دار المنظومة
DAR ALMANDUMAH
الرواد في قواعد المعلومات العربية

العنوان:	عزل وتشخيص فطريات هواء قسم علوم الحياة
المصدر:	مجلة جامعة الحسين بن طلال للبحوث
الناشر:	جامعة الحسين بن طلال - عمادة البحث العلمي والدراسات العليا
المؤلف الرئيسي:	الدباغ، هبة هادى طه
مؤلفين آخرين:	رمضان، نديم احمد، سالم، ضحى محمد، الزبيدى، شيماء فيصل يونس(م. مشارك)
المجلد/العدد:	مج5, ملحق
محكمة:	نعم
التاريخ الميلادي:	2019
الصفحات:	44 - 53
رقم MD:	1039284
نوع المحتوى:	بحوث ومقالات
اللغة:	Arabic
قواعد المعلومات:	EduSearch, AraBase, HumanIndex
مواضيع:	الفطريات، فطريات الهواء، فطريات المباني، الحساسية، الخمائر
رابط:	http://search.mandumah.com/Record/1039284

© 2021 دار المنظومة. جميع الحقوق محفوظة.
هذه المادة متاحة بناء على الإتفاق الموقع مع أصحاب حقوق النشر، علما أن جميع حقوق النشر محفوظة. يمكنك تحميل أو طباعة هذه المادة للاستخدام الشخصي فقط، ويمنع النسخ أو التحويل أو النشر عبر أي وسيلة (مثل مواقع الانترنت أو البريد الالكتروني) دون تصريح خطي من أصحاب حقوق النشر أو دار المنظومة.

عزل وتشخيص فطريات هواء قسم علوم الحياة

هبة هادي طه **أ.د.نديم احمد رمضان**
شيماء فيصل يونس **ضحى محمد سالم**

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية عزل وتشخيص الفطريات المتواجدة في الهواء الداخلي للبناية الجديدة والمؤلفة من خمسة طوابق والقديمة المؤلفة من طابقين لقسم علوم الحياة. وكان مجموع المستعمرات للبناية الجديدة هو 7: 11 و 13 10:و11:9 و14:10 و15:10 على التوالي، وتم تشخيص13 جنسا ، فضلا عن الخمائر. وقد وصلت نسبة تكرار الخمائر إلى 27.77% في الطابق الأول وانخفضت إلى4.0% في الطابق الخامس.تم عزل وتشخيص 12 جنسا من الفطريات منها 8 أثناء الدوام الرسمي للطلبة من بناية القسم القديمة و10 اجناس في العطلة الربيعية فضلا عن الخمائر في كلا الفترتين. كان هناك 4 أجناس تكررت خلال الفترتين (Penicillium وAspergillus و Cladosporium و Rhizactonia) وقد كانت فطريات Penicillium و Cladosporium أكثرها تكرار ووصلت نسبة التكرار إلى 39.39% و21.12% على التوالي خلال الدوام و20.51 % و17.95% على التوالي أثناء العطلة الربيعية ولم تظهر الفطريات التالية خلال الدوام وهي Iternaria و Stemphyllium و Trichoderma و Helminthosporium وTrichophyton بينما لم تظهر فطريات Rhizopus و Aurobasidium خلال العطلة الربيعية.

كلمات مفتاحية: الفطريات المحمولة بالهواء، فطريات المباني، الحساسية، الخمائر.

Isolation and Identification of fungi in Biology Department

Abstract The study included isolation and diagnosis of fungi found in the internal air of the new building, consisting of five floors and the old building consisting of two floors for biology department. The total colonies for the new building were 7: 11, 13:10, 11: 9, 14:10 and 15:10, respectively, and 13 species were identified, as well as yeasts and 6 type of the genera. The frequency of yeast was 27.77% on the first floor and decreased to 4.0% on the fifth floor. Was isolated and diagnosed 12 genera of fungi, including 8 during the official work for students of the old department building and 10 genera in the spring holiday as well as yeast in both periods. There were 4 species repeated during the two periods (Penicillium, Aspergillus, Cladosporium and Rhizactonia). Penicillium and Cladosporium were the most frequent. The frequency rate was 39.39% and 21.12% respectively during working and (20.51% , 17.95%) respectively during the spring holiday. The fungi did not appear during the official work is Alternaria, Stemphyllium, Trichoderma, Helminthosporium and Trichophyton, while Rhizopus and Aurobasidium did not appear during the spring holiday.

Keyword :Airborn fungi ,indoor mold ,allergy, Yeasts.

المقدمة

الفطريات Fungi عبارة عن كائنات حقيقية النواة Eukaryotic تختلف في تغذيتها وسلوكها وتركيبها عن كافة الكائنات الحية الأخرى تمتاز بانها متباينة التغذية Heterotrophic أي أنها لا تستطيع ان تصنع غذائها بنفسها لعدم احتواء خلاياها على مادة الكلوروفيل وتحصل على غذائها بالترمم على المواد العضوية أوالتطفل على الكائنات الأخرى وتمتلك الفطريات مقومات خاصة تمكنها من القيام بمجموعة واسعة جدا من النشاطات والفعاليات التي تتداخل في كافة مفاصل حياة الإنسان [1]، اذ تمتاز الفطريات بقدرتها على إنتاج السموم بمختلف أنواعها وكذلك بكفاءة جهازها الإنزيمي الأمر الذي يجعلها مصدر خطورة على الإنسان بشكل مباشر من خلال التعاطي مع الفطريات نفسها كما هو الحال في بعض انواع الحساسية الناتجة من استنشاق الابواغ او غير مباشر من استنشاق أو تناول مواد ملوثة بالسموم الفطرية [2]. يعد الهواء من مكونات البيئة المهمة وهو عرضة للتلوث بكثير من المواد كالغبار والأدخنة والفطريات والبكتريا وحبوب اللقاح وغيرها وان أكثر من 225 نوعا من الفطريات عزلت من هواء الأبنية [4,3] ، وتنتشر فطريات الهواء بواسطة تيارات الهواء بشكل ابواغ وقطع خيوط فطرية تتمكن الكائنات الدقيقة ومنها الفطريات من دخول المباني عبر دخول الهواء الخارجي واثناء التدفئة والتهوية ونظام تكييف الهواء ومن خلال الابواغ والنوافذ وكذلك تدخل مع مواد البناء والمحتويات كملوثات لها اذا ارتفعت نسبة الرطوبة لفترة كافية [5]، أصبحت فطريات الهواء داخل الأبنية مهمة بشكل متزايد إذ أن لها تأثيرات ضارة على الصحة اي ان التعرض للفطريات يسبب التهيجات والحساسية والتأثيرات السامة كما ان الفطريات السامة تسبب كثيراً من المشاكل الصحية للإنسان. والمعلومات التي يتم الحصول عليها من عينات فطريات الهواء يمكنها ان تساعد في التعقيم وتحديد طرائق العلاج وتقدير المخاطر الصحية كما أنها تفيد في تحفيز متابعة قياس نوعية الهواء الداخلي لتجنب وقوع الإضرار[7,6]، ان ظاهرة الحساسية التي تسببها الفطريات تم إثباتها منذ عام 1873 وذلك عندما افترض العالم بلاكلي ان استنشاق ابواغ الفطريات الخيطية يحتمل ان تسبب حساسية الجهاز التنفسي [9,8]،اذ توجد ثلاث آليات للمرض تسببها الفطريات وهي العدوى والحساسية والتسمم الغذائي، إذ أن لكل حالة يرتبط فيها المرض بنوع خاص من الفطريات، في الآونة الخيرة نشأت اختلافات عديدة على نطاق واسع حول تأكيدات غير مثبتة علميا مفادها هو ان التعرض لفطريات الأماكن المغلقة يسبب أمراض محددة ومعروفة، كما ان هناك العديد من الأبحاث المنشورة منذ عام 1924 والتي أوضحت ان وجود الفطريات احد أسباب الربو الناتج عن الحساسية وذلك بعد ثبوت وجود الأجسام المضادة التحسسية للفطريات (IgE) [11,10] كما ان جميع أجزاء الفطر المسببة للحساسية (ابواغ الفطريات،الميسليوم وغيرها من أجزاء الفطر الأخرى) لها القدرة على حث الأجسام المضادة إضافة إلى أن بعض سلالات الفطريات تحتوي على أربعين أو أكثر من العوامل المسببة للحساسية للإنسان. ان معظم الدراسات العلمية المهتمة بأمراض الفطريات تشير إلى ان استنشاق ابواغ الفطريات او أجزاء من خيوط الفطر يمكن ان تسبب إصابة ويتوقف ذلك على نوع الفطر وفترة التعرض له كما ان الاستجابات للحساسية (الربو، الحساسية الأنفية، الالتهاب الرئوي مفرط الحساسية) تعد من أهم المشاكل الطبيعية والأكثر شيوعا والمتعلقة باستنشاق الفطريات [12] لذلك ارتأينا في هذا البحث التحري عن الفطريات في الهواء الداخلي للبناية الحديثة والقديمة لقسم علوم الحياة في جامعة الموصل والتعرف عليها وعلى مدة خطورتها ومراضيتها.

الهدف من الدراسة : عزل وتشخيص الفطريات المتواجدة في هواء قسم علوم الحياة في غياب الطلبة واثناء تواجدهم.

المواد وطرائق العمل

1) **جمع العينات:** تم إجراء البحث في جامعة الموصل داخل أبنية قسم علوم الحياة في الأسبوع الأخير من شهر كانون الثاني أثناء العطلة الربيعية للطلبة والأسبوع الثاني من شهر شباط 2018 أثناء دوام الطلبة.
2) **تحضيروسط أكار البطاطا Potato Dextrose agar(PDA):**أخذت درنات البطاطا بمقدار(200غم) وغسلت جيدا ثم قطعت إلى قطع صغيرة وطبخت لمدة نصف ساعة في دورق مع نصف لتر من الماء المقطر.رشحت البطاطا المسلوقة خلال قطعة قماش شاش. نأخذ الراشح ونضيف له سكر Dextrose بمقدار(20غم) بعد ذلك تم إضافة الاكار تدريجيا لحين الذوبان كليا وأصبح المحلول رائق. يكمل الحجم إلى اللتر بإضافة النصف المتبقي من الماء المقطر ويوضع الوسط في جهاز التعقيم (Autoclave) في درجة حرارة (121) ^{O} م لمدة (15دقيقة). بعد التبريد وقبل التصلب يضاف المضاد الحيوي Streptomycin بتركيز 50 جزء بالمليون. ثم يوزع الوسط على إطباق بتري وننتظر لغاية تصلب الوسط بعدها تحفظ الإطباق في الثلاجة لحين الاستعمال.
3) **عزل الفطريات:** تم جمع ابواغ الفطريات بطريقة الترسيب بالأطباق المفتوحة (Open etri Dishs) حضرت الأطباق الحاوية على الوسط الزرعي (البطاطا والدكستروز والاكار PDA). ثم تم كشف غطاء الطبق وتعريض الوسط للهواء لمدة (10 دقائق) بعدها تم إعادة الغطاء ، وزعت الإطباق على الطوابق الخمسة في البناية الجديدة لقسم علوم الحياة والطابقين في البناية القديمة وبعد ذلك تم إعادة الأغطية، حضنت الإطباق في الحاضنة في درجة (28-25) ^{O} م لمدة أسبوع.

شخصت الفطريات النامية على الأطباق وذلك بالاعتماد على المظهر الخارجي للمستعمرة (اللون وشكل المستعمرة) وأيضا بالاعتماد على الصفات المجهرية (شكل وحجم وتركيب الحوامل والابواغ) وذلك باستعمال المفاتيح التصنيفية [15,14,13].
4) **تشخيص انواع فطر Aspergillus** : نقيت عزلات الفطرAspergillus و نظرآ للاختلافات الطفيفة في الجزء الخضري بين انواع الجنس فاعتمد التشخيص على النمو في اوساط زرعية مختلفة وفي درجات حرارية مختلفة، إذ استعملت ثلاثة اوساط زرعية اساسية للتشخيص وهي وسط زابك ومستخلص الخميرة Czapek Yeast (CYA) Extract وسط مستخلص الشعير المنقوع Malt Extract Agar (MEA) وسط نترات الكليسرول (G25N 25% Glycerol Nitrate Agar) وذلك بتنمية العزلات الفطرية على وسط السابروبد الصلب وحضنت في درجة 28^{O}م لمدة 7ايام . استعملت ثاقبة الفلين للحصول على اقراص من المستعمرة بعد تعقيمها بغمرها بالكحول 70% والتلهيب ثم التبريد وباستعمال ابرة التلقيح المعقمة والمبردة رفع قرص من الفطر قطره 7ملم ووضع في طبق زجاجي حاوٍ على احد الاوساط الزرعية الثلاثة السابقة الذكروبواقع 3 مكررات/فطر/وسط زرعي .والتحضين في درجات حرارية (5 و25 و37^{O}م) لمدة سبعة ايام . شخصت الانواع من خلال شكل النمو ولونه وقطر المستعمرة الفطرية وبالاعتماد على المفتاح التصنيفي [15].

النتائج والمناقشة

الجدول (1) يبين ان عدد مستعمرات الفطريات (التي ظهرت في الأطباق من هواء البناية الجديدة لقسم علوم الحياة والمؤلفة من خمسة طوابق خلال العطلة الربيعية واثناء الدوام بعد ذلك) بدأ بالتزايد من الأسفل إلى الأعلى (في عطلة نصف السنة وأثناء الدوام بعد العطلة ب 15 يوم) وكان مجموع المستعمرات هو 11:7 و10:13 و 9:11

و14:10و 15:10 على التوالي، وإنه تم تشخيص 13 جنسا (الشكل ،1) ، فضلا عن الخمائر و6 أنواع تعود إلى الأجناس. وقد وصلت نسبة تكرار الخمائر إلى 27.77% في الطابق الأول وانخفضت إلى4.0% في الطابق الخامس. بشكل عام كانت أكثر الفطريات تكراراً هي فطر Penicillium بنسبة 17 % يليه فطر Cladosporium بنسبة 11%.

جدول(1).الفطريات المعزولة من هواء البناية الجديدة لقسم علوم الحياة خلال العطلة الربيعية ودوام الطلبة

الفطريات	الطابق الاول			الطابق الثاني			الطابق الثالث			الطابق الرابع			الطابق الخامس			العزلات الكلية		
	عدد المستعمرات / طبق Forming UnitColony																	
	العطلة	الدوام	% للتكرار	العطلة	الدوام	% للتكرار	العطلة	الدوام	% للتكرار	العطلة	الدوام	% للتكرار	العطلة	الدوام	% للتكرار	العطلة	الدوام	% للتكرار
Altarnaria alternata	0	0	–	2	1	13. 04	2	0	10.0	1	2	12.5	0	1	4.0	5	4	9.0
Aspergillus spp.	0	2	11.11	2	0	8.70	0	0	–	1	5	35.71	1	3	16.0	4	10	14.0
Aureobasidium	0	1	5.55	0	0	–	0	0	–	0	1	4.16	1	2	12.0	1	4	5.0
Cladosporium spp.	1	3	22.22	2	4	26.08	2	2	20.0	2	0	8.33	0	3	12.0	0	11	11.0
Cladosporium musea	0	0	–	0	0	–	0	0	–	0	1	4.16	0	0	–	0	1	1.0
Geotricum spp.	0	1	5.55	0	0	–	0	0	–	0	0	–	3	0	12.0	3	1	4.0
Microphomina spp.	0	0	–	0	0	–	0	0	–	0	0	–	1	0	4.0	1	0	1.0
Penicillium spp.	0	0	–	1	1	8.70	2	2	20.0	2	1	12.5	2	6	32.0	7	10	17.0
Rhizopus stolonifer	3	0	16.66	2	1	13.04	0	0	–	0	0	–	0	0	–	5	1	6.0
Rhizoctonia solani	0	1	5.55	0	0	–	1	4	25.0	1	1	8.33	0	0	–	2	4	6.0
Stemphylium spp.	1	0	5.55	0	0	–	0	0	–	0	0	–	1	0	4.0	2	0	2.0
Trichoderma spp.	0	0	–	0	0	–	1	0	5.0	1	0	4.16	0	0	–	1	1	2.0
Trichophyton spp.	0	0	–	0	3	13.04	0	0	–	0	0	–	0	0	–	0	3	3.0
Ulocladium spp.	0	0	–	0	1	4.35	0	0	–	0	0	–	0	0	–	0	1	1.0
Yeast	2	3	27.77	1	2	8.70	2	2	20.0	2	3	20.8	1	0	4.0	9	9	18.0
المجموع	7	11	–	10	13	–	9	11	–	10	14	–	10	15	–	43	57	–

الجدول (2) تم عزل وتشخيص 12 جنسا من الفطريات منها 8 أثناء الدوام الرسمي للطلبة في القسم و10 أنواع في العطلة الربيعية فضلا عن الخمائر في كلا الفترتين. وكان هناك 4 أجناس تكررت خلال الفترتين (Penicillium و Aspergillus و Cladosporium و Rhizactonia) وقد كانت فطريات Penicillium و Cladosporium أكثرها تكرار وقد وصلت نسبة التكرار إلى 39.39 % و21.12% على التوالي خلال الدوام و20.51 % و17.95 % على التوالي أثناء العطلة الربيعية ولم تظهر الفطريات التالية خلال الدوام وهي Alternaria و Stemphyllium و Trichoderma و Helmminthosporium و Trichophyton بينما لم تظهر الفطريات Rhizopus و Aurobasidium خلال العطلة الربيعية.

يعود السبب إلى زيادة أعداد ابواغ الفطريات (بالتالي إلى زيادة عدد المستعمرات) أثناء الدوام إلى وجود الطلبة وحركتهم التي تؤدي إلى إثارة الغبار وما يحمله من أبواغ فطرية وعلى العكس من ذلك أثناء العطلة الربيعية والتي خلالها ترسبت الابواغ. وجد [16] ان فطر Penicillium أكثر الفطريات تكرارا في الهواء الداخلي للمساكن في إحدى مدن تركيا وقد وصلت نسبة التكرار إلى 28.61% يليه فطر 16.08% , Cladosporium بينما ذكر[17] ان فطر Cladosporium أكثر الفطريات تواجدا في هواء غرف معيشة الأطفال في تركيا. وعزل [18] فطر Cladosporium بنسبة تكرار وصلت الى 29.2% في إيران.

جدول(2)الفطريات المعزولة من هواء البناية القديمة لقسم علوم الحياة خلال العطلة الربيعية ودوام الطلبة.

انواع الفطريات	خلال الدوام				خلال العطلة الربيعية			
	الطابق الاول	الطابق الثاني	العدد الكلي	% للتكرار	الطابق الاول	الطابق الثاني	العدد الكلي	%للتكرار
Penicillium spp.	7	6	13	39.39	5	3	8	20.51
Aspergillus spp.	2	1	3	9.09	5	1	6	15.38
Cladosporium spp.	3	4	7	21.21	4	3	7	17.95
Alternaria alternate	–	–	–	0	2	2	4	10.25
Rhizoctonia solani	2	0	2	6.06	2	0	2	5.13
Rhizopus stolonifera	0	1	1	3.03	–	–	–	0
Aureobasidium pullulans	0	1	1	3.03	–	–	–	0
Stemphylium spp.	–	–	–	0	3	1	4	10.25
Trichoderma spp.	–	–	–	0	1	1	2	5.13
Helminthosporium spp.	–	–	–	0	1	0	1	2.56
Trichophyton spp.	–	–	–	0	0	1	1	2.56
Yeast	4	2	6	18.18	2	2	4	10.25
المجموع	18	15	33	–	25	14	39	–

نتائج الجدول (3) توضح وجود اربعة انواع من الفطر Aspergillus في هواء ابنية قسم علوم الحياة وهي A.flavus , A.fumigatus و A.niger و A.terreus وكان اكثر انواع الفطريات تواجدا A.niger (12 مستعمرة) يليه النوع A.flavus (6 مستعمرة).

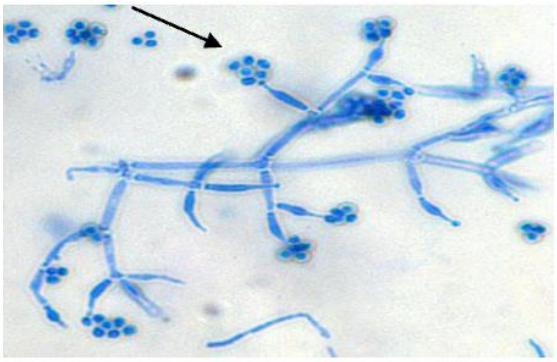
التعرض لابواغ فطريات Aspergillus يؤدي الى اصابة الاشخاص بالعديد من الامراض ومنها الربو والحساسية والجيوب الانفية (Asthma,Allergic and Sinusitis) ومن هذه الفطريات فطر A.fumigatus [19].

الجدول (3). انواع فطر Aspergillus المعزولة من هواء ابنية قسم علوم الحياة.

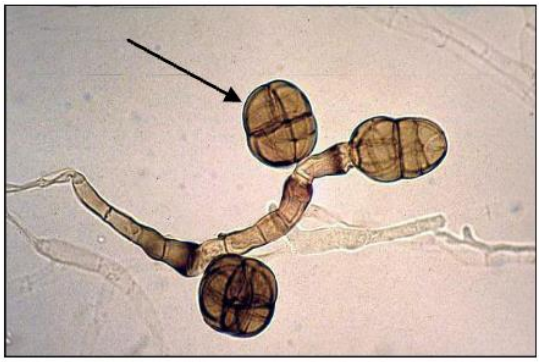
انواع Aspergillus	البناية الجديدة		البناية القديمة		المجموع
	خلال الدوام	خلال العطلة الربيعية	خلال الدوام	خلال العطلة الربيعية	
A. flavus	1	3	1	1	6
A. fumigates	1	0	0	0	1
A. niger	2	4	2	4	12
A. terreus	0	3	0	1	4
المجموع	4	10	3	6	23

Rhizopus

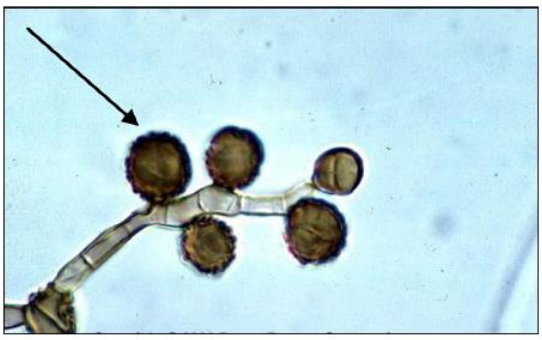
Penicillium



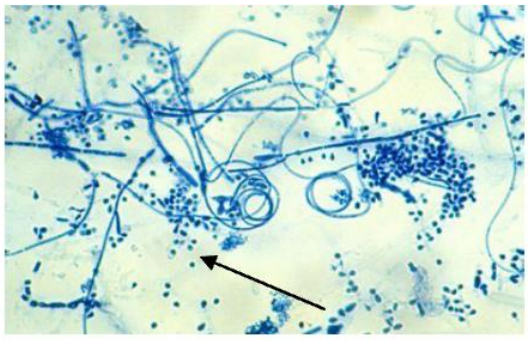
Trichoderma



Stemphylium

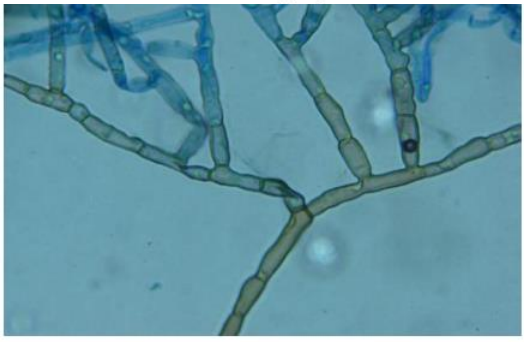


Ulocladium

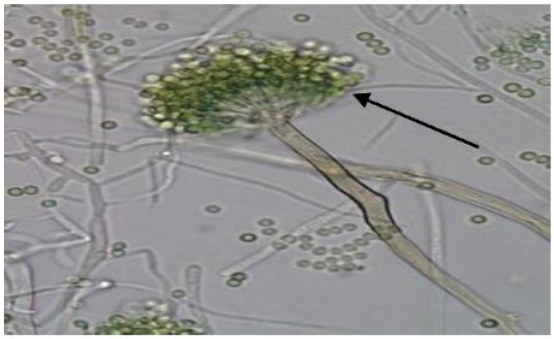


Trichophyton

Alternaria alternata



Rhizoctonia solani



Aspergillus flavus

Aureobasidium

الشكل(1) أشكال الفطريات المعزولة (تحت المجهر) من هواء البناية الجديدة والقديمة لقسم علوم الحياة خلال العطلة الربيعية وأثناء الدوام بعد العطلة.

السهم يشير الى الابواغ الكونيدية او الحوافظ البوغية، (قوة التكبير40X)

المصادر

1. Nakhilan A.M., "Medical Fungi". 1st Ed. Amman , Dejla house, 368 PP (2011) . (In Arabic) .
2. Jawetz E.; Chuenck J. L.; Felberg E. A., Demonstration of fungal proteinas during phagocytosis of Candida albicans and Candida tropicalis., J. Med. Vet. Mycol., 94:4-28 (1998).
3. Lehrer S. B.; Aukrust L.; Salvaggio J. E. , Respiratory allergy induced by fungi. , Clin. Chest Med., 4: 23–41(1983).
4. Michael R. M. , Indoor mould development and dispersal. Medical Mycology., 45:1-9 (2007).
5. Shelton B. G.; Kirkland K. H.; Flanders, W. D.;Morris, G. K. , Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in the United States., Appl. and Environ. Microbial , 68(4) : 1743 – 1753(2002).
6. Alsanjiri I.I. ; Aljuburi K.M.T., Mycotoxins have their effects and risks ., Eba center for agricultural research ., The republic of Iraq (1988) (In Arabic) .
7. Hedayati M.T.; Mayahi S.; Aghil R.; Goharimoghadam K., Airborne fungi in indoor and outdoor of asthmatic patients' home, living in the city of Sari. Iran , J. Allergy Asthma Immunol., 4 : 189–191(2005).
8. Turk J.L., Experimental researches on the causes and nature of Catarrhus aestivus., J. R. Soc Med., 84(1): 61–62(1991).
9. Mashat B.H.H., Are you exposed to indoor fungi that cause special disease. , Department of environmental and health research institute of the custodian of the two holy mosques , Umm Al-Qura university, (16) 1: 27-44 (2013). (In Arabic) .
10. Torres-Rodríguez J.; Pulido-Marrero Z.; Vera-García Y. , Respiratory allergy to fungi in Barcelona, Spain:Clinical aspects, diagnosis and specific treatment in a general allergy unit., Allergologia et Immunopathologia ,40 (5):295–300(2002).
11. Straus D. , Molds, mycotoxins, and sick building syndrome. , Toxicol. and Health, 25(9–10):617–635 (2009).
12. Denning D.; O'Driscoll B.; Hogaboam C.; Bowyer P.; Niven R. ,The link between fungi and severe asthma: a summary of the evidence., Eur. Respir. J., 27:615-626. (2006).
13. Ellis M.B. , "Dematiaceous Hyphomycetes"., Common Wealth Mycological Institute. Kew, Surrey. England , 608 pp(1971).
14. de Hoog G.S. and Guarro J., "Atlas of Clinical Fungi". ,Centraalbureau voor schimmelcultures, Netherlands, 720 pp. (1995).
15. Pitt J.I. and Hocking A.D, "Fungi and Food Spoilage". 2nd. Gaithersburg, Maryland: Chapman and Hall, 593 pp.(1997).
16. Sen B. and Asan A. , Fungal flora in indoor and outdoor air of different residential houses in Tekirdag city (Turkey) : seasonal distribution and relationship with climatic factors. ,vol., 151: 209-219(2009).
17. Yazicioglu M.; Oner N.; Celtik C.;Okutan O.;pala O, Sensitization to common allergens, especially pollens , among children with respiratory allergy in the Trakya region of Turkey. ,22 (4) : 90-183(2004).

18. Hedayati M.T. ; Mayahi S. and Denning D.W, A study on Aspergillus species in house of asthmatic patients from Sasi city-Iran and a brief review of the health effects of exposure to indoor Aspergillus. ,Environ.Monit. Assess.,168:481-487(2010).
19. Agarwal R.; Chakrabarti A.; Shah A.; Gupta D.; Meis J.F.; Guleria R.;Moss R.; Denning D.W. and For the ABPA, complicating asthma ISHAM working group, Allergic bronchopulmonary aspergillosis : review of literature and proposal of new diagnostic and classification criteria.Clinical and Experimental Allergy,43:850–873 (2013).