تحقیقی

دارای رتبه علمی-پژوهشی
ازکمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

شناسایی گونه های مالاسزیایی جدا شده از بیماران مبتلا به درماتیت سبورئیک به روش PCR-RFLP در شهر اراک

حمید رضا مهاجرانی
استادیار فیزیولوژی جانوری، دانشگاه آزاد واحد اراک، ایران
احمد ساریخانی
دانشجوی کارشناسی میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد واحد اراک، ایران
مولود گندمانی
دانشجوی کارشناسی میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد واحد اراک، ایران
زهرا اسلامی راد
استادیار انگل شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی واحد اراک، ایران
مهدی مسیبی
استادیار انگل شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی واحد اراک، ایران
مجتبی دیده دار
دانشجوی دکترای قارچ شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی واحد اراک، ایران
نویسنده مسئول: مجتبی دیده دار

پست الکترونیک: didehdar_m@Arakmu.ac.ir
تلفن : ۰۹۱۸۳۶۱۲۴۲۲
آدرس: اراک، میدان سردشت، مجتمع پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی

دریافت: ۹۲/۵/۱۷
ویرایش پایانی: ۹۳/٤/۳
پذیرش: ۹۳/٤/٤

چکیده

زمینه و هدف: *مالاسزیاها به عنوان بخشی از فلور طبیعی بدن انسان می باشند. این مخمرهای چربی دوست در ایجاد بیماری های پوستی مختلفی مثل درماتیت سبورئیک، پیتیریازیس ورسیکالر، درماتیت آتوپیک و پسوریازیس نقش دارند. درماتیت سبورئیک اکثر مواقع در بخش هایی از پوست که غنی از غدد چربی می باشد مثل پوست صورت، پوست سر و قسمت های فوقانی تنه ایجاد می شود. شوره سر، یک حالت خفیفی از درماتیت سبورئیک می باشد که از طریق پوسته ریزی مشخص می شود.در مطالعه حاضرگونه های مالاسزیا ایجاد کننده شوره سر شناسایی شد.*

روش بررسی: *در این مطالعه توصیفی، ۶۰ نمونه پوسته از افراد مبتلا به شوره سر جمع آوری شدند. نمونه ها با استفاده از محلول هیدروکسید پتاسیم ۱۰درصد در زیر میکروسکوپ بررسی و در محیط کشت لیمینگ نوتمن کشت داده شد. از کلنی های رشد نموده استخراج DNA با کمک روش glass bead انجام شده و جنس و گونه مالاسزیا با روش PCR-RFLP توسط آنزیم CfoI تشخیص داده شدند.*

یافته ها: *از ۶۰ نمونه شوره سر، ۴۰ (۶۶/۶٪) نمونه از نظر مخمر مالاسزیا مثبت شدند. تمام نمونه های مثبت در آزمایش مستقیم،در محیط کشت رشد نمودند. گونه های مالاسزیایی جدا شده شامل مالاسزیا گلوبوزا (۲۵مورد)، مالاسزیا رستریکتا (۱۰ مورد)، مالاسزیا فورفور(۳ مورد) و مالاسزیا سیمپودیالیس (۲ مورد) بودند.*

نتیجه گیری: *در اغلب مطالعات، گونه های مالاسزیا به عنوان عوامل ایجاد کننده درماتیت سبورئیک شناسایی شدند. در مطالعه ما همچنین مالاسزیا گلوبوزا به عنوان گونه غالب مالاسزیایی جدا شد.*

واژه های کلیدی: *درماتیت سبورئیک، قارچ مالاسزیا، اراک*

آدرس مقاله
مهاجرانی ح ر، ساریخانی ا، گندمانی م، اسلامی راد ز، مسیبی م، دیده دار م" شناسایی گونه های مالاسزیایی جدا شده از بیماران مبتلا به درماتیت سبورئیک به روش PCR-RFLP در شهر اراک" مجله علوم آزمایشگاهی، زمستان ۱۳۹۳، دوره هشتم (شماره ۵): ۸۴-۸۹

مقدمه

مخمر چربی دوست مالاسزیا به عنوان فلور طبیعی پوست افراد بالغ می باشد. این مخمرها می توانند باعث بیماری هایی مثل پیتیریازیس ورسیکالر، فولیکولیت مالاسزیایی، درماتیت سبورئیک، پسوریازیس و درماتیت آتوپیک شوند(۲،۱). غدد سباسه ترشح سبوم را که حاوی تری آسیل گلیسرول(تری گلیسیریدها)، استر های مومی و اسکوالن می باشد، عهده دار هستند. گونه های مالاسزیا عمدتاً از اسیدهای چرب آزاد اشباع و غیر اشباع با تعداد کربن های ۱۲-۲۴ عدد جهت رشد خود استفاده می کنند. این مخمرها قادر هستند تری اسیل گلیسرول ها را نیز مستقیماً متابولیزه کرده، اسیدهای چرب آنها را آزاد نموده و مورد استفاده قرار دهند. به همین دلیل گونه های مالاسزیا، در نواحی از بدن که غنی از غدد سباسه هستند رشد بهتری دارند(۳). عوامل زمینه ای بسیاری در بیماری زایی آنها نقش دارند. استرس، عفونت های مزمن، فقر بهداشتی، تعریق زیاد، سوء تغذیه، تجمع گلیکوژن خارج سلولی، علل ژنتیکی، استفاده از آنتی بیوتیک های وسیع الطیف، لباس های هاس تنگ و نایلونی و استفاده طولانی مدت از استروئیدها از جمله عوامل مستعد کننده ای هستند که باعث افزایش تعداد مخمر مالاسزیا در پوست و کلونیزاسیون شده و این امر منجر به بیماری زا شدن مخمر می گردد(۴). درماتیت سبورئیک ناراحتی مزمن، ملتهب و شوره دار به همراه افزایش ترشح سبوم در سر، صورت و قسمت های بالای تنه می باشد. برخی از متخصصان پوست این بیماری را حالت شدید شوره سر می دانند. عده ای از محققین معتقدند که مالاسزیاها در ایجاد بعضی از موارد درماتیت سبورئیک نقش دارند(۵،۳). در سال های اخیر جنس مالاسزیا به عنوان یک عامل مهم درماتیت سبورئیک مورد توجه قرار گرفته است(۳-۸). روش هایی روتین آزمایشگاهی مثل آزمایش مستقیم برای تشخیص مخمر مالاسزیا روش سریع و آسانی می باشد، اما آزمایش کشت برای شناسایی گونه های مالاسزیا، وقت گیر بوده و نیاز به محیط های اختصاصی و افراد با تجربه دارد و به دلیل حساس بودن این مخمر آزمایش کشت بایستی سریعاً انجام شود، در غیر این صورت از بین رفته و در محیط کشت رشد نمی کنند. بنابراین برای تعیین گونه مالاسزیا و بررسی های اپیدمیولوژیک روش PCR-RFLP می تواند یک روش سریع و آسان باشد. این بررسی با هدف شناسایی گونه های مالاسزیایی ایجاد کننده شوره سر انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی، نمونه های شوره سر از بین افرادی که علایم بالینی مشخصی از درماتیت سبورئیک داشتند، به مدت یک سال (۱۳۹۰-۱۳۹۱) جمع آوری گردید. در این بررسی افراد مبتلا به شوره سر بعد از تأیید بیماری توسط متخصص پوست و پس از اخذ رضایت جهت نمونه گیری انتخاب شدند. نمونه گیری با کمک جمع آوری شوره سر داخل یک نایلون یا روی یک روزنامه توسط خود بیمار انجام گرفت.

آزمایش مستقیم و کشت

یک قسمت از نمونه شوره سر با روش رنگ آمیزی متیلن بلو مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند. ابتدا از پوسته های جمع آوری شده برروی لام گسترش تهیه نموده و بعد از اضافه نمودن متیلن بلو، به مدت ۳۰ ثانیه صبر نموده و لام به آرامی با آب شسته می شود. بعد از خشک شدن لام در زیر میکروسکوپ از نظر وجود و عدم وجود سلول های مخمری بررسی شدند. سپس قسمت دیگری از پوسته های شوره سر در محیط کشت لیمینگ نوتمن (LNA – Leeming and Notman ager) کشت داده و به مدت ۲ هفته در انکوباتور ۳۲ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. جدایه های به دست آمده بعد از خالص سازی تا زمان آزمایشات تشخیصی در محیط گلیسرول ۳۰ درصد در فریزر ۸۰- نگهداری شدند.

DNA کروموزومی مالاسزیاهای جدا شده با کمک روش Glass-bead استخراج شد(۹). برای این کار حدود ۲۰ سلول مخمری (حدود ۵-۱۰ میلی متر مکعب) به لوله های اپندرف منتقل و ۳۰۰ میکرولیتر بافر لیز کننده (Tris 10mM,EDTA 1mM, Triton X100 2%, Nacl 100mM)، ۳۰۰ میکرولیتر مخلوط مساوی فنل-کلروفرم و حدود ۲۵۰ میکرولیتر از دانه های شیشه ای (glass-bead) به قطر ۰/۵ میلی متر به آن افزوده و پس از حدود ۵ دقیقه تکان دادن شدید، در دور ۵۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شده و مایع رویی به لوله جدید منتقل

گردید. سپس استخراج مجدد با کلروفرم انجام شد و به مایع رویی ۳۰۰ میکرولیتر الکل مطلق اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در فریزر ۲۰- درجه نگهداری و در دور ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و رسوب به دست آمده با الکل ۷۰ درجه شسته شد. به رسوب نهایی ۵۰ میکرولیتر بافر TE(EDTA1mM,Tris 10M) اضافه و در فریزر۲۰- درجه نگهداری شد. برای انجام آزمایش PCR، از یک جفت پرایمر که توسط میر هندی و همکاران طراحی شده، استفاده گردید. این پرایمرها توالی 28Sr DNA گونه های مالاسزیا را تکثیر می نمایند(۱۰). از DNA استخراج شده ۵ میکرولیتر به مخلوط PCR شامل ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR، ۰/۲۵ میکرولیتر (۰/۵ میکرومولار) از پرایمر رفت (TAACAAGGATTCCCCTAGTA)، ۰/۲۵ میکرولیتر (۰/۵میکرومولار) از پرایمر برگشت (ATTACGCCAGCATCCTAAG)، ۰/۲۵ میکرولیتر DNTP و ۰/۱۲۵ واحد آنزم Taq DNA polymerase اضافه و حجم واکنش با آب مقطر استریل به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. واکنش PCR با کمک دستگاه ترمال سیکلر مدل Eppendorf طبق برنامه زیر طی ۳۵ سیکل صورت پذیرفت:

PrimaryDenaturation: ۵ دقیقه، ۹۵°c

Denaturation: ۴۵ ثانیه، ۹۴°c

Annealing: ۱ دقیقه، ۵۵°c

Extension: ۴۵ ثانیه، ۷۲°c

Final extension: ۷دقیقه، ۷۲°c

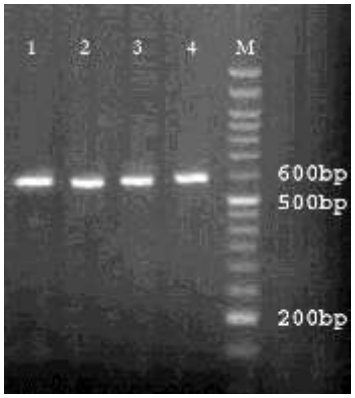
محصول های PCR توسط آنزیم *Cfo*I بریده شد، تا با استفاده از الگوهای مختلف متعلق به گونه های متفاوت مالاسزیا نوع آنها مشخص شود(۹). برای انجام این آزمایش ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR با ۰/۵ میکرولیتر آنزیم و ۱/۵ میکرولیتر بافر مخصوص آنزیم و ۳ میکرولیتر آب مقطر در میکروتیوب های ۰/۲ سی سی مخلوط و به مدت ۲ ساعت در دمای°c ۳۷ قرار داده شد. محصول های PCR روی ژل آگارز ۱ درصد و محصول های RFLP روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز شد.

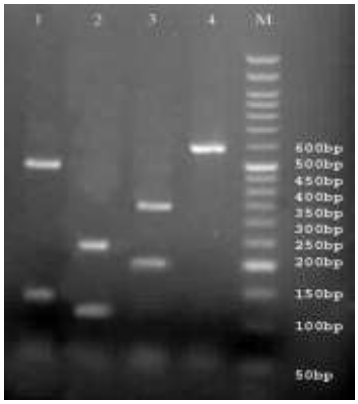
یافته ها

از ۶۰ نمونه پوسته که از افراد مبتلا به شوره سر گرفته شد، ۴۰ نمونه در آزمایش مستقیم مثبت شدند و تمام ۴۰ نمونه شوره سر در محیط کشت لیمینگ نوتمن (LNA – Leeming and Notman ager) رشد نمودند(۶۶/۶ ٪). در آزمایش PCR باند هایی حدود ۵۷۸-۵۸۴ جفت باز مشاهده شد(شکل۱). در آزمایش RFLP، ۴ گونه مالاسزیا شامل مالاسزیا *گلوبوزا* (۲۵ مورد)، مالاسزیا رستریکتا (۱۰مورد)، *مالاسزیا فورفور* (۳ مورد) و *مالاسزیا سیمپودیالیس* (۲ مورد) به عنوان عوامل مالاسزیایی ایجاد کننده شوره سر شناسایی شدند(شکل ۱).

جدول ۱-. اندازه محصول PCR مربوط به گونه های مختلف مالاسزیا قبل و بعد از برش با آنزیم *Cfo*I

Species of *Malassezia*	Size of PCR product(bp)	enzyme (bp)Regions of digested by *Cfo* I	Size of RFLP product (bp)
M. globosa	۵۸٤	٤٥٥	٤٥٥،۱۲۹
M.furfur	۵۸۲	۱۰۷،۳۵۷،٤۷۰،۵۲۹،۵۳۱،۵٦۱	۱۰۷،۲۵۰،۱۱۳،۵۹،۲،۳۰،۲۱
M.obtusa	۵۸۰	۱۰۷،۳۵۷،۳۷۸،۵۲۸،۵۳۰،۵۵۹	۱۰۷،۲۵۰،۱۸،۱۵۳،۲،۲۹،۲۱
M.sloofiae	۵۸٤	۱۰۷،۳۵۷،٤٤٤،۵۰۸	۱۰۷،۲۵۰،۸۷،٦٤،۷٦
M.restricta	۵۸۱	–	۵۸۱
M.sympodialis	۵۷۸	۳۵۷،۳۷۸	۳۵۷،۲۱،۲۰۰
M.pachydermatis	۵۸۰	۱۰۷،۳۵۷	۱۰۷،۲۵۰،۲۲۳





شکل۱- الکتروفورز محصول PCR بدست آمده از تقویت قطعه 28SrDNA مربوط به ٤ گونه مالاسزیا: ۱- مالاسزیا گلوبوزا، ۲- مالاسزیا فورفور ، ۳- مالاسزیا سیمپودیالیس و ٤- مالاسزیا رستریکتا .M-مارکر ۵۰ جفت باز. شکل۲- الکتروفورز محصول های PCR-RFLP پس از برش با آنزیم CfoI مربوط به ٤ گونه مالاسزیا:۱- مالاسزیا گلوبوزا، ۲- مالاسزیا فورفور ، ۳- مالاسزیا سیمپودیالیس و ٤- مالاسزیا رستریکتا.M- مارکر ۵۰ جفت باز

بحث

مخمر مالاسزیا در ایجاد برخی بیماری های پوستی نقش مهمی دارد، بنابراین مطالعات مختلف در زمینه اکولوژی و فیزیوپاتولوژی این مخمر ضروری به نظر می رسد(۱۱). با توجه به اینکه روش های سنتی مثل ویژگی های کلنی و خصوصیات بیوشیمیایی برای تشخیص و شناسایی قارچ مالاسزیا مناسب نمی باشند و امکان اشتباه و خطا در این روش ها وجود دارد، بنابراین در این مطالعه بر آن شدیم که جهت تشخیص قطعی قارچ مالاسزیا به عنوان عامل شوره سر از روش های ملکولی استفاده نماییم. در این مطالعه با در نظر گرفتن DNA ریبوزومی یا 28SrDNA که بین تمام گونه های مالاسزیا مشترک هستند و پرایمرهای مناسب ، موفق به تشخیص مالاسزیا در نمونه کلنی جدا شده از شوره سر شدیم. در سال های اخیر مطالعات متعددی در مورد شناسایی گونه های مالاسزیایی ایجاد کننده درماتیت سبورئیک انجام شده است. در مطالعه حاضر گونه های مالاسزیایی جدا شده از افراد مبتلا به شوره سر توسط روش PCR-RFLP شامل *مالاسزیا گلوبوزا* (۲۵ مورد)، *مالاسزیا رستریکتا* (۱۰ مورد)، *مالاسزیا فورفور* (۳ مورد) و *مالاسزیا سیمپودیالیس* (۲ مورد) بودند. مطالعه ای مشابه توسط شکوهی و همکاران برروی بیماران مبتلا به درماتیت سبورئیک با کمک روش های ملکولی در ایران انجام شده است. در آن مطالعه تمام اشکال مختلف درماتیت سبورئیک مورد بررسی قرار گرفتند و از ۴۱ بیمار مبتلا به درماتیت سبورئیک ۳۳ بیمار از نظر مالاسزیا مثبت بودند(۸۰/۴۸ ٪) و گونه های غالب مالاسزیایی، *مالاسزیا فوفور* و *گلوبوزا* بودند(۱۲)، اما در این مطالعه *مالاسزیا گلوبوزا* عامل شایع بوده و *مالاسزیا فورفور* از شیوع کمتری برخوردار بود. در مطالعه Gaitanis و همکاران در یونان که بر روی بیماران مبتلا به درماتیت سبورئیک با روش PCR-SSCP انجام شده است، مشابه مطالعه ما شایع ترین گونه جدا شده *مالاسزیا گلوبوزا* بوده است.اما در مطالعه ای که در ژاپن بر روی بیماران مبتلا به درماتیت سبورئیک انجام شده است، *مالاسزیا فورفور* به عنوان گونه شایع جدا شد که با نتایج ما همخوانی ندارد(۱۳،۱۴). مطالعات مختلفی در زمینه شناسایی گونه های مالاسزیایی جدا شده از بیماران مبتلا به پی تی ریازیس ورسیکالر در ایران و کشورهای مختلف با کمک روش PCR-RFLP انجام شده است که در اکثر این مطالعات، *مالاسزیا گلوبوزا* به عنوان گونه شایع جدا شده است(۱۵-۱۹).

نتیجه گیری

قارچ مالاسزیا را در ایجاد شوره سر به عنوان یکی از علایم بالینی درماتیت سبورئیک نقش مهمی دارد. غالب بودن *مالاسزیا گلوبوزا* در این مطالعه و مطالعات دیگر نشان دهنده ویژگی های بیماری زایی این گونه می باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری کارکنان محترم آزمایشگاه تشخیص طبی دکتر قلعه نویی و همچنین از زحمات جناب آقای رضا حاجی حسین کارشناس ارشد انگل شناسی که امکان انجام طرح را فراهم نمودند، کمال تشکر و قدردانی را می نماییم.

References

1. Janik MP, Heffernan MP. *Yeast infections: candidiasis, pityriasis versicolor. In: Fitzpatrick'sdermatology in general medicine*. 7thed. New York:McGraw-Hill. 2008:1822-1830.

2. Midgley G, Gueho E, Guillot J. Disease by Malassezia species. In: Topley and Wilson's Microbiology and microbial infections.Vol. 4. London. United Kingdom, Arnold. 1998; 210-211.

3. Zaini F, Mehbob ASA, Emamai M. *Comprehensive medical mycology*. Tehran University publication. 2003; 81-82.

4. Midgley G. *The lipophilic yeasts state of the art and prospects*. Med Mycol. 2000; 38(Suppl 1):9-16.

5. Sei Y, Hamaguchi T, NinomiyaJ, Nakabayashi A, Takiuchi I. *Seborrhoeic dermatitis: treatment with anti-mycoticagent*. L Dermatol. 1994; 21(5):334-340.

6. Bergbrant IM. *Seborrhoeic dermatitis and Pityrosporumovale. Cultural, immunological and clinical studies.*ActaDermVenereolSuppl (Stockh). 1991;167: 1-36.

7. Dessinioti C, Katsambas A. *Seborrheic dermatitis: etiology, risk factors, and treatments: facts and controversies.*Clin Dermatol. 2013; 31(4): 343-51.

8. Faergemann J. *Seborrhoeic dermatitis and Pityrosporum orbiculare: treatment of seborrhoeic dermatitis of the scalp with Miconazole-Hydrocortisone (Daktacort),Miconazole and hydrocortisone.* Br J Dermatol. 1986; 114(6): 695-700.

9. Yamada, Y, Makimura, K, Mirhendi, H, Ueda, K, Nishiyama, Y, Yamaguchi H, et al. *Comparison of different methods for extraction of mitochondrial DNA from human pathogenic yeasts*. Jpn J Infect Dis. 2002; 55(4): 122-125.

10. Mirhendi H, Makimura K, Zomorodian K, Yamada T, Sugita T, Yamaguchi H. *Asimple PCR-RFLP method for identification and differentiation of 11 Malassezia species.* JMicrobiolo Methods. 2005; 61(2): 281-284.

11. Midgley G, Gueho E, Guillot J. *Disease caused by Malassezia species.In:microbiology and microbial infection.* London, Arnold press. 1998; 201-211.

12. Shokohi T, Hajhaedari Z, Bazregar A, HashemiSoteh M, Hedayati MT, Afshar P. *Identification of Malassezia species, isolated from patients with pityriasis versicolor by PCR-RFLP method*. J MazandaranUniv Med Sci. 2008; 18(66): 51-62.

13. Gaitanis G, Velegraki A, Alexopoulos EC, Chasapi V, Tsigonia A, Katsambas A. *Distribution of Malassezia species in pityriasis versivolor and seborrheic dermatitis in Greece.* Typing of the major pityriasis versicolor isolate M. globosa. Br J Dernatol. 2006; 154(5): 854-859.

14. Nakabayashi A, Sei Y, Guillot J.*Identification of Malassezia species isolated from patients with seborrhoeic dermatitis,atopic dermatitis, pityriasis versicolor and normal subjects*. Med Mycol. 2000; 38(5):337-341.

15. Didehdar M, Mehbod ASA, Eslamirad Z, Mosayebi M, HajihosseinR, Ghorbanzade B, Khazaei MR. *Identification of Malasseziaspecies isolated from patients with pityriasisversicolor using PCR-RFLP method in Markazi Province, center Iran*. Iranian J Publ Health. 2014; 43(5): 682-686.

16. Mirhendi H, Makimura K, Zomorodian K, Yamada T, Sugita T, Yamaguchi H.*A Simple PCR-RFLP method for identification and differentiation of 11 Malassezia species.*Microbiol Meth. 2005; 61(2): 281-284.

17. Gupta AK, Kohli Y, Summerbell RC. *Molecular differentiation of seven Malassezia species*. J Clin Microbiol. 2000; 38(5): 1869-1875.

18. Gaitanis G, Velegraki A, Frangoulis E, Mitroussia A, TsigoniaA, Tzimogianni A, et al. *Identification of Malassezia species from patient skin scales by PCR-RFLP.*Clin Microboil Infect. 2002; 8(3): 162-173.

19. Makimura K, Tamura Y, Kudo M, Uchida K, Saito H, Yamaguchi H. *Species identification and strain typing of Malassezia species stock strains and clinical isolates based on the DNA sequences of nuclear ribosomal internal transcribed spacer 1 regions.* J Med Microbiol. 2000; 49(1): 29-35.

Identification of Malassezia Species Isolated from Patients with Seborrheic Dermatitis Using PCR-RFLP Method in Arak, Iran

Identification of Malassezia Species Isolated from Patients with Seborrheic Dermatitis Using PCR-RFLP Method in Arak, Iran

Mohajerani, HR. (PhD)
Assistant Professor of Animal Physiology, Islamic Azad University, Arak Branch, Iran

Sarikhani, A.
BSc Student of Microbiology, Islamic Azad University, Arak Branch, Iran

Gandomani, M.
BSc Student of Microbiology, Islamic Azad University, Arak Branch, Iran

Eslamirad, Z. (PhD)
Assistant Professor of Medical Parasitology, Islamic Azad University, Arak Branch, Iran

Mosayebi, M. (PhD)
Assistant Professor of Medical Parasitology, Islamic Azad University, Arak Branch, Iran

Didehdar, M. (MSc)
PhD student of Medical Mycology, Arak University of Medical Science, Arak, Iran

Corresponding Author: Didehdar, M

Email: didehdar_m@Arakmu.ac.ir

Received: 8 Aug 2013
Revised: 24 Jun 2014
Accepted: 25 Jun 2014

Abstract

Background and Objective: *Malassezia* that is a part of normal flora is lipophilic yeast involved in a variety of skin diseases such as seborrheic dermatitis, pityriasis versicolor, atopic dermatitis and psoriasis. Seborrheic dermatitis affects most often the sebaceous-gland-rich areas of skin such as face, scalp, and parts of the upper trunk. Dandruff is a mild variant of seborrheic dermatitis characterized by scaling. In this study, *Malassezia* species causing dandruff were identified.

Material and Methods: In this descriptive study, the samples (n= 60) from participants with dandruff were examined under a microscope using 10% KOH solution and cultured in Leeming and Notman ager medium. DNA Extraction was performed from colonies by glass bead and the *Malassezia* genus, and species were detected by *Cfo*I enzyme using PCR-RFLP method

Results: Of 60, 40 (66.6%) were positive for *Malassezia* yeast. The positive samples in direct examination grew in culture medium. *Malassezia* species isolated were Malassezia *globosa* (25 cases), *Malassezia restricta* (10 cases), *Malassezia furfur* (3 cases) and *Malassezia sympodialis* (2 cases).

Conclusions: In most studies, the *Malassezia* species were identified as the agents causing seborrheic dermatitis. In our study, Malassezia *globosa* was isolated as a dominant *species*.

Keywords: Seborrheic Dermatitis, *Malassezia* SPP, Arak

This paper should be cited as: Mohajerani HR, Sarikhani A, Gandomani M, Eslamirad Z, Mosayebi M, Didehdar M. [Identification of Malassezia Species Isolated from Patients with Seborrheic Dermatitis Using PCR-RFLP Method in Arak, Iran]. mljgoums. 2015; 8(5):84-89 [Article in Persian]