skin test *Cupressus* had at least one positive skin test to other aeroallergen in 97% of cases ($p \leq 0.001$).

Conclusions: *Cupressus* sensitization in our study group was high (15.2%). The routine use of allergen extract of *Cupressus* should be considered in patients with respiratory allergy. However, it is necessary to determine precisely the prevalence of sensitization and its possible clinical implications.

Key words: *Cupressus*, sensitization, skin tests, prevalence, rhinitis.

¹ Este protocolo fue aprobado por el Comité de Ética y Elegibilidad del Hospital Universitario José Eleuterio González, Monterrey, NL, México.

* Centro Regional de Alergia e Inmunología Clínica, Hospital Universitario José Eleuterio González, Monterrey, Nuevo León.

Correspondencia: Dr. Liborio Rafael Leal García. Centro Regional de Alergia e Inmunología Clínica, Hospital Universitario José Eleuterio González, Universidad Autónoma de Nuevo León.

Madero y Gonzalitos s/n, colonia Mitras Centro, CP 64460, Monterrey, Nuevo León, México.

Correo electrónico: drliborio@hotmail.com

Recibido: agosto, 2010. Aceptado: septiembre, 2010.

Este artículo debe citarse como: Leal-García LR, González-Díaz SN, Zárate-Hernández MC, Arias-Cruz A y col. Prevalencia de hipersensibilidad al polen de *Cupressus* en pacientes alérgicos en Monterrey, México. Rev Alerg Mex 2010;57(5):153-158.

Los padecimientos atópicos, como la rinoconjuntivitis, el eccema atópico y el asma afectan a 25% de la población mundial.¹⁻³ Sus síntomas suelen ser desencadenados por diversos alérgenos. Los pólenes de plantas pueden actuar como alérgenos al contacto o exposición en pacientes sensibilizados. Las plantas producen grandes cantidades de polen y, por tanto, son una importante fuente de alérgenos en suspensión en el aire (aeroalérgenos).^{1,4} El alto contenido de polen en el ambiente se relaciona con la aparición de asma, rinitis y alergia ocular en sujetos genéticamente susceptibles.^{1,2} El muestreo de aeroalérgenos proporciona información clínicamente valiosa para determinar el posible riesgo de generación de síntomas de alergia en personas sensibilizadas.⁵ Un 20% de la población alérgica al polen vive en países industrializados, en donde se ha llevado a cabo gran parte de la investigación para identificar las especies y los alérgenos de polen que causan la alergia.^{6,7} Al tratar al paciente es fundamental conocer los tipos específicos de aeroalérgenos que existen en el área donde reside y cuáles de ellos pudieron sensibilizarlo.⁸ El médico alergólogo debe seleccionar el número y el tipo de extractos alérgicos de plantas y hongos de mayor importancia clínica para incluirlos en su panel de pruebas cutáneas con el fin de establecer un diagnóstico preciso. Adicionalmente, deberán tomarse en consideración las épocas de mayor o menor concentración y la reactividad cruzada para formular de manera adecuada la inmunoterapia.⁸

En 2004 se estudió la concentración polínica del aire del área metropolitana de la ciudad de Monterrey, Nuevo León, mediante la utilización de un captador volumétrico tipo Hirst (Burkard Manufacturing Co. Ltd., Rickmansworth, UK). Los meses de máxima concentración polínica, en general, fueron febrero y marzo. El polen de *Cupressus*, el cual es responsable de muchos casos de polinosis en el mundo, ocupó el tercer lugar en frecuencia en dicho estudio.⁹ *Cupressus* pertenece a la familia *Cupressaceae* dentro del orden de las coníferas.¹⁰⁻¹²

Hace poco se identificó el Cup s 1 como un alérgeno específico causante de la sensibilización alérgica intensa al polen de coníferas. *Cupressus* es originario de las montañas del este y del sur de la región mediterránea, del sur de Estados Unidos y del norte de México. Su área de

distribución se extendió a los países circunmediterráneos merced a su cultivo con fines ornamentales; poliniza de enero a febrero. El polen de la familia *Cupressaceae* es una de las causas principales de enfermedades alérgicas respiratorias en invierno en América del Norte, Japón y los países del Mediterráneo.^{13,14} A pesar de su alta concentración polínica, *Cupressus* sólo se incluye en las baterías de pruebas cutáneas de 17% de los consultorios de alergólogos en México, entre los que no se encuentra este centro de diagnóstico y tratamiento.

El objetivo de este estudio fue investigar la frecuencia de sensibilización a *Cupressus* en pacientes atendidos en este centro, con la finalidad de valorar su posible inclusión en la batería de extractos alérgicos para pruebas cutáneas e inmunoterapia.^{9,16}

PACIENTES Y MÉTODO

De octubre de 2009 a febrero de 2010 se realizó un estudio observacional, transversal y prospectivo, el cual fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González. Se reclutaron los pacientes, de cualquier edad y sexo, atendidos en el Centro Regional de Alergia e Inmunología Clínica del Hospital Universitario de Monterrey, Nuevo León, a quienes se les habían realizado pruebas cutáneas a aeroalérgenos y que estaban dispuestos a dar su consentimiento informado o asentimiento, en el caso de los menores de edad. Se excluyeron los sujetos con inmunosupresión, dermatitis generalizada o localizada en el sitio de aplicación (espalda), que estuvieran recibiendo inmunoterapia para tratar enfermedad alérgica, antihistamínico, o ambos, que padecieran alguna enfermedad mental y los que rechazaron participar en el protocolo. Cada uno de los reclutados respondió un cuestionario elaborado en el centro para valorar los síntomas de enfermedades alérgicas y su potencial asociación con la exposición al polen de *Cupressus* (en casa o en la de algún vecino), así como para recabar sus datos demográficos. El cuestionario incluyó una fotografía de *Cupressus* para que los pacientes pudieran identificarlo mejor. A todos se les realizaron pruebas cutáneas en la espalda tipo *prick* con duotip que contenía extracto alérgico comercial de *Cupressus arizonica* (Allerstand) en una concentración de 1:20 peso-volumen (P/V); además,

se les aplicó la batería de 36 aeroalergenos comúnmente usados en el centro, como: *Fraxinus*, *Junglans*, *Juniperus*, *Ligustrum*, *Populus*, *Prosopis* y *Quercus*. Se utilizó una solución de fosfato de histamina (en concentración de 10 mg/mL) como testigo positivo y una solución diluyente glicerinada de fosfatos como testigo negativo. La lectura de las pruebas cutáneas se hizo a los 15 minutos de la aplicación, con una regla milimétrica. La prueba se consideró positiva si la roncha medía 3 mm o más por encima del testigo negativo. Para calcular el tamaño de la muestra se utilizó una desviación estándar (Z) de 1.96 y un margen de error del 5%, lo cual arrojó un resultado de 148 pacientes. Los datos se analizaron en el programa SPSS versión 17.0 para Windows. Se determinaron las medias, las frecuencias y la χ^2 al cuadrado; y se estableció como significativa una $p < 0.05$.

RESULTADOS

Se aplicaron pruebas cutáneas con extracto alergénico de *Cupressus* a 256 pacientes con un rango de edad de 2 a 77 años y una media de 21.8 años \pm 17.5, predominantemente del sexo femenino (53.1%). Del total, 130 (50.8%) eran menores de 18 años de edad y el resto eran adultos, que se distribuyeron en diferentes grupos de edad: preescolares (23%), escolares (19.5%), adolescentes (7.8%), adultos de 18 a 40 años (33.6%), adultos de 41 a 59 años (12.5%) y ancianos (3.5%). Un 91.8% ($n = 235$) de los pacientes residía en el área metropolitana de Monterrey; 3.5% ($n = 9$) en otros municipios de Nuevo León, y 4.7% ($n=12$) en otros estados del país.

De los 256 pacientes, 35.2% ($n = 90$) refirieron haber tenido contacto con el árbol de *Cupressus*, 14.4% ($n = 13$) en su casa y 85.5% ($n = 77$) en casa de algún vecino. La prueba cutánea con el extracto de *Cupressus* fue positiva en 39 sujetos (15.2%), 21 hombres y 18 mujeres ($p = 0.34$). *Cupressus* ocupó el primer lugar en frecuencia de respuesta positiva dentro del grupo de los árboles probados y el séptimo lugar entre los extractos (Cuadro 1).

Un 6.69% ($n = 9$) de los 130 menores de 18 años y 23.8% ($n = 30$) de los 126 adultos resultaron positivos a la prueba cutánea ($p = 0.001$). El rango de edad en el que hubo más positivos fue de 18 a 40 años, con 27.9% ($p = 0.002$) (Cuadro 2). De los 36 individuos con prueba

Cuadro 1. Aeroalergenos con mayor frecuencia de respuesta positiva en las pruebas cutáneas

	Extracto alergénico	Número (%)
1	<i>D. pteronyssinus</i>	94 (36.7)
2	<i>D. farinae</i>	85 (33.2)
3	<i>Cynodon</i>	54 (21.1)
4	<i>Lolium</i>	46 (18)
5	<i>Salsola</i>	45 (17.6)
6	<i>Amaranthus</i>	43 (16.8)
7	<i>Cupressus</i>	39 (15.2)

Cuadro 2. Prueba cutánea a *Cupressus* por edad ($p = 0.002$)

Rango de edad en años	Positiva	Negativa
Preescolar (2-5)	2 (3.4%)	57 (96.6%)
Escolar (6-12)	5 (10%)	45 (90%)
Adolescencia (13-17)	2 (10%)	18 (90%)
Adulto joven (18-40)	24 (27.9%)	62 (72.1%)
Adulto mayor (41-59)	5 (15.6%)	27 (84.4%)
Anciano (60 o más)	1 (11.1%)	8 (88.9%)
Total	39 (15.2%)	217 (84.8%)

cutánea positiva a *Cupressus*, 35 (89.7%) habitaban en el área metropolitana de Monterrey, uno en el municipio de Linares y tres en el estado de Tamaulipas.

De los 90 sujetos que tuvieron contacto con *Cupressus*, sólo 15.5% ($n = 14$) dieron positivo en la prueba cutánea ($p = 0.916$); entre ellos, el principal diagnóstico fue rinitis alérgica ($p = 0.005$). Del total de pacientes, 250 (97.7%) refirieron síntomas nasales; esta cifra fue de 97.4% ($n = 39$) entre los positivos al extracto de *Cupressus*, aunque no tuvo valor estadísticamente significativo. Los síntomas bronquiales (tos o sibilancias) afectaron a 10% ($n=39$) de los sujetos positivos ($p = 0.024$), si bien los síntomas oculares y dermatológicos no tuvieron significancia estadística. El tiempo de evolución de los síntomas fue mayor a 10 años en 69% (27) de los positivos al extracto alergénico ($p = 0.04$). En cuanto a la reactividad cruzada de *Cupressus* con los extractos alergénicos aplicados en el centro, la asociación más significativa fue con *Juniperus*, ya que de los 39 individuos con prueba cutánea positiva a *Cupressus* y 33 a *Juniperus*, 27 fueron positivos a ambos ($p < 0.001$). De los 39 sujetos positivos a *Cupressus*, hubo

una correlación significativa ($p < 0.05$) con todos los extractos alergénicos de pastos aplicados en el servicio: *Cynodon* (53.8%), *Lolium* (43.6%), *Phleum* (43.6%), *Bromus* (35.9%), *Sorghum* (30.8%) y *Holcus* (20.5%); al igual que con todas las malezas: *Amaranthus* (46.2%), *Salsola* (43.6%), *Ambrosia* (41%), *Atriplex* (25.6%), *Chenopodium* (25.6%), *Helianthus* (25.6%) y *Artemisa* (17.9%); con respecto a los árboles, hubo correlación con *Juniperus* (69.2%), *Fraxinus* (38.5%), *Ligustrum* (30.8%), *Prosopis* (30.8%), *Quercus* (20.5%) y *Junglans* (12.8%); en cuanto a los hongos aplicados, sólo se encontró una correlación estadísticamente significativa con *Alternaria* (12.8%), *DMF pteronyssinus* (56.4%), *Felis* (28.2%), *Blatella* (23.1%) y el polvo de casa (15.3%). El 45.7% ($n=117$) de los pacientes fue positivo a algún polen del centro; 31.6% ($n=37$) de ellos a *Cupressus* ($p \leq 0.001$); 46.4% ($n = 119$) resultó positivo a algún alérgeno intramuro, como *Cupressus* (22.7%, es decir, 27 personas, $p = 0.002$). Los individuos con una prueba cutánea positiva a *Cupressus* tuvieron al menos otra prueba positiva a otro aeroalérgeno en 97% de los casos ($p \leq 0.001$) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Comparación del resultado de la prueba cutánea a *Cupressus* con el resultado de las pruebas cutáneas con los extractos de los aeroalérgenos utilizados en el CRAIC ($p \leq 0.001$)

		<i>Cupressus</i>		
		Positivo	Negativo	Total
Resultado de las pruebas cutáneas a aeroalérgenos	Positivas*	38	125	163
	Negativas	1	92	93
Total		39	217	256

* Resultado positivo para al menos uno de los aeroalérgenos probados.

DISCUSIÓN

En este estudio se encontró una alta prevalencia de sensibilización a *Cupressus* (15.2%) principalmente en los adultos, lo que concuerda con lo reportado en la bibliografía. En una prueba realizada por Fiorina en Liguria, Italia, la prevalencia de sensibilización a *Cupressus* fue de 1%;¹⁷ Ariano, en Liguria, y De Luca, en Roma, refirieron cifras de 7.2 y 9.3% respectivamente, mientras que Charpin reportó en Marsella una prevalencia de

9.6%.¹⁸⁻²⁰ Por su parte, Bousquet inició en Montpellier una prueba sólo con pacientes alérgicos, en la cual calculó una sensibilización a *Cupressus* de 15%.²¹ Sin, en Turquía, obtuvo una prevalencia de 15.4%, que es muy similar a los resultados del estudio descrito aquí.²² En algunas otras pruebas se han encontrado prevalencias de sensibilización tan altas como 17.4%, en Lacio, y de 23% en Madrid.^{23,24}

Las manifestaciones clínicas de los pacientes sensibilizados al polen de *Cupressus* son similares a las de una viriasis invernal, lo que podría explicar el subdiagnóstico; un ejemplo de esto es el aumento de la prevalencia de sensibilización al polen de *Cupressus* en Italia de 9.9% en 1991 a 24.5% en 1993 y a 35.4% en 1994; por lo que es muy importante correlacionar la exposición al polen de *Cupressus* con los síntomas alérgicos.²⁵

La rinitis es común entre los pacientes sensibilizados al polen de ciprés; sin embargo, los síntomas nasales podrían estar asociados con la respuesta hacia otros aeroalérgenos, ya que la monosensibilización a *Cupressus* es poco frecuente, como se observó en este estudio.²⁶

Algunos pacientes con sensibilización a *Cupressus* pueden experimentar síntomas pulmonares. En este estudio, 10% de los individuos con prueba cutánea positiva refirió síntomas bronquiales ($p = 0.02$), mientras que Bousquet y De Luca reportaron asma en 15.7 y 37.5%, respectivamente, de las personas sensibilizadas a este polen.^{19,26} Aunque los síntomas pulmonares no son tan comunes como los nasales en este grupo, es indispensable investigar en ellos la coexistencia de este tipo de padecimientos.

El tiempo de evolución de los síntomas alérgicos en los pacientes sensibilizados a *Cupressus* es prolongado, e incluso puede ser mayor a 10 años.²⁶ En 69% de los sujetos de este estudio, el diagnóstico de sensibilización a *Cupressus* se hizo cuando tenían más de 10 años con síntomas alérgicos ($p = 0.04$), aunque el inicio de los síntomas en cierto porcentaje de estos pacientes podría estar relacionado con la sensibilización a otros aeroalérgenos.

Sin, en Turquía, realizó un estudio en el que utilizó un panel de 26 aeroalérgenos, y observó una monosensibilización a *Cupressus* de 1.5%, lo que es similar a lo encontrado en esta investigación (2.6%).²² Por el contrario, Papa determinó una monosensibilización a *Cupressus* de 19.4% al realizar pruebas cutáneas para

aeroalergenos comunes, mientras Bousquet, en un estudio con pacientes alérgicos al polen de ciprés en el que utilizó un panel de 23 aeroalergenos, reportó una monosensibilización de 29% a *Cupressus*.^{23,26}

Debido a que pertenecen a la misma familia *Cupressaceae*, existe una alta reactividad cruzada entre *Cupressus* y *Juniperus*.¹⁴ En este estudio, 79% de los pacientes sensibilizados a *Juniperus* fueron positivos en la prueba cutánea para *Cupressus*, mientras que 67% de los sensibilizados a *Cupressus* fueron también positivos a *Juniperus*.

En un estudio clínico controlado con placebo realizado por Ariano, que incluyó a 20 pacientes sensibilizados a *Cupressus*, se aplicó inmunoterapia subcutánea específica con dicho agente a 10 de ellos durante 12 meses.²⁷ A diferencia de los integrantes del grupo placebo, los del grupo de inmunoterapia mostraron mejoría significativa en la escala de síntomas y, en consecuencia, una disminución en el consumo de medicamentos y en los síntomas inducidos en pruebas de provocación nasal específica. Estos resultados sugieren que podría considerarse la inmunoterapia específica para *Cupressus* en pacientes sensibilizados al mismo, con potencial exposición y posible asociación de sus síntomas alérgicos.

CONCLUSIÓN

La sensibilización a *Cupressus* fue alta en este grupo de estudio (15.2%). Debería considerarse el uso rutinario del extracto alérgico de *Cupressus* en el diagnóstico y tratamiento de pacientes con alergia respiratoria; sin embargo, es necesario realizar más estudios en esta población para conocer con exactitud la prevalencia de la sensibilización y sus posibles implicaciones clínicas.

REFERENCIAS

- Moreno-Grau S, Moreno J, Vergara N, Ibarrola I, et al. Correlation between *Olea europaea* and *Parietaria judaica* pollen counts and quantification of their major allergens Ole e 1 and Par j 1-Par j 2. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006;96:858-864.
- European Community Respiratory Health Survey (ECRHS). Variations in the prevalence of respiratory symptoms, self-reported asthma attacks, and use of asthma medication in the European Community Respiratory Health Survey (ECRHS). *Eur Respir J* 1996;9:687-695.
- The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. *Lancet* 1998;351:1225-1232.
- Casas C, Márquez J, Suárez-Cervera M, Seoane-Camba JA. Immunocytochemical localization of allergenic proteins in *Parietaria judaica* L (*Urticaceae*) pollen grains. *Eur J Cell Biol* 1996;70:179-188.
- Port A, Hein J, Wolff A, Bielory L. Aeroallergen prevalence in the northern New Jersey-New York City metropolitan area: a 15-year summary. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006;96:687-691.
- Vega-Maray AM, Fernández-González D, Valencia-Barrera R, Suárez-Cervera M. Allergenic proteins in *Urtica dioica*, a member of the *Urticaceae* allergenic family. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006;97:343-349.
- De Weerd NA, Bhalla PL, Singh MB. Aeroallergens and pollinosis: molecular and immunological characteristics of cloned pollen allergens. *Aerobiologia* 2002;18:87-106.
- Méndez J, Huerta J, Bellanti J, Ovilla R, Escobar A. Alergia: enfermedad multisistémica. *Fundamentos básicos y clínicos*. México: Editorial Médica Panamericana, 2008;p:67-72.
- Rocha EA, Alvarado VM, Torres CTE, Foroughbakhch PR. Principales tipos polínicos presentes en el aire de la zona norte del área metropolitana de Monterrey, Nuevo León. *Ciencia UANL* 2008;11:69-76.
- Togawa A, Panzani RC, Garza MA, Kishikawa R, et al. Identification of Italian cypress (*Cupressus sempervirens*) pollen allergen Cup s 3 using homology and cross-reactivity. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006;97:336-342.
- Ramirez DA. The natural history of mountain cedar pollinosis. *J Allergy Clin Immunol* 1984;73:88-93.
- Panzani R, Centanni G, Brunel M. Increase of respiratory allergy to the pollens of cypresses in the south of France. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1986;56:460-463.
- Suárez-Cervera M, Castells T, Vega-Maray A, Moreno-Grau S, et al. Effects of air pollution on Cup s 3 allergen in *Cupressus arizonica* pollen grains. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2008;101:57-66.
- Charpin D, Calleja M, Lahoz C, Pichot C, Waisel Y. Allergy to cypress pollen. *Allergy* 2005;60:293-301.
- Larenas D, Arias A, Guidos G, Cid M. Alergenos usados en las pruebas cutáneas en México. *Alergia Rev Mex* 2009;56(2):41-47.
- Huertas A, Mozota J, García A. Prevalencia de sensibilización cutánea a polen de palmera y de morera en el sureste español. *Allergol Inmunol Clin* 2002;17:193-196.
- Fiorina A, Scordamaglia A, Guerra L, Canonica GW, Passalacqua G. Prevalence of allergy to cypress. *Allergy* 2002;57:861-862.
- Ariano R, Passalacqua G, Panzani R, Venturi S, et al. Airborne pollens and prevalence of pollinosis in western Liguria. A 10-year study. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1999;9:229-234.
- De Luca A, Graziani E, Anticoli S, Simeoni S, et al. Respiratory allergy to *Cupressus sempervirens* in Rome. *Allergol Immunopathol* 1997;25(5):229-232.

20. Charpin D. Epidemiology of cypress allergy. *Allerg Immunol* 2000;32:83-85.
21. Bousquet J, Cour P, Guérin B, Michel F. Allergy in the Mediterranean area. I. Pollen counts and pollinosis of Montpellier. *Allergy* 1984;14:249-258.
22. Sin AZ, Ersoy R, Gulbahar O, Ardeniz O, et al. Prevalence of cypress pollen sensitization and its clinical importance in Izmir, Turkey, with cypress allergy assessed by nasal provocation. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2008;18(1):46-51.
23. Papa G Romano A, Quarantino D, Artesani MC, et al. Prevalence of sensitization to *Cupressus sempervirens*: a 4-year retrospective study. *Sci Total Environ* 2001;270:83-87.
24. Subiza J, Feo Brito F, Pola J. Pólenes alergénicos y polinosis en 12 ciudades españolas. *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1998;13:45-58.
25. Mari A, di Felice G, Afferni C, Barletta B, et al. Cypress allergy: an underestimated pollinosis. *Allergy* 1997;52:355-356.
26. Bousquet J, Knani J, Ferrando R, Cour P, et al. Heterogeneity of atopy. I. Clinical and immunologic characteristics of patients allergic to cypress pollen. *Allergy* 1993;48:183-188.
27. Ariano R, Panzani RC, Augeri G. Double-blind placebo controlled specific immunotherapy with mixed *Cupressaceae-Taxodiaceae* pollens in respiratory allergy to *Cupressus sempervirens*. *Allergol Immunopathol* 1997;25(1):23-29.