

Sastojci kozmetičkih pripravaka koji utječu na rast i razvoj gljiva *Malassezia*

Babić Vrbanović, Gorana

Professional thesis / Završni specijalistički

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:100957>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-06**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Gorana Babić Vrbanović

**SASTOJCI KOZMETIČKIH PRIPRAVAKA KOJI UTJEČU NA
RAST I RAZVOJ GLJIVA RODA *MALASSEZIA***

Specijalistički rad

Zagreb, 2019.

PSS studij: Poslijediplomski specijalistički studij Klinička farmacija

Mentor: Prof. dr. sc. Jelena Filipović-Grčić, mag. pharm.

Specijalistički rad obranjen je dana 05. prosinca 2019. godine na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu, Domagojeva 2, pred povjerenstvom u sastavu:

1. Prof. dr. sc. Ivan Pepić

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet

2. Prof. dr. sc. Jelena Filipović Grčić

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet

3. Prof. dr. sc. Jasmina Vraneš

Sveučilište u Zagrebu
Medicinski fakultet

Rad ima 67 listova.

PREDGOVOR

Ovaj specijalistički rad prijavljen je na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu i izrađen na Zavoda za farmaceutsku tehnologiju pod stručnim vodstvom prof.dr.sc. Jelene Filipović-Grčić.

Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Jeleni Filipović-Grčić, na motivaciji i pomoći koju mi je pružila tijekom pisanja specijalističkog rada.

Zahvaljujem svojoj obitelji bez čije podrške ne bi mogla dovršiti ovaj rad.

SAŽETAK

UVOD: Gljive roda *Malassezia* sastavni su dio kožnog mikrobioma. Kao primarni izvor hrane iskorištavaju lipide pa nastanjuju lojem bogata područja kože. U prikladnim uvjetima (tropska klima, pojačani rad lojnih žlijezda, narušen imunitet, upotreba antibiotika, steroida i imunosupresiva) mogu biti uzročnici više bolesti kože (pityriasis versicolor, dermatitis seborrhoica, malassezia folliculitis), a dokazana je i njihova uloga u patogenezi težih upalnih bolesti kože tipa atopijskog dermatitisa i psorijaze. Terapija dermatozama vezanih uz *Malassezia spp.* temelji se na lokalnoj i/ili sistemske primjeni antimikotika i lokalnoj primjeni antiseptika. Iako se ne radi o ozbiljnim kožnim bolestima prisutno je nezadovoljstvo pacijenta zbog narušenog izgleda kože i čestih recidiva. Komercijalno dostupni kozmetički pripravci obiluju sastojcima za koje je *in vitro* dokazano da potiču rast gljiva ovog roda pa time mogu pogoršati status kože.

CILJ ISTRAŽIVANJA: Na temelju objavljenih znanstvenih studija i stručnih radova izdvojiti, opisati i sistematizirati sastojke kozmetičkih pripravaka koji imaju pozitivan i negativan utjecaj na rast *Malassezia spp.* Istraživanje bi moglo pridonijeti razvoju smjernica za profilaksu recidivirajućih dermatozama uzrokovanih gljivama roda *Malassezia*.

MATERIJAL I METODE: Za analizu je pretražena literatura prema ključnim riječima (*Malassezia*, nutritivne potrebe, kozmetički sastojci) temi istraživanja, predmetu istraživanja, autorima i časopisu. Pretraženo je od općih prema specijaliziranim člancima pri čemu su odabirani članci relevantni za problematiku ovoga specijalističkog rada. Relevantni članci proučavani su na analitički i kritički način s obzirom na definiranje znanstvenog i/ili stručnog problema, istraživanje postojećih znanja o definiranom problemu (literaturni navodi), oblikovanje radne hipoteze, odabir metoda za ispitivanje hipoteze, prikaz i analizu rezultata te izvedene zaključke. Pri proučavanju relevantnih članaka

izdvojeni su najvažniji rezultati, rasprave i zaključci prikazani ovim specijalističkim radom. Na temelju proučavanih članaka izvedena su vlastita razmatranja koja su sastavni dio rasprave ovog specijalističkog rada.

REZULTATI: S obzirom na sve veći broj kozmetičkih pripravaka na tržištu i sve veću raznolikost njihovih sastavnica rezultati istraživanja predstavljaju doprinos u području ljekarničke skrbi i kozmetovigilancije.

ZAKLJUČAK: *Malassezia spp.* se primarno hrane masnim kiselinama dužine lanca 12-24 atoma ugljika. Većina kozmetičkih pripravaka takve masne kiseline sadrži bilo slobodne ili u formi estera. Kod pojedinaca čija je koža podložna malasezija dermatozama to može dovesti do pogoršanja ili češćih recidiva bolesti. Potrebna su ciljana istraživanja o utjecaju sastojaka kozmetičkih pripravaka na rast *Malassezia spp.* kako bi se formirali pripravci pogodni za tretiranje kože oboljelih. Gljive roda *Malassezia* sastavni su dio kožnog mikrobioma pa cilj liječenja ne mora biti njihova eradikacija već kontrola populacije i očuvanje homeostaze.

SUMMARY

INTRODUCTION: *Malassezia* species are a part of the normal skin microbiota. They are lipid dependent yeast and utilize lipids from their environment so they inhabit sebaceous areas of the skin. In the presence of certain predisposing factors (tropical climate, increased secretion of sebaceous glands, impaired immunity, use of antibiotics, steroids and immunosuppressants) they cause skin diseases (pityriasis versicolor, seborrheic dermatitis and malassezia folliculitis), and have shown to play a role in the pathogenesis of severe inflammatory skin diseases sa atopic dermatitis and psoriasis. The treatment of *Malassezia spp. related* dermatoses is based on local and/or systemic administration of antifungal drugs and the local administration of antiseptics. Although these diseases are not considered to be hazardous, patients feel discontent due to impaired appearance of their skin and frequent relapses. Commercially available cosmetic products used to "better" the appearance of the skin contain ingredients for which *in vitro* testing prove they stimulate *Malassezia spp.* growth, and thus lead to exacerbation and relapse of disease.

OBJECTIVES: The aim of this specialist paper is to based on published scientific studies, described and systematized ingredients of cosmetic preparations which have positive and negative effect on the growth of *Malassezia spp.* This study could contribute to the development of guidelines for prophylaxis of recurrent dermatoses caused by *Malassezia spp.*

MATERIAL AND METHODS: For this specialist paper, literature was searched by topic of research, subject of research, authors and journal. It was searched from general to specialized articles, with selected articles relevant to the issues of this specialist paper. Relevant articles have been studied in an analytical and critical manner with respect to defining a scientific and / or professional problem, exploring existing knowledge about a

defined problem (references), formulating a working hypothesis, selecting methods to test a hypothesis, presenting and analyzing results, and drawing conclusions. Studying relevant articles, the most important results, discussions, and conclusions have been identified and that will be presented in this specialist paper. Based on the studied articles, own conclusion are made by studying the issues issues which are an integral part of the discussion of this specialist paper.

RESULTS: Given the increasing number of cosmetic products on the market and the increasing diversity of their components, these results represent a contribution in the field of pharmacy care and cosmetic vigilance.

CONCLUSION: *Malassezia spp.* yeast feed on fatty acids with carbon chain lengths of 12-24 atoms have been found to promote the growth of cultures. Most cosmetic preparations contain such fatty acids either in free or ester form. In individuals susceptible to *Malassezia* dermatoses, this can lead to worsening or frequent relapses. Aimed *n vivo* research is needed to investigate effects of cosmetic ingredients on *Malassezia spp.* growth to form preparations suitable for treating skin affected by *Malassezia* dermatoses. *Malassezia* yeasts are an integral part of the skin microbiome, so the aim of treatment is not their eradication but control of populations and maintenance of homeostasis.

SADRŽAJ

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA.....	1
2. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	2
3. MATERIJALI I METODE - SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI.....	3
3.1. Gljive roda <i>Malassezia</i>	3
3.1.1. Identifikacija i izolacija.....	6
3.1.2. Epidemiologija.....	9
3.1.3. Patogeneza.....	9
3.2. Najčešće dermatoze povezane s <i>Malassezia spp.</i>	11
3.2.1. Pityriasis versicolor.....	12
3.2.2. <i>Malassezia</i> folliculitis.....	15
3.2.3. Seboroični dermatitis.....	16
3.2.4. Pityriasis capitis.....	18
3.2.5. Infantilni seboroični dermatitis.....	19
3.2.6. Atopijski dermatitis.....	19
3.2.7. Psorijaza.....	20
3.3. Nutritivne potrebe <i>Malassezia spp.</i>	21
3.3.1. Metabolizam lipida.....	21
3.3.2. Opći metabolizam.....	22
3.4. Sastojci kozmetičkih pripravaka koji utječu na rast gljiva roda <i>Malassezia</i>	22
3.4.1. Lipidi.....	22
3.4.1.1. Masne kiseline.....	23
3.4.1.2. Ceramidi.....	25

3.4.1.3. Kolesterol.....	26
3.4.1.4. Skvelan i skvalan.....	27
3.4.2. Tenzidi.....	28
3.4.2.1. Esteri masnih kiselina.....	28
3.4.2.2. Emulgatori i detergensi.....	29
3.4.3. Aminokiseline.....	32
3.4.4. Propilenglikol.....	33
3.4.5. Konzervansi.....	33
3.4.6. Keratolitici.....	34
3.4.6.1. Urea.....	34
3.4.6.2. Salicilna kiselina.....	35
3.4.6.3. Sumpor.....	35
3.4.6.4. Cink piriton i selen sulfid.....	36
3.4.7. Biljni ekstrakti i eterična ulja.....	36
3.5. Utjecaj pH.....	40
4. RASPRAVA	41
5. ZAKLJUČAK.....	44
6. LITERATURA	45
7. ŽIVOTOPIS.....	57

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

Gljive roda *Malassezia* dio su normalnog kožnog mikrobioma ljudi. Nastanjuju seboroična područja kože jer zbog manjka gena za sintezu masnih kiselina trebaju egzogeni izvor lipida. Kod većine ljudi ne uzrokuju nikakve smetnje, međutim kao oportunističke gljive u prikladnim uvjetima mogu biti uzročnici ili posrednici mnogih kroničnih i recidivirajućih dermatozama koje uključuju pityriasis versicolor, seboroični dermatitis, prhut i malassezia folliculitis. Nedavno je dokazana njihova uloga u patogenezi atopijskog dermatitisa i psorijaze.

Poznate su već dulje od 170 godina, ali zbog specifične izolacije i identifikacije istraživanja su pogotovo u prošlom stoljeću popraćena kontraverzama. Zbunjujuća taksonomija koja se godinama usklađivala samo je dodatno otežala konzistentnost rezultata istraživanja.

Dermatoze uzrokovane gljivama roda *Malassezia* su neopasne i nezarazne ali estetski neprivlačne pa narušavaju kvalitetu života oboljelih pojedinaca. Kozmetički pripravci sadrže sastojke koje *Malassezia spp.* mogu iskorištavati kao izvor hrane i time pogoršavati simptome bolesti. Većina oboljenja se jednostavno liječi antimikoticima, međutim upravo zbog recidivirajuće prirode bolesti istraživači ističu da su *Malassezia spp.* integralni dio kožnog mikrobioma pa bi stoga terapijski cilj trebao biti kontrola populacije umjesto njihovo uništavanje.

Iako do sada nisu učinjena znanstvena istraživanja o utjecaju kozmetičkih pripravaka na rast *Malassezia spp.*, iz mnoštva rasprava i iskustava ljudi kod kojih ove gljive izazivaju dugotrajne dermatoze, može se zaključiti da se izbacivanjem određenih sastojaka iz kozmetičkih pripravaka može postići značajno smanjenje simptoma i recidiva. Stoga su potrebna ciljana istraživanja koja bi potvrdila ove teze.

Pregledom radova koja istražuju efikasnost hranjivih podloga za uzgoj kultura i radova o antimikotskom djelovanju mogu se izdvojiti pojedini sastojci koji mogu biti uzrok pogoršanja i poboljšanja simptoma.

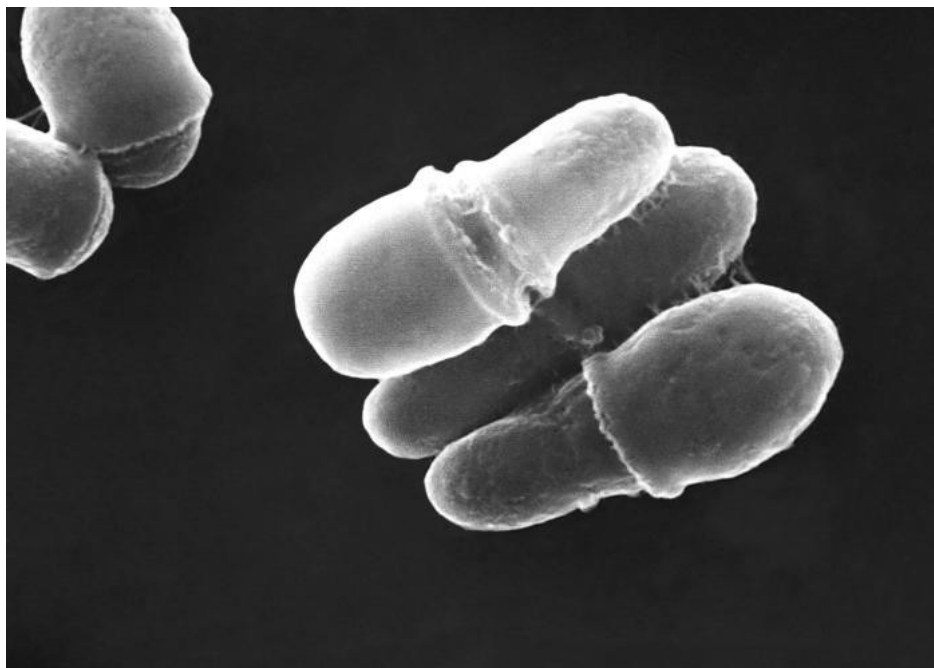
2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj rada je opisati gljive roda *Malassezia*, bolesti vezane uz njih te izdvojiti i sistematizirati sastojke kozmetičkih pripravaka koji imaju utjecaj na *in vitro* rast. U svrhu poboljšanja kozmetovigilancije potrebno je znati da se gljive roda *Malassezia* ne hrane isključivo lipidima iz sebuma već svim lipidima prisutnim na koži. Analizom dostupne literature omogućit će se cjelovitiji uvid u sastojke kozmetičkih pripravaka koji imaju utjecaj na rast *Malassezia spp.*

3. MATERIJALI I METODE - SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI

3.1. Gljive roda *Malassezia*

Rod *Malassezia* čini grupa lipofilnih gljiva koje su dio normalne mikroflore kože ljudi i životinja. Međutim, u povoljnim uvjetima mogu biti uzročnici i posrednici mnogih kožnih bolesti i oportunističkih sistemskih infekcija [1]. Rod *Malassezia* ubraja se u koljeno *Basidiomycota*, potkoljeno *Ustilaginomycotina*, razred *Malasseziomycetes*, red *Malasseziales*, porodicu *Malasseziaceae* [2]. Karakteristične značajka roda su specifična morfologija i afinitet prema lipidima. Kao iznimka ističe se *M. pachydermatis*, koja nije fiziološki ovisna o lipidima dok sve ostale gljive ovog roda pokazuju apsolutni zahtjev za lipidima prilikom uzgoja u kulturama. Oblikom, stanice variraju od sferičnih, ovalnih do cilindričnih [1,3]. Gljive su dimorfne, pojavljuju se u obliku saprofitskog kvasaca i parazitskog micelija. Primaran oblik izoliran iz kultura i normalne mikroflore čovjeka je kvasac. Forma micelija karakteristična je za patološka stanja, gotovo isključivo pityriasis versicolor [1].



Slika 1. Izgled *Malassezia* spp. pod elektronskim mikroskopom.

Malassezia spp. imaju gustu, višeslojnu staničnu stijenku s pupom koji nastaje sukcesivno iz jednog mjesta na matičnoj stanici. Prominentni pup matičnoj stanici daje karakterističan oblik boce što olakšava prepoznavanje. (Slika 1.) Razmnožavanje je aseksualno, putem procesa pupanja [3]. Povijesno gledano, sistematizacija i nazivlje gljiva ovog roda prošlo je mnoge preinake, vrlo vjerojatno zbog otežane izolacije i identifikacije. Eichstedt je 1846. godine prvi opisao pityriasis versicolor kao klinički entitet, a Robin 1853. godine prvi uspješno izolirao gljive iz lezija pityriasis versicolor i nazvao ih *Microsporum furfur* zbog gotovo identične građe sa dermatofitom *Microsporum audouinii*. Povodom toga bolest je preimenovao u tinea versicolor. Ballou, 1889. godine *Microsporum furfur* sistematizira pod novi rod *Malassezia* i mijenja ime u *Malassezia furfur*. U međuvremenu Rivolta ih je 1873. godine uvrstio u rod *Cryptococcus*. Sljedeće godine Malassez opisuje sferične i ovalne spore iz lezija prhuti s čovjeka. Ove spore Bizzozero 1884. naziva *Saccharomyces ovalis* i *Saccharomyces sphaericus*. 1904. Sabouraud gljive pronađene u lezijama pityriasis versicolor sistematizira pod rod *Pityrosporum* unatoč sličnostima s onima iz pityriasis capitis čime se i službeno razdvaja *Malassezia furfur* od *Pityrosporum mallezei* [1,4].

Dugi niz godina postojala su dva sistema podjele. Gljive koje su u fazi kvasca bile su poznate pod nazivom *Pityrosporum* i uključivale su samo 3 vrste *P. orbiculare*, *P. ovale* i *P. Pachydermatis*. Gljive koje su tvorile micelij nazivalo se *Malassezia* i uključivale su *M. furfur* i *M. pachydermatis* [5].

Rod je 1995. godine preimenovan u *Malassezia* i u njega je na temelju molekularne analize uvršteno tada sedam poznatih gljiva (*M. furfur*, *M. obtusa*, *M. globosa*, *M. slooffiae*, *M. sympodialis*, *M. pachydermatis* i *M. restricta*) [1].

Danas je poznato ukupno sedamnaest vrsta izoliranih sa čovjeka i životinja. Sve vrste su lipofilne, ali je 16 njih ovisno o lipidima kao hrani dok je jedna neovisna (*M. pachydermatis*) [3].

Tablica 1. *Malassezia spp.* izolirane sa čovjeka i životinja kao sastavni dio zdrave mikroflore i kao oportunističke gljive koje pod utjecajem predisponirajućih faktora mogu uzrokovati brojne dermatološke i sistemske infekcije.

<i>Malassezia spp.</i>	Prvi opis	Izolirano sa čovjeka	Izolirano sa životinja
<i>M. furfur</i>	Baillon 1889.	Zdrava koža Oboljela koža: uglavnom pityriasis versicolor i sistemske infekcije	Zdrava koža
<i>M. pachydermatis</i>	(Weidman) Dodge 1925.	Sistemske infekcije	Zdrava koža: uglavnom psi i mačke Oboljela koža: seboroični dermatitis i otitis u pasa
<i>M. sympodialis</i>	Simmons & Guého 1990.	Zdrava koža Oboljela koža: atopijski dermatitis Sistemske infekcije	Zdrava koža Oboljela koža: otitis u mačaka
<i>M. slooffiae</i>	Guillot, Midgley & Guého 1996.	Zdrava koža: vanjski ušni kanal Oboljela koža: pityriasis versicolor	Zdrava koža: svinje Oboljela koža: dermatitis u koza
<i>M. globosa</i>	Guillot, Midgley & Guého 1996.	Zdrava koža Oboljela koža: uglavnom pityriasis versicolor, seboroični dermatitis	Zdrava koža Kožne lezije: otitis u mačaka
<i>M. obtusa</i>	Guillot, Midgley & Guého 1996.	Zdrava koža Oboljela koža: uglavnom pityriasis versicolor	
<i>M. restricta</i>	Guillot, Midgley & Guého 1996.	Zdrava koža Oboljela koža: uglavnom seboroični dermatitis i psorijaza vlasišta	
<i>M. dermatis</i>	Sugita, Takashima, Nishikawa & Shinoda 2002.	Zdrava koža Oboljela koža: atopijski dermatitis	
<i>M. japonica</i>	Sugita, Takashima, Kodama, Tsuboi & Nishikawa 2003.	Zdrava koža Oboljela koža: atopijski dermatitis	
<i>M. yamatoensis</i>	Sugita, Takashima, Tajima, Tsuboi & Nishikawa 2004.	Zdrava koža Oboljela koža: seboroični dermatitis	
<i>M. arunalokei</i>	Honnavar, Prasad, Ghosh, Dogra, Handa, Rudramurthy, 2016	Zdrava koža Oboljela koža: seboroični dermatitis	

<i>M. nana</i>	Hirai, Kano, Makimura, Yamaguchi & Hasegawa 2004.		Oboljela koža: mačke i krave
<i>M. caprae</i>	Cabanes & Boekhout 2007.		Zdrava koža: koze
<i>M. equina</i>	Cabanes & Boekhout 2007.		Zdrava koža: konji
<i>M. cuniculi</i>	Cabanes, Vega & Castella 2011.		Zdrava koža: zečevi
<i>M. brasiliensis</i>	Cabanes, Coutinho, Puig, Bragulat, Castella, 2016		Ptice
<i>M. psittaci</i>	Cabanes, Coutinho, Puig, Bragulat, Castella, 2016		Ptice

3.1.1. Identifikacija i izolacija

Trebalo je dugo vremena da se shvati metabolička ovisnost *Malassezia spp.* o lipidima pa prema tome i kako ih uzgojiti i održavati *in vitro* [3]. Tradicionalno, *Malassezia spp.* se identificiraju uzgojem u kulturama na temelju morfoloških i biokemijskih značajki kao što je iskorištavanje Tweena 20, 40, 60, 80, kremofor EL-a (ricinusovo ulje), aktivnosti enzima (ureaza, katalaza i β -glukozidaza) i analizi rasta pri različitim temperaturama (37°C i 40°C) (tablica 2.) [6].

Za uzgoj *Malassezia spp.* u kulturama, koristi se nekoliko vrsta hranjivih podloga:

- Sabouraud agar (SA) uz dodatak maslinovog ulja
- Dixon agar (DA)
- modificirani Dixon agar (mDA) (uz dodatak žuči vola)
- Leeming i Notman agar

Tablica 2. Fiziološke karakteristike *Malassezia* spp. [62,63,64]

Vrsta	Iskorištavanje Tweena				Cremophor EL	Aktivnost β-glukozidaze	Reakcija katalaze	Rast u mDA	Rast u SA	Rast pri temp	
	20	40	60	80						37° C	40°C
<i>M. furfur</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
<i>M. sympodialis</i>	- s	+	+	+	- (s)	+	+	+	-	+	+
<i>M. globosa</i>	-b	-	-	-	-	-	+	+	-	-(s)	-
<i>M. restricta</i>	-	- c	- c	-	-	-	-	+	-	v	-
<i>M. obtusa</i>	-	- c	- c	-	-	+	+	+	-	+	-
<i>M. slooffiae</i>	+	+	+	s	-	-	+	+	-	+	+
<i>M. dermatis</i>	+	+	+	+ (s)	-	-	-	+	-	+	-
<i>M. japonica</i>	-b	-b	+	+	s	+	+	+	-	+	-
<i>M. nana</i>	- b	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
<i>M. yamatoensis</i>	+	+	+	+	- (s)	-	+	+	-	+	+
<i>M. equina</i>	sb	+	+	+	-	-	+	+	-	s	-
<i>M. caprae</i>	- b(+)	+a	+ b	+b(-)	-	(+),-	+	+	-	-(s)	-
<i>M. cuniculi</i>	-	-	-	-	- (s)	-	+	+	-	+	+
<i>M. pachydermatis</i>	+a	+a	+	+	+b	(+), -	(+), s, (-)	+	+	+	+
<i>M. arunalokeisp</i>	-b	-b	-b	v	(-)b	-	-	+	NO	+	-
<i>M. brasiliensissp</i>	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
<i>M. psittacisp</i>	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-

SA: Sabouraud agar, mDA: modificirani Dixon Agar, NO: nije opisano.

Opis rasta: +: pozitivan; -: negativan; v: varijabilan; s: slab; (): rijetke devijacije

a Rast može biti inhibiran blizu smještaja supstrata

b Rast se može zabilježiti na udaljenosti od smještaja supstrata

c Može doći do neprozirne zone.

Konvencionalne metode nažalost nisu prilagođene svim vrstama malasezija i imaju veliku stopu pogreške zbog nemogućnosti diferenciranja između usko povezanih vrsta. Primjera radi, *M. globosa*, *M. obtusa* i *M. restricta* su vrlo ovisne o lipidima, dok nekoliko izolata primarnih kultura *M. pachydermatis* ne raste na Sabouraud glukoza agaru koji nije suplementiran lipidima (*M. pachydermatis* je inače jedina vrsta koja raste na čistom Sabouraud glukoza agaru). U kliničkoj praksi, Sabouraud agar nadopunjen maslinovim uljem nije preporučljivo koristiti jer na njemu dobro rastu samo *M. furfur*, *M. pachydermatis* i *M. yamatoensis*. Od nabrojanih podloga najboljima su se pokazali modificirani Dixon agar i Leeming i Notman agar [6].

U rutinskim kliničkim laboratorijima, dijagnosticiranje se vjerojatno zbog nedovoljnog poznavanja gljiva vrši u standardnim nelipidnim medijima, kao što je Sabouraud glukoza agar (SGA), koji ne podržava rast većine *Malassezia spp.* [8]. Brza i točna identifikacija *Malassezia spp.* iz kliničkih uzoraka je važna za postavljanje ispravne dijagnoze i liječenje.

Nemogućnost identifikacije vrste znatno ograničava i epidemiološka saznanja o poremećajima i infekcijama povezanim s *Malassezia spp.* U novije vrijeme na ovom području učinjena su značajnija poboljšanja koja omogućuju precizniju dijagnostiku pa su tako za identifikaciju raspoloživi sljedeći molekularni alati [7].

- fingerprint metoda
- konvencionalni PCR alati koji koriste odabrane genetske markere (Conventional PCR tools employing selected genetic markers)
- real-time PCR koristeći markere rDNK
- sekvencioniranje genoma

Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) je novija i vrlo osjetljiva metoda izolacije *Malassezia spp.* [63,66]. Prednost ove metode su mali troškovi reagensa i kratko vrijeme obrade. Nažalost, spektri većine vrsta još nisu uključeni u dostupne komercijalne baze podataka. Broj raspoloživih sekvenci genoma se povećava i nudi vrijedan resurs za razvoj ciljane dijagnostike bazirane na analizi DNK. Kada sekvencioniranje

genoma postane pristupačnije, usporedba potpunih genoma za identifikaciju i epidemiologiju biti će jednostavnije što će olakšati daljnja istraživanja [9].

3.1.2. Epidemiologija

Gljive roda *Malassezia* prisutne su na gotovo svim dijelovima ljudske kože. Predstavljaju 50-80% ukupnog kožnog mikrobioma [9]. Distribucija na tijelu ovisi o aktivnosti lojnih žlijezda. Najviše koloniziraju seboroična područja lica, tjemena i gornjeg dijela trupa, zahvaćena su i područja folikula kose i vanjskog ušnog kanala dok je kolonizacija na udovima, a pogotovo na stopalima nešto slabija. Istraživanjima je utvrđeno da je kolonizacija izraženija kod muškaraca nego kod žena [1,9].

Kolonizacija malasezijama započinje odmah nakon rođenja. Vršna dob za fiziološku kolonizaciju i pojavu bolesti su rane dvadesete kada je aktivnost lojnih žlijezda najjača. U dječjoj i staračkoj dobi kolonizacija i bolesti su rjeđe. Gustoća kolonizacije ovisi i o zemljopisnom području. Za rast su posebno prikladna topla i vlažna, tropska i suptropska klimatska područja [1]. Udio vrsta izoliranih sa kože značajno varira između različitih zdravstvenih stanja i zdrave kože [10].

3.1.3. Patogeneza

Kožu ljudi kao i životinja nastanjuje bezbroj mikroorganizama. Osim bakterija, gljive su u velikoj mjeri dio mikroflore kože a među njima najzastupljenije su upravo malasezije.

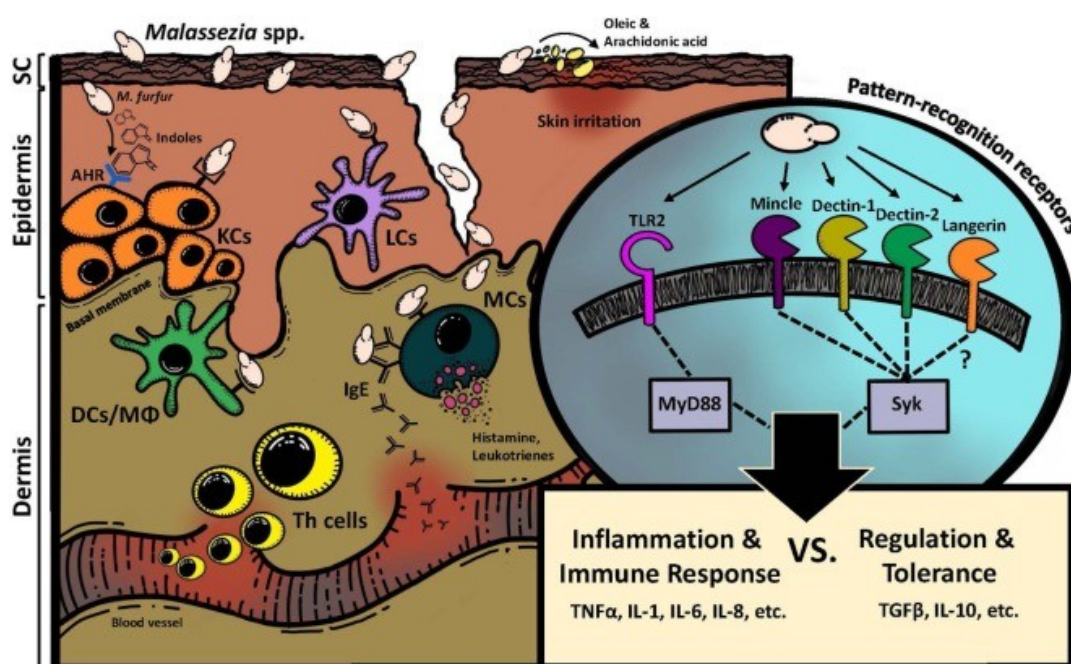
Za veliki dio mikroflore smatra se da ima blagotvorni učinak na domaćina i doprinosi imunološkoj homeostazi. Trenutno nije poznato da li *Malassezia spp.* doprinose imunološkoj homeostazi domaćina [11].

Patofiziologija kožnih stanja uzrokovanih ili pogoršanih *Malassezia spp.* nedovoljno je razjašnjena zbog nedostatka znanja o kompleksnim staničnim i molekularnim interakcijama s kožom.

Glavni čimbenici pojačanog rasta *Malassezia spp.* su visoke razine sebuma u pubertetu, prekomjerno znojenje, toplije vrijeme (od svibnja do rujna), primjena biljnih ulja, pothranjenost,

primjena sistemskih steroida, Cushingova bolest, trudnoća, terapija oralnim kontraceptivima, antibioticima ili imunosupresivima[12,13].

Prepoznavanje *Malassezia spp.* od strane domaćina može se odvijati na dva načina. Izravno, interakcijama komponenata staničnog zida gljiva s membranskim receptorima (PRRs) ili neizravno, putem metabolita koje gljive otpuštaju. (Slika 2.) [11].



Slika 2. Prepoznavanje i reakcije kože na *Malassezia spp.* KC-keratinociti; LC-Langerhans stanice; DC-dendritičke stanice; Mφ-makrofagi; MC-mastociti; SC-stratum corneum; AhR-aril ugljikovodični receptor.

Izravne interakcije uključuju membranske receptore koji prepoznaju sastojke stanične stijenke *Malassezia spp.* i jasno se ispoljavaju na površini ne-hematopoetskih (keratinociti) i hematopoetskih stanica (Langerhansove stanice, mastociti) kože. Prostorna i vremenska integracija različitih signala membranskih receptora dovodi do aktivacije citokinske mreže i imunog odgovora ili do stimulacije regulatornih mehanizama i razvoja tolerancije domaćina prema *Malassezia spp.* [11].

Neizravne interakcije *Malassezia spp.* s kožom uključuju reakcije na metabolite kao što su iritirajuće masne kiseline (oleinska i arahidonska) i indoli koji su snažni agonisti za aril-ugljikovodični receptor (AhR) [11].

3.2. Najčešće dermatoze vezane izazvane *Malassezia spp.*

Različite bolesti povezane su s *Malassezia spp.* (tablica 3.). To su većinom kronične i recidivirajuće dermatoze kao pityriasis versicolor, seboroični dermatitis i malassezia folliculitis. Nedavno je potvrđena njihova uloga u patogenezi ozbiljnih bolesti kože kao što su atopijski dermatitis i psorijaza. Spominju se i kao mogući uzročnici konfluentne i retikularne papilomatoze te onihomikoze. Kod imunokompromitiranih pacijenata, uključujući one oboljele od AIDS-a (hrv. kopnica), imuno-hematoloških, onkoloških i transplatiranih pacijenta povezane su s funginemijama katetera, sepsom i čitavim nizom duboko invazivnih infekcija [14]. Kod novorođenčadi na isključivo parenteralnoj prehrani i imunokompromitiranih starijih osoba koje primaju parenteralnu nadopunu lipida može se pojaviti fungemija i sepsa uzrokovana *M. furfur* i *M. pachydermatis* [15].

Tablica 3. Najčešće izolirane *Malassezia spp.* u čovjeka kod pojedinih bolesti [16,17]

Stanje	Vrsta
Pityriasis versicolor	<i>M. globosa</i> <i>M. furfur</i> <i>M. pachydermatis</i>
Malassezia folliculitis	<i>M. restricta</i> <i>M. globosa</i> <i>M. sympodialis</i>
Seboroični dermatitis	<i>M. restricta</i> <i>M. globosa</i> <i>M. sympodialis</i> <i>M. furfur</i> <i>M. sooffiae</i>
Atopijski dermatitis	<i>M. sympodialis</i> <i>M. globosa</i> <i>M. furfur</i>
Konfluentna i retikularna papilomatoza	<i>M. furfur</i> <i>M. sympodialis</i>
Psorijaza	<i>M. globosa</i> <i>M. restricta</i> <i>M. sooffiae</i>
Onihomikoza	<i>Malassezia spp.</i>
Akne	<i>Malassezia spp.</i>
Otitis	<i>M. sympodialis</i>
Neonatalna pustuloza	<i>M. globosa</i> <i>M. sympodialis</i>
Sistemske infekcije	<i>M. furfur</i> <i>M. pachydermatis</i>

3.2.1. Pityriasis versicolor

Pityriasis versicolor (PV) je površinska infekcija stratum corneum uzrokovana *Malassezia spp.* Karakteristična je po hiperpigmentiranim ili hipopigmentiranim okruglim do ovalnim promjenama na koži koje se najčešće nalaze na seboroičnim područjima vrata, trupa i gornjih dijelova ruku (slika 3. i 4.). Lezije su ljuskaste što je vidljivo kada ih se lagano zagrebe. U većini slučajeva asimptomatske, ali ponekad mogu biti povezan s pruritisom.



Slika 3. Hipopigmentirane lezije na leđima.



Slika 4. Hiperpigmentirane lezije.

Najčešće oboljevaju zdravi adolescenti i mlađi odrasli zbog visoke aktivnosti žlijezda lojnica. Djeca i osobe starije od 60 godina su vrlo rijetko zahvaćeni ali može se pojaviti u dojenčadi mlađoj od godine dana [3,17].

Nastanku PV pogoduju čimbenici kao što su visoke temperature, tropska klimama, plivanje, hiperhidroza, uporaba sistemskih kortikosteroida, imunosupresivi (ciklosporin i azathioprin) i infekcija HIV-om [3,17].

Istraživanja sugeriraju da je *M. globosa* glavni uzročnik bolesti jer je kvalitativno i kvantitativno najzastupljenija vrsta iako su i druge vrste uključene u patogenezu bolesti, ponajviše *M. furfur*, *M. pachydermatis* [17].

U PV *Malassezia spp.* su zastupljene uglavnom u parazitskoj fazi micelija. Razlog promjene iz saprofitskog stanja kvasca u parazitski nije jasan a pretpostavlja se da je izazvan promjenama u lokalnim uvjetima kao što su toplina, vlažnost i sastav sebuma [17].

Patogeneza depigmentacije nije do kraja razjašnjena. Neki autori sugeriraju da metaboliti imaju toksičan učinak na melanocyte. Također, nepoznato je i zašto neki pacijenti razvijaju hiperpigmentacije dok drugi hipopigmentacije. Opsežniji oblici su uglavnom hipopigmentirani. [17]

PV se lako dijagnosticira laboratorijskim metodama, uglavnom bez potrebe za biopsijom ili uzgojem kultura. Mikroskopski pregled strugotina obrađuje se s 10-20% otopinom kalijeva hidroksida, a dijagnoza se potvrđuje pronalaskom pseudohifa i blastokonidija karakterističnih za PV [17,18].



Slika 5. Pityriasis versicolor pod Woodovom lampom.

Pod Woodovom lampom, PV fluorescira žutom bojom. Ovo je međutim karakteristično samo za infekcije u kojima je prisutna *M. furfur* budući da jedino ona proizvodi fluorokrome (slika 5.) [17]. Bolesti sličnog izgledu su pityriasis alba, pityriasis rosea, vitiligo, hipopigmentirani mikoza fungoides, eritrazma, seboroični dermatitis, melasma, tinea corporis, sekundarni sifilis [17,18]. PV se relativno lako liječi primjenom lokalnih antimikotika u obliku krema, losionima, šamponima i/ili oralnih antimikotika, ali recidivi su česti. Također, potrebno je svakodnevno tuširanje, uz energično trljanje i brisanje grubim ručnikom. Svi su antimikotici iz skupine azola (ketokonazol, klotrimazol, mikonazo, ekonazol, bifonazol, sulkonazol i tiokonazol) efikasni u liječenju [17]. Topikalna primjena antimikotika provodi se primjenom lijeka dva puta dnevno kroz dva tjedna. Preporuča se i terapija ketokonazolom u obliku šampona [17]. Oralni antimikotici djelotvorni protiv *Malassezia spp.* uključuju ketokonazol, itrakonazol i flukonazol [17]. Nažalost oralno primjenjen terbinafin ne postiže efikasnu koncentraciju lijeka u stratum corneumu iako je topikalna primjena učinkovita [17]. Budući da su recidivi vrlo česti, kod pacijenata koji žive u tropskim krajevima ili tijekom ljetnih mjeseci preporučuje se povremeno koristiti blage keratolitike i jednom do dva puta tjedno šampon s ketokonazolom [19]. Također kao profilaktički tretman učinkovita je jednokratna doza od 400mg itrakonazola jednom mjesečno tijekom 6 mjeseci [19].

Uspješnost u sprječavanju recidiva ima terapija 50%-tnom otopinom propilenglikola u vodi tijekom dva tjedna [20].

3.2.2. *Malassezia folliculitis*

Malassezia folliculitis (MF) je kronična infekcija kože poznata i pod nazivom *pityrosporum folliculitis*. Tipično se manifestira eritomatoznim folikularnim pustulama i papulama popraćenim pruritisom na leđima, prsima, ramenima i licu (slika 6.). Javlja se kod mladih do sredovječnih odraslih osoba, češće u tropskoj klimi ili tijekom ljeta [17,18].

Klinički nalikuje aknama pa se nerijetko pogrešno dijagnosticira kao *acne vulgaris*. Nažalost, baš zbog pogrešno postavljene dijagnoze ovo stanje može trajati godinama bez potpune rezolucije jer se liječenje krivo provodi lijekovima protiv akni. Također, znakovi bolesti se pogoršavaju upotrebom kozmetičkih pripravaka. Primjena antibiotika širokog spektra djelovanja (npr. tetraciklini koji se često prepisuju kao terapija aknama) pogoduje proliferaciji *Malassezia spp.*



Slika 6. Izgled *malassezia folliculitisa* uvelike podsjeća na akne

Faktori rizika za malassezia folliculitis [17]:

- imunosupresija
- Hodgkinova bolest
- šećerna bolest
- antibiotici
- steroidi
- pubertet
- trudnoća
- preparati komedogenog djelovanja (kozmetika, losioni, kreme za sunčanje, emulzije, ulja)

Dijagnoza MF temelji se na kliničkoj sumnji i odgovoru na terapiju antimikoticima. Mikroskopski pregledom uzorka dobivenog struganjem pustule u preparatu otkriva prisutnost spora i pupanje kvasaca. Pseudohife koje su karakteristične za PV mogu biti prisutne i u MF iako u puno manjem broju. U svrhu postavljanja dijagnoze obično nema potrebe za biopsijom zahvaćenog tkiva, no histologija pokazuje proširenje folikula dlake s puno staničnog materijala i keratinskih čepova. Vidljiva upala pokazuje limfocite, histiocite i neutrofile. Pretpostavlja se da su za upalu odgovorne slobodne masne kiseline nastale hidrolizom triglicerida sebuma i aktivacija kaskade sustava komplementa [17,18]. Akaza i sur. ističu da su dominantne vrste u lezijama MF *M. restricta*, *M. globosa* i *M. sympodialis* [21].

Liječenje se provodi oralnim antimikoticima (ketokonazol, itrakonazol, flukonazol) , jer topikalnom primjenom lijek ne prodire dovoljno duboko u folikule dlaka. Budući da je velika učestalost recidiva, postoji potreba za terapijom održavanja [17].

3.2.3. Seboroični dermatitis

Seboroični dermatitis (SD) je druga najčešća dermatoza povezana uz gljive roda *Malassezia*. To je recidivirajuća kronična upalna bolest kože koja najčešće zahvaća područja s pojačanom aktivnošću žlijezda lojnica (nasolabijalni nabori, obrve, iza ušiju i prsa) (slika 7).



Slika 7. Seboroični dermatitis lica

Upalna reakcija popraćena je crvenilom i ljuštenjem kože uz blagi svrbež ili nelagodu. Češće se javlja kod muškaraca nego kod žena [22].

Pojava i pogoršanje simptoma vezano je uz godišnja doba, konkretno zimu kada je SD izraženiji [22]. Stres je poznati okidač i dovodi do pogoršavanja simptoma. Bolest kod imunokompromitiranih pacijenata uglavnom počinje u vrijeme puberteta te postaje kronična [23].

Uzrok nije razjašnjen, međutim, kliničko stanje poboljšava se u skladu sa smanjenjem broja malasezija u lezijama nakon terapije antimikoticima što sugerira da su one uvelike povezana s razvojem SD [24]. Slobodne masne kiseline nastale hidrolizom sebuma izazivaju upalu kože i služe kao hranjive tvari za kožne mikroorganizme [22].

Istraživanje temeljeno na detekciji DNK otkrilo je da lezije sadržavaju raznovrsniju i mnogobrojniju populaciju *Malassezia spp.* nego zdrava koža [25].

Najčešće vrste *Malassezia* prisutne u SD su *M. globosa* i *M. restricta*, nakon čega slijede *M. sympodialis*, *M. furfur* i *M. slooffiae* [22,25].

SD je bolest izrazito recidivirajuće prirode. Simptomi se ponekad vraćaju u roku od samo nekoliko dana što liječenje čini izazovnim. Terapija antimikoticima trebala bi biti primarni tretman ove bolesti, jer se upotrebom kortikosteroida ne smanjuje broj malasezija [26].

Presudna je uloga imunološkog sustava iako izostaje specifični imuni odgovor na *Malassezia spp.* [27]. Imunocitokemija biopata lezija SD, zdrave kože SD pacijenata i zdrave kontrole pokazala je da je ova bolest karakterizirana neimunogenom nadražujućom reakcijom imunološkog sustava kože u epidermisu i oko folikula dlaka [28]. *Malassezia spp.* mijenja i izbjegava imunološki odgovor proizvodnjom sekundarnih metabolita, što pomaže u održavanju bolesti. Okolišni čimbenici, kao što su stres, UV zračenje, klimatske promjene, hormonalne promjene i trauma također potpomažu kronicitet SD. *Malassezia spp.* imaju sposobnost postojanja kao patogeni koji pogoršavaju SD i kao normalna flora na drugim područjima kože [22].

3.2.4. Pityriasis capitis

Pityriasis capitis ili prhut je iznimno česta pojava na vlasištu, popraćena skaliranjem i ljuštenjem. Može se smatrati blagim oblikom SD ili zasebnim stanjem koje s pogoršavanjem može preći u SD. Ključna razlika između prhuti i SD je da ta da kod prhuti nema vidljive upale [22]. Kod tjemena zahvaćenog s prhuti korneociti su međusobno slabo povezani, a broj dezmosoma smanjen ili ih nema. Također je narušena normalna sekrecija lipida što utječe na epidermalnu vodenu barijeru. Pojačan svrbež uzrokovan histaminom pogoduje nastanku traume kože i ispadanju kose. Lipaze iz malasezija razgrađuju sebum vlasišta u arahidonsku i oleinsku kiselinu koje su iritansi s deskvamativnim efektom na keratinocite. Sve navedeno narušava mehanizme obrane i olakšava malasezijama prodiranje u kožu [18,22]. Primjena topikalnih antimikotika učinkovita je u slučajevima kod kojih su *Malassezia spp.* povezane s nastajanjem prhuti [1].

Poremećaj je najviše i najjače izražen u adolescentskoj dobi i mlađih odraslih osoba a najmanje u djece i starijih. Pogoršanje simptoma pogoduju okolišni čimbenici tipa zima, UV zračenja, iritansi u zraku i kozmetički preparati za kosu [1].

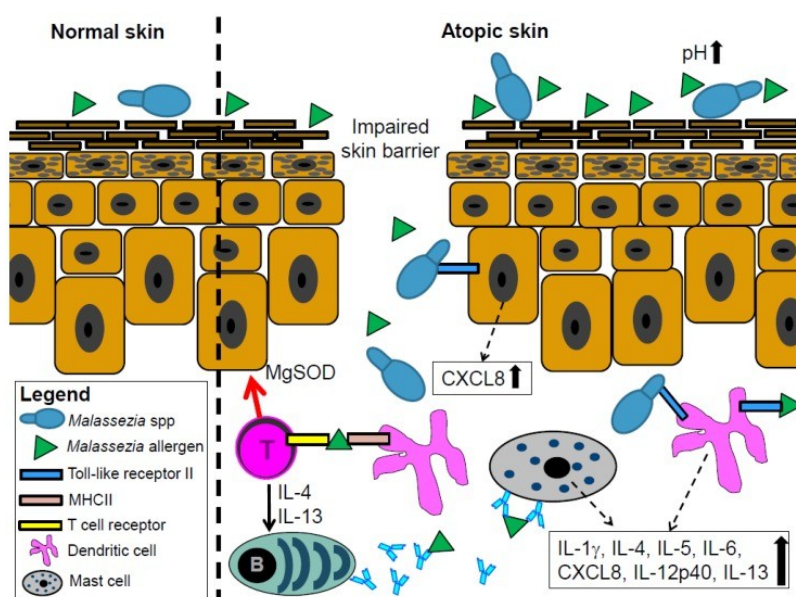
3.2.5. Infantilni seboroični dermatitis

Tjemenica je prilično uobičajena pojava na koži, posebno u prva tri mjeseca života kada su lojne žlijezde aktivne pod utjecajem majčinih androgena, a koža tek kolonizirana malasezijama. Najčešće zahvaća vlasište ali može se pojaviti i na obrvama, vjeđama, gornjem dijelu vrata, pelenskom području, ušima, nosu i pazusima. Razlikuje se od SD koji zahvaća odrasle osobe po tome što se povuče do 12. mjeseca života dok je odrasli oblik kroničan i/ili recidivirajući. Klinička pojava infantilnog seboroičnog dermatitisa nije specifična i može se lako zamijeniti s infantilnim atopijskim dermatitisom i infantilnom psorijazom [22].

3.2.6. Atopijski dermatitis

Atopijski dermatitis je recidivirajuća kronična upalna bolest kože karakterizirana svrbežom i osipom. Disfunkcija barijere kože kulminira sa suhom kožom i senzibilizacijom posredovanom IgE na alergene iz okoliša i hrane. Smatra se da *Malassezia spp.* pogoršava AD jer je Malassezia-specifični IgE prisutan u serumu bolesnika s AD-om [29,30,31,33]. Osim toga, klinička ispitivanja s antimikoticima (ketokonazolom i itrakonazolom) pokazala su da njihova primjena smanjuje simptome, osobito kod atopijskog dermatitisa glave i vrata (HNAD) [32,33,34,35,36]. Malassezia-specifični IgE je utvrđen u 5-27% djece [37,39,40,41] i 29-65% odraslih osoba s AD-om [37,38,41,42,43]. Stopa senzibilizacije na alergene *Malassezia spp.* osobito je visoka kod bolesnika s HNAD [38]. Istraživanja kod odraslih osoba pokazuju značajnu povezanost između težine AD i senzibilizacije na malasezija-specifični IgE. Kod djece ova povezanost nije primjećena [44]. Niža osjetljivosti na *Malassezia spp.* u djece naspram odraslih može se pripisati lošim uvjetima rasta za *Malassezia spp.* na dječjoj koži. Kod odraslih je lipidni sadržaj sebuma veći pa se senzibilizacija na *Malassezia spp.* uglavnom javlja u odrasloj dobi, a senzibilizacija na alergene hrane i okoliša češće tijekom djetinjstva [41]. Do danas je poznato trinaest alergena prijavljenih na listi službene nomenklature alergena (www.allergen.org). Tri su izvedena iz vrste *M. furfur* i deset iz *M. sympodialis* [22].

Predloženi mehanizam kojim *Malassezia spp.* potiče upalni proces uključuje nekoliko faktora. Povišeni pH kože atopičara doprinosi povećanoj produkciji malasezija alergena. Alergeni, zajedno sa stanicama malasezije zbog oslabljene barijere kože prodiru u epidermis. Toll-like receptori na keratinocitima, dendritičkim i T stanicama prepoznaju alergene i potiču oslobađanje proinflamatornih citokina koji aktiviraju B limfocite odgovorne za stvaranje malasezija-specifičnih IgE protutijela. Moguće je da IgE antitijela putem mastocita doprinose upali u koži atopičara. Autoreaktivni T-limfociti mogu križno reagirati između ljudske i malasezijske mangnan superoksid dismutaze (MnSOD) čime se održava upala kože (slika 8.) [40].



Slika 8. Predloženi mehanizam kojim *Malassezia spp.* doprinosi upalnom procesu. [40]

3.2.7. Psorijaza

Psorijaza je kronična bolest kože karakterizirana hiperproliferacijom epidermalnih keratinocita u kombinaciji s upalom epidermisa i dermisa. Očituje se stvaranjem dobro ograničenih, eritematoznih papula i plakovima prekrivenim srebrnastim ljuskama. Lokalizirana je na koljenima, laktovima, trupu, vlasištu i noktima. Kod teškog oblika moguća je pojava artritisa. U etiologiji bolesti uključeni su mikrobiološki čimbenici i genetska predispozicija [44].

Uloga *Malassezia spp.* u psorijazi još uvijek nije definirana. Tri glavne vrste pronađene u lezijama su *M. globosa*, *M. restricta* i *M. sooffiae*. Postoji nekoliko istraživanja koja sugeriraju da imaju sposobnost izazvati psorijatične lezije. Bolesnici s psorijazom pokazuju imunološke reakcije na same malasezije i na njihove proteine. Dokazano je da su kod ispitanika s psorijazom u serumu prisutna antitijela na *Malassezia spp.* dok kod kontrolnih ispitanika nisu. Također, poznato je da liječenje lezija psorijaze na tjemenu ketokonazolom dovodi do poboljšanja i smanjenja gustoće *Malassezia spp.* Za sada se samo može reći da malasezije doprinose upali povezanoj s psorijazom zbog mogućnosti aktiviranja kaskade komplementa, proizvodnje proupalnih citokina i regrutiranja neutrofila, ali nije dokazano da su neophodne u patogenezi bolesti [44].

3.3. Nutritivne potrebe *Malassezia spp.*

Sve vrste malasezija, osim *M. pachydermatis*, za rast zahtijevaju vanjski izvor lipida. Lipidi su važan čimbenik virulencije *Malassezia spp.* jer ih njihova stanična stijenka, bogata lipidima štiti od fagocitoze i slabi imunološki odgovor. Osim toga, adhezija na stanice domaćina može biti posredovana hidrofobnošću visoko lipofilne stijenke [45,46,52].

3.3.1. Metabolizam lipida

Ovisnost o lipidima zasnovana je na nemogućnosti sintetiziranja miristinske kiseline koja je prekursor u sintezi dugolančanih masnih kiselina [47]. Na molekularnoj razini ovaj nedostatak objašnjen je manjkom gena za kodiranje sinteze masnih kiselina u genomima *M. globosa* i *M. restricta*. Ovaj nedostatak kompenziran je obiljem gena koji kodiraju hidrolaze (lipaze, fosfolipaze, aspartil proteaze i sfingomijelinaze) koje razgradnjom lipida mogu osigurati masne kiseline za rast [48]. Dugolančane masne kiseline mogu se sintetizirati iz srednjelančanih. Transformacija iz zasićenih u nezasićene masne kiseline je također moguća [47]. Supstrat korišten prilikom uzgoja utječe na lipidni sastav malasezija što sugerira da se masne kiseline ne koriste kao izvor energije nego se ugrađuju direktno u stanične lipide bez daljnjeg metabolizma [49]. U većini slučajeva kao

supstrati koriste se trigliceridi, slobodne masne kiseline ili polioksisorbitan esteri masnih kiselina (Tween). Osim hidrolize masti, neke *Malassezia spp.* imaju mogućnost asimilacije fosfolipida. Asimilacija steroida, primarno kolesterola i estera kolesterola dovodi do indukcije hifa [50,51,52].

3.3.2. Opći Metabolizam

Fiziologija *Malassezia spp.* slabo je poznata zbog problema s uzgojem i održavanjem kultura. Zbog nemogućnosti provedbe standardnog testa asimilacije dostupan je svega mali broj istraživanja koja se bave ovom tematikom. Studije ukazuju da *Malassezia spp.* nemaju sposobnost fermentirati šećere. Samo *M. pachydermatitis* ima mogućnost kao jedini izvor ugljikovodika koristiti manitol, glicerol i sorbitol [52]. Kao izvor dušika koriste aminokiseline i amonijeve soli. Za rast ne zahtijevaju vitamine, elemente u tragovima ni elektrolite [53]. Kao izvor sumpora preferiraju metionin ali mogu iskorištavati cistin ili cistein. [54] Poboljšani rast primijećen je nakon dodavanja asparagina, tiamina i piridoksina međutim oni nisu esencijalni. Ne iskorištavaju anorganske sulfite i sulfate [52].

3.4. Sastojci kozmetičkih pripravaka koji utječu na rast gljiva roda *Malassezia*

3.4.1. Lipidi

Lipidi u kozmetičkim pripravcima imaju široku namjenu koja se proteže od omekšavanja kože, poboljšavanja elasticiteta i čuvanja vlage do emulgiranja i postizanja određene konzistencije kozmetičkog pripravka.

Lipidi su bitni sastojci svih krema, losiona i sredstava za pranje kože. To su uglavnom ulja, maslaci, voskovi, slobodne masne kiseline, esteri masnih kiselina, steroli i saharolipidi. Međutim,

kod kože, zahvaćene bolestima koje izazivaju gljive roda *Malassezia*, svi lipidi nisu poželjni sastojci kozmetičkih pripravaka.

3.4.1.1. Masne kiseline

Masne kiseline važan su izvor energije i strukturalne komponente svih živih stanica. Izgrađene su od C2-jedinica odnosno od ostataka octene kiseline. Duljina lanca im iznosi od 4-28 atoma ugljika. Dijele se na zasićene i nezasićene masne kiseline ovisno o tome da li sadrže dvostruke veze u molekularnom lancu. Masne kiseline iz biljnih izvora većinom imaju parni broj atoma ugljika.

Malassezia spp. nemaju sposobnost sinteze miristinske kiseline (C14:0) koja služi kao prekursor u sintezi dugolančanih masnih kiselina pa putem lipaza i fosfolipaza metaboliziraju masne kiseline iz okoline u kojoj se nalaze [55].

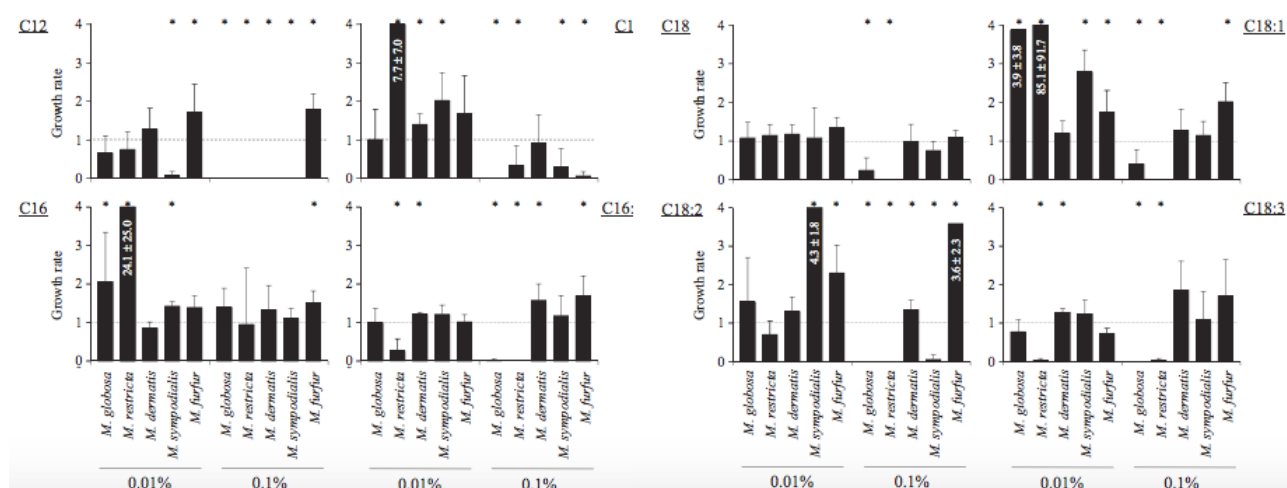
Metaboličke potrebe razlikuju se od vrste do vrste i ovise o uvjetima u kojima gljive rastu, ali za *Malassezia spp.* koje nastanjuju ljudsku kožu uglavnom vrijedi da se hrane masnim kiselinama čija duljina ugljikovog lanca iznosi između 12 i 24 atoma ugljika [6,47]. (Tablica 4.) Masne kiseline srednje duljine lanca, kaprinska (C10:0), kaprilna (C8:0) i kapronska (C6:0) imaju antimikrobni učinak i poželjan su sastojak kozmetičkih pripravaka za kožu oboljelu malasezijama. Problem ovih masnih kiselina je intenzivan miris i kiselost, ali u obliku estera pogodne su za kozmetičke pripravke [58,59].

Tablica 4. Najčešće masne kiseline dužine lanca 12-24 ugljikova atoma.

Laurinska kiselina	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ COOH	C12:0
Miristinska kiselina	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH	C14:0
Palmitinska kiselina	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH	C16:0
Palmitoleinska kiselina	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	C16:1
Stearinska kiselina	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH	C18:0
Oleinska kiselina:	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	C18:1
Linolna kiselina:	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	C18:2
Linolenska kiselina:	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	C18:3

Arahidska kiselina	CH ₃ (CH ₂) ₁₈ COOH	C20:0
Arahidonska	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -(CH=CH-CH ₂) ₄ -(CH ₂) ₂ -COOH	C20:4
Eikosapentaenska (EPA)	CH ₃ -CH ₂ -(CH=CH-CH ₂) ₅ -CH ₂ -CH ₂ -COOH	C20:5
Behenska kiselina	CH ₃ (CH ₂) ₂₀ COOH	C22:0
Okosaheksaensa (DHA)	CH ₃ -CH ₂ -(CH=CH-CH ₂) ₆ -CH ₂ -COOH	C22:6
Lignocerična kiselina:	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	C24:0

Prilikom uzgoja u kulturama, zapaženo je da koncentracija masnih kiselina može imati učinak na rast. Primjerice kada je koncentracija linolenske kiseline u mediju u kojem raste *M. globosa* 0,01%, rast je povećan dok u koncentraciji od 0,1% *M. globosa* umire. (Slika 9.) Međutim ovo vrijedi samo za slobodne masne kiseline [47,58]. Masne kiseline iz prirodnih izvora nisu slobodne već se većinom nalaze u formi triglicerida, estera, fosfolipida ili kolesterola. Prilikom odabira kozmetičkih pripravaka, pažnju treba obratiti na laurinsku, miristinsku, palmitinsku, stearinsku, oleinsku i linolensku kiselinu jer su one u njima najzastupljenije. Primjerice, za palmitinsku i oleinsku kiselinu potvrđeno je da *in vitro* induciraju fazu micelija i time potiču rast *M. furfur* [56].



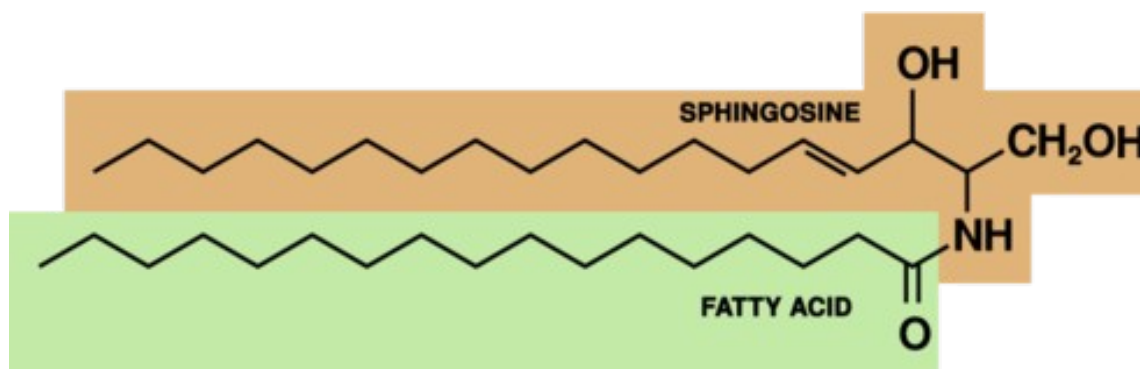
Slika 9. Utjecaj koncentracije slobodnih masnih kiselina na rast *Malassezia* spp. Laurinska kiselina smanjila je stope rasta svih ispitivanih vrsta, osim *M. furfur*, pri 0,1%, a *M. sympodialis* pri 0,01%. Međutim, rast *M. furfur* povećan je laurinskom kiselinom. Miristinska kiselina smanjila je rast svih vrsta, osim *M. dermatitis* pri 0,1%, te povećala rast *M. restricta*, *M. dermatitis* i *M. sympodialis* pri 0,01%. Palmitinska kiselina povećala je rast *M. furfur* pri 0,1%, a *M. globosa*, *M. restricta* i *M. sympodialis* na 0,01%. Palmitoleinska kiselina pri 0,1% povećala je rast *M. dermatitis* i *M. furfur*, iako je smanjila rast *M.*

globosa i *M. restricta*. Palmitoleinska kiselina pri 0,01% povećala je rast *M. dermatis*, iako je smanjila rast *M. restricta*. Stearinska kiselina pri 0,1% smanjila je rast *M. globosa* i *M. restricta*, ali pri 0,01% nije utjecala na rast. Oleinska kiselina je pri 0,1% povećala rast *M. furfur*, ali smanjila *M. globosa* i *M. restricta*. Oleinska kiselina je pri 0,01% povećala je stopu rasta svih vrsta, osim *M. dermatis*. Linolenska kiselina je pri 0,1% povećala rast *M. dermatis* i *M. furfur*, ali smanjila je *M. globosa*, *M. restricta* i *M. sympodialis*. Linolna kiselina pri 0,01% povećala je rast *M. sympodialis* i *M. furfur*. Linolenska kiselina pri 0,1% smanjila je stopu rasta *M. globosa* i *M. restricta*. Linolenska kiselina pri 0,01% povećala je rast *M. dermatis*, iako je smanjila rast *M. restricta*. [87]

3.4.1.2. Ceramidi

Naša koža sama stvara ceramide, oni su sastavni dio rožnatog sloja. Tu se nalazi šest tipova ceramida koji se međusobno razlikuju prema vrsti masne kiseline vezane amidnom vezom na sfingosin (Slika 10.). Jedna od glavnih uloga ceramida u koži je očuvanje barijere i zadržavanje vlage budući da oni stabiliziraju lipidne lamele između keratinocita rožnatog sloja [61]. Česti su sastojci hidratantnih i krema protiv starenja kože.

Količina ceramida u koži opada s godinama. Također kod određenih bolesti kože tipa psorijaze, atopijskog dermatitisa, rosaceje i akni vulgaris, primjećene su smanjene razine ceramida što dovodi do suhoće, osjetljivosti i upale kože [74].



Slika. 10. Struktura ceramida

Ceramidi se u koži razgrađuju putem enzima ceramidaze na svoje sastavne dijelove odnosno sfingozidnu bazu (sfingosin, sfinganin, fitosfingosin) i slobodne masne kiseline [75]. Utjecaj

razgradnje ceramida na *Malassezia spp.* nije ispitivan pa nema dokaza da može pogodovati rastu broja gljiva.

Fitosfingozin (phytosphingosine) je najzastupljenija sfingozidna baza u rožnatom sloju kože, kako u obliku slobodne sfingozidne baze tako i kao dio veće frakcije ceramida. Važan je za očuvanje hidrolipidne barijere i doprinosi antimikrobnoj obrani kože [77]. Čest je sastojak hidratantnih i krema protiv starenja kože zbog sposobnosti nadopunjavanja barijere kože [76]. Zbog dokazanog antimikrobnog učinka na *Propionbacterium acnes*, fitosfingozin je pogodan kao aktivni kozmetički sastojak ili nadopuna postojećoj terapiji akni. Međutim za postizanje antimikrobnog učinka potrebne su visoke koncentracije fitosfingozina. Štoviše male koncentracije (koje inhibitorno djeluju na rast *C. Albicans* i *S. aureus*) imaju pozitivan učinak na rast *M. furfur* [77].

3.4.1.3. Kolesterol

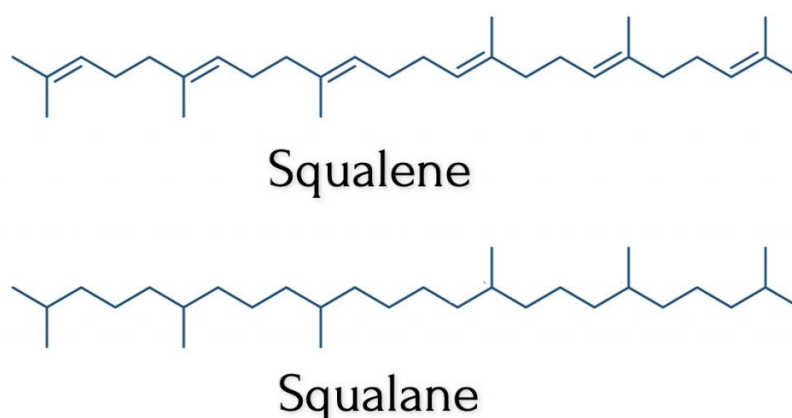
Kolesterol je jedan od lipida epidermisa. U kozmetičke pripravke dodaje se radi poboljšavanja viskoznosti, emolijentnih svojstava i kao stabilizator emulzija. Djeluje na jačanje vanjske strukture kože i štiti je od dehidracije. Zbog svoje multifunkcionalne prirode, nalazimo ga u širokom asortimanu proizvoda za osobnu njegu kao što su hidratantne kreme za lice, kreme protiv starenja, kreme za sunčanje, ruževi za usne, kreme za oči, sredstva za pranje i bojanje kose.

Jedna studija navodi da kolesterol i esteri kolesterola mogu inducirati stvaranje micelija kod određenih podvrsta *M. furfur*, međutim medij (Bacto Yeast Morphology Agar) u kojem su uzgojene gljive sadržavao je i gliceril monostearat i oleinsku kiselinu pa je pretpostavka da kombinacija tih sastojaka dovela do pojave hifa [72]. Druga istraživanja iako provedena u drugom uzgojnom mediju (Leeming Notman agar) nisu pokazala da kolesterol i esteri kolesterola mogu inducirati pojavu hifa [73]. Interesantno bi bilo proučiti djelovanje fitosterola na rast *Malassezia spp.* budući da fitosteroli imaju strukturu sličnu kolesterolu a smjese prirodnih fitosterola djeluju antiflogistički i antipurginozno.

3.4.1.4. Skvalen i skvalan

Skvalen je endogeni lipid sebacealnog porijekla i prekursor je u sintezi steroida (kolesterola). Čest je sastojak krema, losiona i ruževa ali u obliku skvalana (perihidroskvalena) odnosno hidriranog skvalena koji je stabilan i manje otporan na oksidaciju zbog prisustva dvostrukih veza (Slika 11.). Oksidacijom skvalena nastaje skvalen peroksid. Kod kože zahvaćene aknama primjećene su veće koncentracije skvalena u sebumu a time i skvalen peroksida. Skvalen peroksid ima izrazito komedogeno djelovanje, smanjuje koncentracije antioksidanasa tipa vitamina E i glutationa te je pokretač inflamatorne kaskade koja na kraju dovodi do pojave akni. [69] Povećane razine skvalena i skvalen peroksida također su zamjećene kod masne prhuti [70]. *Malassezia spp.* u *in vitro* uvjetima mogu oksidirati nezasićene lipidne komponente površine kože, tj. nezasićene masne kiseline, kolesterol i skvalen što dovodi do povećavane peroksidacije skvalena [70].

Skvalan je lipofilni emolijens koji na koži stvara nepropusni film i tako priječi gubitak vode iz kože, a koristi se i kao pojačivač apsorpcije. Od blagotvornih djelovanja skvalana na kožu navodi se da hidratizira kožu, poboljšava regenerativnu sposobnost kože, reducira pojavu finih linija i bora, obnavlja elastičnost kože i budi njen prirodni sjaj. Zbog zasićenih veza u skvalanu manja je mogućnost oksidacije pa je čisto ulje skvalana jedno je od rijetkih vrijednih ulja koje se sa sigurnošću može koristiti kod kožnih oboljenja uzrokovanih ili posredovanih malasezijama.



Slika 11. Usporedba strukture skvalena i skvalana

3.4.2. Tenzidi

Tenzidi odnosno površinski aktivne tvari su supstancije ambifilnih osobina jer posjeduju hidrofilne i lipofilne skupine.

3.4.2.1. Esteri masnih kiselina

Esteri masnih kiselina prisutni su u svim uljima, mastima i voskovima prirodnog porijekla. Uglavnom su u formi triglicerida, odnosno masnih kiselina vezanih na alkohol glicerol.

Osim u svom prirodnom obliku u kozmetičke pripravke dodaju se i sintetski esteri. Tada kao alkoholnu skupinu mogu sadržavati i druge alkohole pa se tako koriste, etilni, glikolni, alkilni, izopropilni, isononilni, cetilni, ceterilni i etilheksilni esteri masnih kiselina. Sintetski esteri masnih kiselina kozmetičkim pripravcima dodaju se u ulozi koemulgatora. To su najčešće esteri laurinske, palmitinske, kokosove, oleinske ili stearinske kiseline [61].

Malassezia spp. mogu iskorištavati estere masnih kiselina kao izvor hrane. Međutim, bitno je da su to masne kiseline čija je dužina ugljikovog lanca između 12-24 atoma ugljika. Primjerice, esteri kaprilne kiselina koja ima 8 atoma ugljika u lancu ne predstavljaju izvor hrane pa tako ni ne potiču njihov rast već imaju antimikrobni učinak. Također veliku ulogu igra i vrsta alkohola na koji je masna kiselina vezana. Istraživanje kojim je ispitivana hidroliza estera masnih kiselina potvrdilo je da *Malassezia spp.* najbolje hidroliziraju etilne estere, zatim izopropilne estere dok je hidroliza decil oleata najslabija. Također je utvrđeno da od masnih kiselina koje se oslobađaju hidrolizom, nezasićene masne kiseline bolje stimuliraju rast od zasićenih. Etilni esteri masnih kiselina srednje dužine lanca bili bi idealan izbor jer mogu poboljšati kompatibilnost kozmetičkih pripravaka, posebno u seboroičnim područjima. Etilni esteri su jeftini, prirodnog okusa, netoksični, nisu alergeni i za razliku od slobodnih masnih kiselina njihova primjena nije ograničena intenzivnim neugodnim mirisom i kiselošću [57,58].

3.4.2.2. Emulgatori i detergensi

Emulgatori su sastojci mnogih kozmetičkih pripravaka koji se izrađuju u obliku krema i losiona. Iako postoji više podjela, najčešće ih dijelimo na ionogene (kationaktivni i anionaktivni) i neionogene .

Neionogeni emulgatori su najčešće prisutni u kremama i losionima. Mogu se upotrebljavati u izrazito lužnatim i izrazito kiselim pripravcima, podnose visoke koncentracije elektrolita i niske su iritativnosti [61].

U neionogeni emulgatore ubrajamo:

- više masne alkohole (cetanol, stearol, miristanol, cetostearol)
- kolesterol i lanolinski alkoholi (smjesa sterola i alifatskih masnih alkohola)
- etoksilirani masni alkoholi
- etoksilirane masne kiseline
- estere masnih kiselina

U kozmetičkim pripravcima koriste se i kompleksni emulgatori. Sastoje se od jednog lipofilnog i barem jednog hidrofilnog emulgatora. Oni mogu biti samoemulgirajući voskovi koji su mješavina lipofilnog cetostearola ili različitih glicerilmonostearata s hidrofilnim emulgatorima tipa natrij-lauril sulfat i neionogeni kompleksni emulgatori složeni iz polisorbata i sorbitanskih estera masnih kiselina [61]. Istraživanjem utjecaja emulgatora *in vitro* na rast sojeva *M. furfur*, *M. sympodialys*, *M. sooffiae*, *M. obtusa*, *M. globosa* i *M. restricta* pokazalo je da malasezije određene emulgatore iskorištavaju kao izvore hrane. (Tablica 5. i 6.)

Tablica 5. Testirani emulgatori [60]

Generički naziv	Trgovački naziv
PEG- castor oil	Cremophor EL
PEG-7 glyceryl monoalcanoate	Cetiol HE
Mono-, di- i trigliceridi + Cetomacrogol 1000	Softisan 601
Masni alkoholi	Lanette E
Cetostearyl alkoholi	Lanette N
PEG stearyl ether	Brij 721
PEG-25 cetostearyl ether	Cremophor A 25
Macrogol-50 stearate	Myrj 53
PEG-9 stearate	Cremophor S9
PEG-glyceryl stearate	Tagat S2

Tablica 6. Utjecaj pojedinih emulgatora na pojedinačne sojeve nakon 6 dana inkubacije [60]

		Cremophor EL	Cetiol HE	Lanette E	Lanette N	Brij 721	Cremophor A 25	Myrj 53	Cremophor S9	Tagat S2
<i>M. furfur</i>	1878	+	+	-	-	-	-	+	+	+
	7019	+	+	-	-	-	-	+	+	+
	6046	+	+	-	-	-	-	+	+	+
	4162	+	+	-	-	-	-	+	+	+
	Leiden	+	+	-	-	-	-	+	+	+
<i>M. Sympodialis</i>	7222	-	+	-	-	-	-	+	+	+
	7979	-	+	-	-	-	-	+	+	+
<i>M. sloofie</i>	7971	-	+	-	-	-	-	+	+	+
	7956	-	+	-	-	-	-	+	+	+
<i>M. obtusa</i>	7876	-	+	-	-	-	-	+	-	+
	7968	-	+	-	-	-	-	+	-	+
<i>M. globosa</i>	7966	-	+	-	-	-	-	+	-	+
	GM 7	-	+	-	-	-	-	+	-	+
<i>M. restricta</i>	7877	-	+	-	-	-	-	+	-	+
	7991	-	+	-	-	-	-	+	-	+

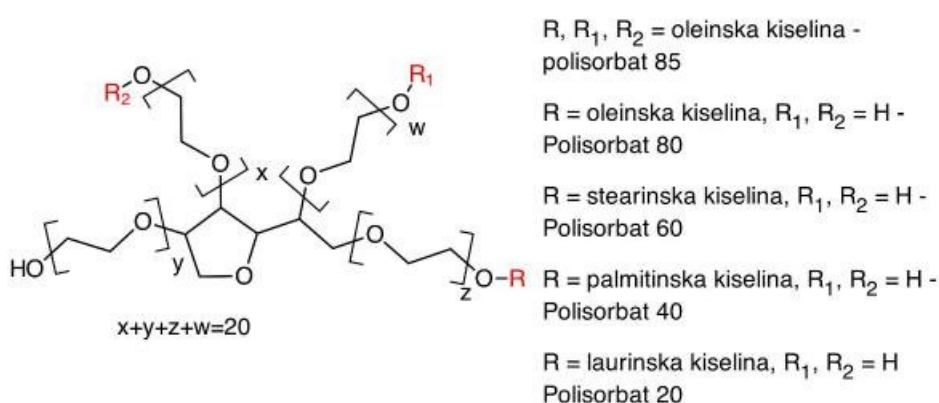
Nakon 6 dana inkubacije u agaru kojem su dodani emulgatori PEG-7 glyceryl monoacanoat, PEG-glyceryl stearat i Macrogol-50 stearat, testom difuzije zabilježen je rast svih sojeva. Niti jedan soj nije mogao metabolizirati masni alkoholi Lanette E i N, cetomacrogol mixture Softisan 601, ester masnih kiselina, Brij 721 (PEG stearyl ether) i Cremophor A 25 (PEG-25 ceto-stearyl ether) [60]. *M. obtusa*, *M. globosa* i *M. restricta* nisu mogle metabolizirati PEG-9 stearat (Cremophor S9). Kod PEG-35 ricinusovog ulja (Cremophor EL) rast je zabilježen samo kod sojeva *M. furfur*. Daljnja inkubacija nije promijenila rezultate.

Masni alkoholi (Lanette N i E) i **masne kiseline vezane na etere** (Brij 721, Cremophor A 25) nisu bili asimilirani od strane niti jednog ispitivanog soja pa se ovi emulgatori mogu slobodno koristiti u kozmetičkim pripravcima namijenjenim tretiranju kože oboljele malasezijama [60].

Polisorbati ili parcijalni esteri masnih kiselina i polioksilen-sorbitana (slika 12.) su pretežno monoestri s različitim brojem etilenoksidnih molekula. Na tržištu se nalaze pod nazivom Tween® i Polysorbate®.

Primjeri polisorbata:

- Tween (polisorbat) 85, polioksietilen sorbitan trioleat (oleinska kiselina, C18:1)
- Tween 80, polioksietilen sorbitan monooleat (oleinska kiselina, C18:1)
- Tween 60, polioksietilen sorbitan monostearat (stearinska kiselina, C18:0)
- Tween 40, polioksietilen sorbitan monopalmitat (palmitinska kiselina, C14:0)
- Tween 20, polioksietilen sorbitan monolaurat (laurinska kiselina, C12:0)



Slika12. Izgled polisorbata (izvor: Plantagea)

Većina *Malassezia spp.* može metabolizirati polisorbate. Štoviše oni se standardno dodaju hranjivoj podlozi prilikom *in vitro* uzgoja kako bi se proučavalo njihovo iskorištavanje i na temelju toga zaključivalo o morfološkim osobinama *Malassezia spp.* [6].

Ispitivanje utjecaja **detergenasa** tipa natrij lauril sulfata, amonij lauril sulfata i Tween 80 iz šampona i sapuna na *M. furfur* pokazalo je veliki utjecaj na staničnu stijenkku gljive. *Malasezije* imaju višeslojnu lipidima bogatu staničnu stijenkku koja ima ulogu u patogenosti ovih gljiva. Kod *M. furfur* uzgojenih u mediju koji je sadržavao detergense zabilježena je povećana produkcija proinflamatornih citokina u monocitima kao i promijenjena (stanjena) morfologija staničnog zida [65]. To može imati određenu ulogu u upalnim promjenama povezanim s *Malassezia spp.* [66,67,68]. U ovom istraživanju *M. furfur* uzgajalo se 3 dana u mediju koji je sadržavao detergense. Ipak mala je vjerojatnost da će se ove tvari toliko dugo zadržati na ljudskoj koži/kosi s obzirom da se kratko nakon upotrebe ispiru. Potrebna su daljnja istraživanja kako bi se utvrdio utjecaj kratkoročnog kontakta ovih tvari s kožom zahvaćenom oboljenjima koje ove gljive uzrokuju ili kojima posreduju.

3.4.3. Aminokiseline

Aminokiseline su prirodno prisutne u koži. U epidermisu nastaju proteolizom filagrina [78]. Dio su prirodnog faktora vlažnosti (NMF). Doprinosu očuvanju glatkoće kože i hidratacije. Topikalno primjenjene aminokiseline djeluju i kao antioksidansi.

Aminokiseline u kozmetičkim pripravcima i njihovo djelovanje:

- arginin igra ulogu u popravljanju vidljivih oštećenja kože
- histidin ima antioksidacijsku sposobnost i može umiriti kožu
- metionin neutralizira štetne tvari prije nego što mogu naštetiti koži
- lizin vidno učvršćuje površinu kože ojačavajući njene potporne elemente
- prolin, leucin i glicin umanjuju izgled finih linija i bora.

Malasezije imaju enzime za sintezu aminokiselina. *M. globosa* može sama sintetizirati svih 20 standardnih aminokiselina [79]. Aminokiseline iz okoline iskorištavaju kao izvor dušika [53].

Aminokiseline pozitivno utječu na rast. Primjerice dodavanje glicina, asparagina, tiamina i piridoksina kulturama povećava rast. [47,80].

Prilikom uzgoja *M. furfur* u agaru suplementiranom lipidima primijećeno je da dodavanje glicina potiče stvaranje hifa [81], a dodavanje triptofana stvaranje smeđeg pigmenta [82]. Ova dva pronalaska posebno su zanimljiva jer mogu objasniti pojavu PV i tamni pigment koji se nakuplja u lezijama.

3.4.4. Propilenglikol

Propilenglikol je polihidrični alkohol kao i glicerol, sorbitol i manitol. U kozmetičke pripravke dodaje se kao humektans, u prvom redu zato da pripravak očuva od gubitka vlage a zatim i da djeluje na mjestu primjene. Česti je sastojak krema, losiona i pasti za zube [61]. Prije pojave antimikotika koristio se za terapiju PV. Otopina u omjeru 1:1 propilenglikola i vode pokazala se učinkovita u liječenju i dugotrajnoj prevenciji PV [83]. Također kod seboroičnog dermatitisa tjemena otopina 15% propilenglikola, 50% etanola i 35% vode znatno je smanjila broj organizama u usporedbi s otopinom etanola i vode. Otopina propilenglikol dobro se podnosi na koži, lako nanosi i mogla bi poslužiti kao alternativa dugotrajnoj primjeni kortikosteroida u liječenju seboroičnog dermatitisa vlasišta [84].

3.4.5. Konzervansi

Konzervansi sprječavaju kvarenje kozmetičkih pripravaka ali i rast različitih vrsta mikroorganizama. Pripravci koji sadrže visoki udio vode posebno su osjetljivi na kvarenje. U proizvodnji najčešće se primjenjuju konzervansi tipa parabena međutim zbog štetnosti pojedinih parabena na ljudski organizam polako ih se zamjenjuje prirodnim konzervansima poput ekstrakta sjemenki grejpa, raznim kombinacijama eteričnih ulja i drugih biljnih ekstrakata i benzilnim alkoholima. Potrebna su ciljana istraživanja koja bi dokazala na koji način utječu na rast gljiva roda *Malassezia*.

3.4.6. Keratolitici

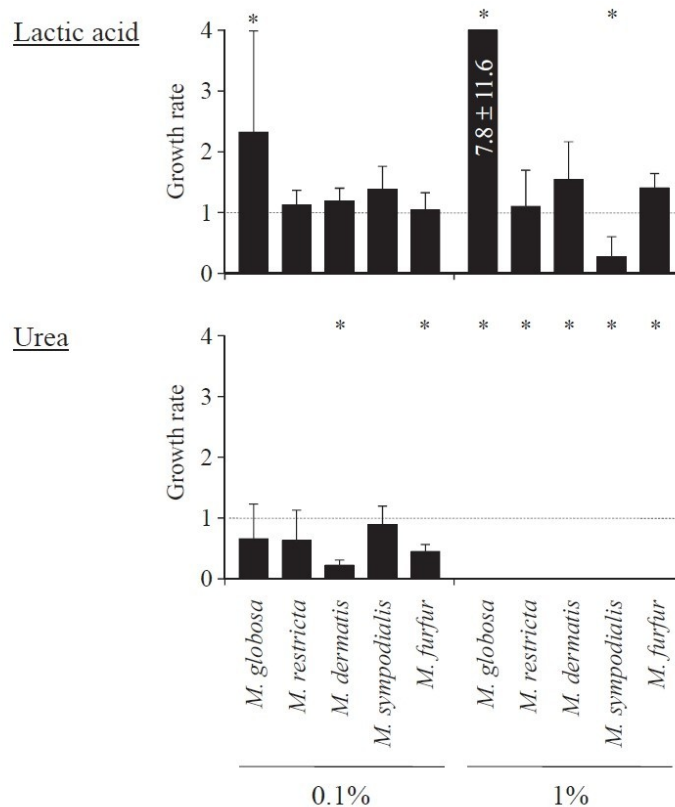
Primjena keratolitika važna je kod obrade i liječenja hiperkeratoličkih promjena. Veliki broj kožnih bolesti povezanih s *Malassezia spp.* karakteriziraju upravo hiperkeratoličke promjene. Također, keratolicima se postiže odstranjivanje odumrlih stanica kože, korneocita po kojima se nakupljaju mikroorganizmi što može povoljno utjecati na smanjivanje populacija *Malassezia spp.* na koži.

3.4.6.1. Urea

Urea je primarno humektans ali ima i keratolička svojstva. Omekšava kožu i poboljšava njenu elastičnost. Povoljno djeluje na zacjeljivanje kože. Čest je sastojak kozmetičkih pripravaka za suhu i prhutavu kožu i pripravaka protiv bora.

Ispitivanje utjecaja uree na *Malassezia spp.* pokazalo je da ima izrazita inhibitorna svojstva na rast. Čak i u malim koncentracijama od 0,1% postiže dobar učinak dok u većim od 1% smanjuje rast svih vrsta. Usporedno s ureom ispitivalo se i djelovanje **mliječne kiseline** koje je pokazalo da koncentracije od 1% značajno povećava rast *M. globosa* a smanjuje rast *M. sympodialis* a kod udjela od 0,1% primjećen je rast i *M. globosa* i *M. sympodialis* [87]. (Slika 13.)

Vjerojatno zbog svih ovih dobrih osobina urea je svoju primjenu našla kod atopijskog dermatitisa, psorijaze i seboroičnog dermatitisa, bolesti kože koje se povezuje s gljivama roda *Malassezia*.



Slika 13. Prikaz djelovanja pojedinih koncentracija uree i mliječne kiseline na *Malassezia spp.* Urea smanjuje rast svih ispitivanih vrsta pri udjelu od 1%, i *M. globosa*, *M. dermatitis* i *M. furfur* pri 0.1%. Mliječna kiselina pri 1% značajno povećava rast *M. globosa* a smanjuje rast *M. sympodialis*. Kod udjela od 0,1% primjećen je rast i *M. globosa* i *M. sympodialis*.

3.4.6.2. Salicilna kiselina (BHA)

Sam utjecaj salicilne kiseline na *Malassezia spp.* nije ispitivan ali ona posjeduje keratolitička, antiinflamatorna, antibakterijska i antimikotska svojstva koja su poželjna za kod kože oboljele malasezijama. Topljiva je u mastima pa ima dobra svojstva penetracije u pore i deskvamacije rožnatog sloja kože [85,86]. Zbog ovih svojstava česti je sastojak i proizvoda za liječenje akni. Salicilna kiselina ima široku primjenu od liječenja hiperpigmentacija, smanjenja bora do tretiranja virusnih bradavica.

3.4.6.3. Sumpor

Sumpor je prirodno prisutan u keratinu naše kože, kose i noktiju. Ima antimikotsko, antibakterijsko i keratolitičko djelovanje te potiče regeneraciju kože. U dermatologiji ima široku primjenu u liječenju

akni, rosacee, seboroičnog dermatitisa, pityriasis versicolor, psorijaze, atopijskog dermatitisa, folikulitisa, svraba i virusnih bradavica [93]. Nisu rađena ciljana istraživanja o djelovanju sumpora na gljive roda *Malassezia* međutim po njegovom djelovanju na koži (keratolitičko i antimikrobno) i po bolestima kože za koje se preporučuje može se zaključiti da povoljno djeluje na smanjenje simptoma bolesti.

3.4.6.4 Cink piritron i selen sulfid

Cink piritron i selen sulfid djeluju kreatolitički i antimikotski. Pokazuje inhibitorno djelovanje na rast *Malassezia spp.* Oba sastojka slabije djeluju od ketokonazola ali kod njih nije zabilježen razvoj rezistencije [90,91]. Česti su sastojci šampona protiv prhuti (Head and shoulders, Selsune blue). Vlasište sklono stvaranju prhuti ima abnormalan rožnati sloj. Cink piritron normalizira epitelizaciju abnormalnog rožnatog sloja i lučenja loja [92].

3.4.7. Biljni ekstrakti i eterična ulja

Antimikrobna aktivnost biljaka poznata je još iz narodne medicine. Budući da je problem rezistencije lijekova prisutan i kod patogenih gljiva, primjena biljnih ekstrakata i eteričnih ulja antimikrobnog djelovanja može nadopuniti pa čak i zamijeniti klasičnu antimikotsku terapiju *Malassezia spp.* Na ovom interesantnom području o utjecaju eteričnih ulja i biljnih ekstrakata na *in vitro* rast gljiva roda *Malassezia* rađeno je nekoliko istraživanja. Uglavnom je pri ispitivanju primjenjivana metoda disk difuzije te je za veliki broj ispitivanih tvari utvrđena čak veća zona inhibicije naspram ketokonazola.

Ispitivana su djelovanja različitih koncentracija eteričnih ulja. Uglavnom su najjaču antimikotsku aktivnost pokazivale veće koncentracije i nerazrijeđena eterična ulja. Međutim eterična ulja u kozmetici se uglavnom ne primjenjuju u nerazrijeđenom obliku. Također, veliki dio njih ne smije se stavljati u koncentriranom obliku direktno na kožu već se ovisno o mjestu primjene razrjeđuju na koncentracije od 0,5-10%. Ipak, djelovanje eteričnih ulja nije zanemarivo jer neka i pri nižim

koncentracijama postižu dobar učinak. Potrebna su daljnja istraživanja o antimikotskom djelovanju eteričnih ulja i biljnih ekstrakata za kozmetičku ali i terapijsku primjenu jer je problem nuspojava i rezistencija daleko veći kod lijekova nego kod eteričnih ulja i biljnih ekstrakata. Zato je ova skupina sastojaka vrijedan resurs u borbi protiv *Malassezia spp.*

Ekstrakti biljaka koje pokazuju dobru antimikotsku učinkovitost:

- *Aloe vera Tourn.* (list) djelovanje ispitivano na *M. furfur* u koncentracijama od 25, 50, 75 i 100% [96].
- *Phyllanthus emblica L.* (list) djelovanje ispitivano na *M. furfur* u koncentracijama od 25, 50, 75 i 100% [96].
- *Wrightia tinctoria Roxb.* (list) djelovanje ispitivano na *M. furfur* u koncentracijama od 25, 50, 75 i 100% [96].

Tablica 7. Antimikotsko djelovanje pojedinih koncentracija biljnih ekstrakata na *M. furfur* [96]

Naziv biljke/ antimikotika	Dio biljke	Koncentracija (%) i zona inhibicije (mm)			
		25	50	75	100
Aloe vera Tourn.	Omotač lista	5,31±1,24	8,0± 0,8	11,8±1,24	29,7±1,42
Eucaliptus globulus Labil	ulje	7,0±0,81	14,7±1,24	22,0±0,81	30,0±1,63
Phyllanthus emblica L	List	6,0±0,81	9,0±0,81	11,0±0,81	12,0±1,63
Wrightia tinctoria Roxb.	list	7,7±1,24	10,3±1,67	16,0±0,81	19,7±1,7
Klotrimazol	/	7,3±0,81	14,3±1,24	20,0±0,08	24,6±0,94

Eterična ulja koja pokazuju dobro *in vitro* antimikotsko djelovanje:

- *Eucalyptus globulus* Labil, djelovanje ispitivano na *M. furfur* u koncentracijama od 25, 50,75 i 100% [96]
- Eterično ulje celera pri koncentraciji od 1% i kao i isparavanje eteričnog ulja celera (volatile vapor) od 1ml/800ml zraka jako inhibiraju rast *M. furfur* [97]
- *Zataria multiflora*, minimalne inhibitorne koncentracije 30-850 µg/ml inhibira rast patogenih *Malassezia spp.* izoliranih s kože pasa koji boluju od AD [98]
- *Thymus kotschyanus*, minimalne inhibitorne koncentracije 30- 850 µg/ml inhibira rast patogenih *Malassezia spp.* izoliranih s kože pasa koji boluju od AD [98]
- *Allium sativum* L., *Carum carvi* L., *Coriandrum sativum* L., *Myroxylon balsamum* var. *pereirae* Royle, *Nepeta cataria* L., *Origanum vulgare* L., *Mentha pulegium* L., *Satureja hortensis* L., *Thymus vulgaris* L., *Cinnamomum zeylanicum* Blume, *Pimenta dioica* (L.) Merr., *Eugenia caryophyllata* Thumb.(pupoljak klinčića), *Eugenia caryophyllata* Thumb. (list klinčića), *Cymbopogon nardus* L., *Cymbopogon martinii* Stapf., *Citrus aurantifolia* Swing. i *Pimenta racemosa* (Mill.) pri koncentracijama od 2mg/ml pokazuju dobro inhibitorno djelovanje na rast *M. furfur*, usporedivo s itrakonazolom pri 2 mg/ml. Eterično ulje *Citrus aurantifolia* (limeta) pokazalo je čak jače djelovanje od itrakonazola [99].
- kombinacija eteričnog ulja kore cimeta (*Cinnamomum zeylanicum*) i ulja listova Kapur Tulsi (*Ocimum kilimandscharicum*) pri koncentraciji od 4µg/ml pokazuje jače antimikotsko djelovanje na *M. furuf* od ketokonazola i eteričnog ulja čajevca. Ova kombinacija sastojaka mogla bi biti glavni djelatni sastojak šampona protiv prhuti [101].
- *Lavandula stoechas*, *Cuminum cyminum*, *Artemisia sieberi*, eterična ulja pokazuju inhibicijsku aktivnost protiv kliničkih sojeva *Malassezia spp.* (tablica 8.) [102].
- ulje čajevca (*Melaleuca alternifolia*) pokazuje jako antimikotsko djelovanje na *Malassezia spp.* (tablica 9.) i čest je sastojak šampona protiv prhuti. Koncentracije mu u takvim proizvodima obično iznose od 5-10% [94]. Primjerice, šampon protiv prhuti koji sadrži 5% ulja čajevca efikasan je u liječenju blage do umjerene prhuti [95]. Problem ulja čajevca je

što sastojci tipa surfaktanta kompromitiraju njegov antimikrobni učinak [100] i što u velikim koncentracijama može dovesti do alergijskih reakcija i isušivanja kože.

Tablica 8. Antimikotička aktivnost (zona inhibicije rasta, milimetri) eteričnih ulja i referentnih antimikotika protiv kliničkih sojeva *Malassezia spp.* [102].

	<i>Lavandula stoechas</i>	<i>Cuminum cyminum</i>	<i>Artemisia sieberi</i>	Ketokonazol	Flukonazol
<i>M. furfur</i>	46,7±8,2	50,0±0,0	43,3±14,1	15,6±5,9	11,6±3,7
<i>M. globosa</i>	50,0±0,0	50,0±0,0	35±14,1	15,0±7,6	12,4±2,5
<i>M. obtusa</i>	43,7±12,5	50,0±0,0	32,5±11,9	12,5±5,0	13,3±1,5

Tablica 9. *In vitro* osjetljivost *Malassezia spp.* određivana testom difuzije u agaru [103]
MIK su mjerene kao volumeni postotak volumena čajevca i mikroorganizama i µg/ml za ketokonazol, mikonazol i ekonazol.

Organizam (br. testiranih izolata)	Sredstvo	MIK		
		Raspon	50%	90%
<i>M. furfur</i> (012)	Ulje čajevca	0.12–0.25	0.25	0.25
	Ketokonazol	0.03–0.25	0.06	0.25
	Mikonazol	4–16	8	16
	Ekonazol	4–16	16	16
<i>M. sympodialis</i> (32)	Ulje čajevca	0.016–0.25	0.25	0.25
	Ketokonazol	0.008–0.03	0.016	0.03
	Mikonazol	0.12–0.5	0.5	0.5
	Ekonazol	0.12–1	0.5	0.5
<i>M. slooffiae</i> (3)	Ulje čajevca	0.12–0.25		
	Ketokonazol	0.008–0.03		
	Mikonazol	2–4		
	Ekonazol	0.25–0.5		
<i>M. globosa</i> (5)	Ulje čajevca	0.03–0.12		
	Ketokonazol	0.008–0.016		
	Mikonazol	0.12–2		
	Ekonazol	0.25–0.5		
<i>M. obtusa</i> (2)	Ulje čajevca	0.12		
	Ketokonazol	0.008–0.016		
	Mikonazol	0.5–2		
	Ekonazol	0.5–4		

3.5. Utjecaj pH

pH vrijednost površine kože je između 4,1 (na vlasištu) i 7,2 (na stopalima) a na većini tijela je blago kisela. Srednja vrijednost iznosi oko 5,5. Većini mikroorganizama ovaj raspon ne predstavlja povoljnu sredinu za razvoja što nije slučaj s *Malassezia spp.* jer je optimalan pH raspon za njihov rast između 4,5 i 8,0 [88].

Kozmetički pripravci, bilo u obliku sapuna, šampona, krema i ostalih proizvoda imaju određenu pH vrijednost koja može nepovoljno utjecati na obrambene mogućnosti kožne barijere. Iako se zakiseljavanjem kože mogu stvoriti uvjeti nepovoljni za rast *Malassezia spp.* treba biti oprezan prilikom korištenja pripravaka koji agresivno djeluju na kožu. Alkalni ili čak neutralni pripravci remete protektivnu funkciju kože čineći je suhom i podložnijom bakterijskim upalama.

Primjećeno je da povišeni pH kože atopičara doprinosi povećanoj produkciji alergena od strane *M. sympodialis* u odnosu na normalan pH kože [89].

Prilikom njege kože treba se pridržavati blago kiselih proizvoda koji je pomoći očuvanju prirodne kiselosti i omogućiti bolje zadržavanje vode u koži.

4. RASPRAVA

Površinu naše kože prekrivaju milijuni mikroorganizama, većina njih ima blagotvorni učinak na domaćina i doprinosi imunološkoj homeostazi. Gljive roda *Malassezia* predstavljaju 50-80% ukupnog kožnog mikrobioma. Trenutno nije poznato da li *Malassezia spp.* doprinose imunološkoj homeostazi. U prikladnim uvjetima uzročnici su brojnih kroničnih dermatozama. Terapija se temelji na primjeni antimikotika i antiseptika. Međutim, iako ove bolesti nisu opasne po zdravlje, zbog narušenog izgleda kože, recidiva, rezistencije na lijekove i pogrešnog dijagnosticiranja bolesti liječenje je često dugotrajno i neuspješno.

Gotovo sve vrste *Malassezia spp.* za rast trebaju lipide koje iskorištavaju iz okoline u kojoj se nalaze. Njihovo stanište je rožnati sloj kože (sastavljen od 50% ceramida, 25% kolesterola i 15% slobodnih masnih kiselina) koji obiluje slobodnim masnim kiselinama.

Lipidna ovisnost može se objasniti na primjeru *M. globosa* kojoj je dokazana odsutnost gena za sintezu masnih kiselina. Iako nema istraživanja sa svim vrstama koje nastanjuju ljudsku kožu, pretpostavka je da ih većina, poput *M. globosa*, ne sadrži gen za sintezu miristinske kiseline koja je prekursor u sintezi dugolančanih masnih kiselina. Nemogućnost sinteze masnih kiselina kompenzirana je enzimima kojima malasezije razgrađuju lipide prisutne na koži [55].

Proučavanjem stručnih radova učinjen je pregled najčešćih sastojaka kozmetičkih pripravaka koji mogu imati pozitivan i negativan učinak na rast gljiva roda *Malassezia*.

Tipični kozmetički pripravak sadrži između 15-50 sastojaka. Glavni sastojci su voda, emulgator, konzervans, zgušnjivač, masne tvari, miris i stabilizator pH vrijednosti.

Poseban problem za kožu sklonu malasezija dermatozama predstavljaju sastojci bogati masnim kiselinama dužine lanca između 12-24 atoma ugljika. Prvenstveno su to ulja, maslaci i voskovi biljnog i životinjskog porijekla jer su bogati masnim kiselinama u formi triaglicerida, estera i fosfolipida koje *Malassezia spp.* razgrađuju na potrebne masne kiseline. Primjerice, za palmitinsku i oleinsku kiselinu potvrđeno je da induciraju stvaranje micelija kod *M. furfur*. Micelij, odnosno prisutnost hifa karakteristična je forma u kojoj se *M. furfur* nalazi kod patoloških stanja, ponajprije pityriasis versicolor.

Malassezia spp. koje nastanjuju ljudsku kožu hrane se masnim kiselinama čija duljina ugljikovog lanca iznosi između 12 i 24 atoma ugljika. Masne kiseline kraćih lanaca tipa kaprinska, kaprilna i kapronska pokazuju antimikrobni učinak prema malasezijama.

Esteri masnih kiselina koji se dodaju u kozmetičke pripravke spojevi su alkohola (etilni, glikolni, alkilni, izopropilni, cetilni...) s masnim kiselinama. *Malassezia spp.* sposobne su hidrolizirati estere masnih kiselina i iskorištavati ih kao izvor hrane. Najbolje hidroliziraju etilne estere masnih kiselina. Kombinacijom masnih kiselina kraćih lanaca (do 10 atoma ugljika) i etanola nastaju esteri masnih kiselina koje su *Malassezia spp.* vrlo efikasno hidrolizirale, a hidrolizom bi se oslobađale masne kiseline za koje je potvrđeno da nepovoljno djeluju na rast. Etilni esteri masnih kiselina kraćih lanaca također su jeftini, prirodnog okusa, netoksični i nisu alergeni što ih čini pogodnim sastojcima kozmetičkog pripravka za kožu oboljelu malasezijama.

Poseban problem predstavljaju kompleksni emulgatori koji se koriste u kozmetičkim pripravcima jer sadrže smjese raznih estera masnih kiselina i ostalih sastojaka. Za emulgatore tipa polisorbata je dokazano da poboljšavaju rast *Malassezia spp.*, između ostalog, oni se koriste i pri uzgoju u kulturama. Srećom na tržištu su dostupni emulgatori koji nemaju utjecaj na rast kao što su masni alkoholi Lanette E i N.

Aminokiseline potiču rast *Malassezia spp.* i povezuje ih se sa stvaranjem hifa (micelij) i smeđeg pigmenta koji su karakteristični za pityriasis versicolor.

Keratolitici odstranjuju odumrle stanice kože i time smanjuju broj malasezija a pokazuju i dobro antimikrobno djelovanje. Posebno vrijedan keratolitik je urea koja čak i u malim koncentracijama inhibira rast *Malassezia spp.* Urea u manjim koncentracijama djeluje kao humektans, omekšava kožu i poboljšava njenu elastičnost. Osim uree i drugi keratolitici kao sumpor, cink piriton i selen sulfid dovode do smanjenja simptoma malasezija dermatoza.

Biljni ekstrakt Aloe vere pokazuje izuzetno antimikotsko djelovanje na *M. furur*, usporedivo s klotrimazolom, a poznato je i njegovo blagotvorno djelovanje na kožu.

Od eteričnih ulja, najbolja antimikotska djelovanja pokazuju ulje čajevca (*Melaleuca alternifolia*), eukaliptusa (*Eucalyptus globulus*), limete (*Citrus aurantifolia*) te kombinacija eteričnog ulja kore

cimeta (*Cinnamomum zeylanicum*) i eteričnog ulja listova Kapur Tulsi (*Ocimum kilimandscharicum*). Budući da je problem rezistencije azola prisutan i kod liječenja malasezija dermatosa, primjena biljnih ekstrakata i eteričnih ulja antimikrobnog djelovanja može nadopuniti pa čak i zamijeniti klasičnu terapiju antimikoticima.

Propilenglikol također pokazuje dobra antimikrobna svojstva prema *Malassezia spp.* Prije pojave antimikotika koristio se u terapiji pityriasis versicolor i seboroičnog dermatitisa.

Od ostalih korisnih sastojaka izdvojiti treba još i ulje skvalana koje je nekomedogeno, hidratizira, poboljšava regenerativnu sposobnost kože, obnavlja elastičnost, stabilno je na oksidaciju i nema utjecaja na rast *Malassezia spp.*

Sastojci za koje nema dovoljno istraživanja koja bi potvrdila stimulatívno djelovanje na rast *Malassezia spp.* su ceramidi i kolesterol.

Interakcije malasezija s kožom i drugim dijelovima mikroflore kože nisu do kraja razjašnjene. Novija istraživanja ukazuju na velike varijacije u vrstama koje nastanjuju kožu s obzirom na dob, spol i zemljopisnu lokaciju. Nemaju sve vrste iste metaboličke potrebe pa tako i djelovanje kozmetičkih pripravaka na njihove populacije i rast ne mora biti kod svakoga isto.

Iz mnoštva rasprava i iskustava ljudi koji boluju od dermatosa izazvanih ovim gljivama može se zaključiti da izbacivanjem određenih sastojaka iz kozmetičkih pripravaka postiže smanjenje simptoma i recidiva bolesti. Pretpostavka je da bi se formulacijom pripravaka koji sadrže sastojke koji ne pospješuju rast *Malassezia spp.* i onih koji imaju prirodno antimikotsko i keratolitičko djelovanje moglo dovesti do kontrole nad populacijama *Malassezia spp.* na koži a time i smanjenja simptoma i recidiva bolesti.

Potrebna su ciljana istraživanja na području utjecaja sastojaka kozmetičkih pripravaka na kožu oboljelu gljivama roda *Malassezia*.

5. ZAKLJUČAK

Na području utjecaja sastojaka kozmetičkih pripravaka na kožu oboljelu malasezijama nema veliki broj istraživanja.

Na temelju pregleda dostupne literature o uzgoju *Malassezia spp.* u kulturama i *in vitro* utjecaju sastojaka koji se često nalaze u kozmetičkim sastojcima može se zaključiti sljedeće:

- masne kiseline i esteri masnih kiselina dužine lanca od 12 do 24 atoma ugljika potiču rast *Malassezia spp.*
- masne kiseline i esteri masnih kiselina kraćih lanaca imaju antimikotsko djelovanje jer negativno utječu na rast *Malassezia spp.*
- fitosfingozin u malim koncentracijama ima pozitivan utjecaj na rast *M. furfur.*
- pojedini emulgatori pozitivno utječu na rast *Malassezia spp.* pa je potrebno obratiti pažnju na njihov sastav
- aminokiseline pozitivno utječu na rast *Malassezia spp.*
- propilenglikol smanjuje rast *Malassezia spp.*
- primjena keratolitika odstranjuje s kože *Malassezia spp.*
- pojedina eterična ulja i biljni ekstrakti pokazuju značajno antimikotsko djelovanje

Korištenjem kozmetičkih pripravaka na kožu se nanose brojni sastojci (uglavnom esteri masnih kiselina) koji malasezijama osiguravaju dodatan izvor hrane. U prikladnim uvjetima takvi sastojci mogu pogoršati simptome i izazvati recidive bolesti kože uzrokovanih gljivama ovog roda.

Malassezia spp. su sastavni dio kožnog mikrobioma, cilj liječenja ne mora nužno biti eradikacija s kože već kontrola populacije i održavanje homeostaze.

Potrebna su ciljana istraživanja o utjecaju sastojaka kozmetičkih pripravaka na rast *Malassezia spp.* kako bi se formirali pripravci pogodni za tretiranje kože oboljelih.

6. LITERATURA

1. Inamadar AC, Palit A. The genus *Malassezia* and human disease. Indian J Dermatol Venereol Leprol [Internet]. 2003 Jul-Aug;69(4):265-70. Available from:
<http://www.ijdvl.com/text.asp?2003/69/4/265/4990>
2. Gaitanis G, Magiatis P, Hantschke M, Bassukas ID, Velegraki A. The *Malassezia* genus in skin and systemic diseases. Clin Microbiol Rev [Internet]. 2012 Jan;25(1):106-41. doi: 10.1128/CMR.00021-11. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22232373>
3. Harada K, Saito M, Sugita T, Tsuboi R. *Malassezia* species and their associated skin diseases. J Dermatol [Internet]. 2015 Mar;42(3):250-7. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25736318>
4. Hay RJ. Introduction: *Malassezia* Yeasts from a Historical Perspective. In: Boekhout T, Guého-Kellermann E, Mayser P, Velegraki A. *Malassezia* and the Skin Springer Heidelberg Dordrecht London New York 2010 p.1-16
5. Ashbee HR. Update on the genus *Malassezia*. Med Mycol [Internet]. 2007;45:287-303. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17510854>
6. Guého-Kellermann E, Boekhout T, Begerow D. Biodiversity, Phylogeny and Ultrastructure. In: Boekhout T, Guého-Kellermann E, Mayser P, Velegraki A. *Malassezia* and the Skin Springer Heidelberg Dordrecht London New York 2010 p.17-65
7. Cafarchia C, Gasser RB, Figueredo LA, Latrofa MS, Otranto D. Advances in the identification of *Malassezia*. Mol Cell Probes [Internet]. 2011 Feb;25(1):1-7. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21193026>
8. Gupta AK. Molecular identification of *Malassezia* species by amplified fragment length polymorphism (AFLP) and sequence analyses of the internal transcribed spacer (ITS) and large subunit (LSU) regions of ribosomal DNA. J Clin Microbiol.[Internet]. 2004 Sep; 42(9): 4253–4260. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC516278/>
9. Theelen B, Cafarchia C, Gaitanis G, Bassukas I, Boekhout T, Dawson T. *Malassezia* ecology, pathophysiology, and treatment. Med Mycol [Internet]. 2018 Apr 1;56(suppl_1):S10-S25. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29538738>
10. Pedrosa AF, Lisboa C, Goncalves Rodrigues A. *Malassezia* infections: A medical conundrum. J Am Acad Dermatol [Internet]. 2014 Jul;71(1):170-6. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24569116>

11. Sparber F, LeibundGut-Landmann S. Host Responses to *Malassezia* spp. in the Mammalian Skin. *Front Immunol* [Internet]. 2017 Nov 22;8:1614. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5702624/>
12. Hay RJ, Moore M. Mycology. In: Champion RH, Burton JL, Burns DA, Breathnach SM, editors. *Textbook of dermatology*. 6th ed. Oxford: Blackwell Science; 1998. p. 1277-376.
13. Kwon-Chung KJ, Bennett JE. Infections caused by *Malassezia* species. In: *Medical mycology*. Philadelphia: Lea and Febiger; 1992. p. 70-182.
14. Tragiannidis A, Bisping G, Koehler G, Andreas H, Groll AH. Minireview: *Malassezia* infections in immunocompromised patients. *Mycoses* [Internet]. 2010 May;53(3):187-95. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20028460>
15. Ashbee HR, Evans EG. Immunology of diseases associated with *Malassezia* species. *Clin Microbiol Rev*. 2002 Jan;15(1):21-57. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11781265>
16. Pohrić A. Psoriasis and *Malassezia* yeasts. In: O'Daly J. *Psoriasis - A Systematic Disease*. IntechOpen [Internet]. 2012 March 16th DOI: 10.5772/27319 Available from: <https://www.intechopen.com/books/psoriasis-a-systemic-disease/psoriasis-and-malassezia-yeasts>
17. Erchiga VC, Hay RJ. Pityriasis Versicolor and Other *Malassezia* Skin Diseases. In: Boekhout T, Guého-Kellermann E, Mayser P, Velegriaki A. *Malassezia* and the Skin Springer Heidelberg Dordrecht London New York 2010 p.175-200
18. Thayikkannu AB, Kindo AJ, Veeraraghavan M. *Malassezia*—Can it be Ignored? *Indian J Dermatol* [Internet]. 2015 Jul-Aug; 60(4): 332–339. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4533528/>
19. Faergemann J, Gupta AK, Al Mofadi A et al. Efficacy of itraconazole in the prophylactic treatment of pityriasis (tinea) versicolor. *Arch Dermatol* [Internet]. 2002 Jan;138(1):69-73. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11790169>
20. Faergemann J, Fredriksson T. Propylene glycol in the treatment of pityriasis versicolor. *Acta Derm Venereol* [Internet]. 1980;60(1):92-3. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6153851>
21. Akaza N, Akamatsu H, Sasaki Y et al. *Malassezia* folliculitis is caused by cutaneous resident *Malassezia* species. *Med Mycol* [Internet]. 2009; 47: 618–624. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18949624>
22. George G, Mayser P, Scheynius A, Crameri R. *Malassezia* Yeasts in Seborrheic and Atopic Eczemas. In: Boekhout T, Guého-Kellermann E, Mayser P, Velegriaki A. *Malassezia* and the Skin Springer Heidelberg Dordrecht London New York 2010 p.201-229
23. Tragiannidis A, Bisping G, Koehler G, Andreas H, Groll AH. Minireview: *Malassezia* infections in immunocompromised patients. *Mycoses* [Internet]. 2010 May;53(3):187-95. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20028460>

24. Gupta AK, Batra R, Bluhm R, et al. Skin diseases associated with *Malassezia* species. J Am Acad Dermatol [Internet] 2004 Nov;51(5):785-98. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15523360>

25. Tajima M, Sugita T, Nishikawa A, et al. Molecular analysis of *Malassezia* microflora in seborrheic dermatitis patients: comparison with other diseases and *healthy* subjects. J Invest Dermatol [Internet]. 2008 Feb;128(2):345-51. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17671514>

26. Levin NA, Delano S. Evaluation and treatment of *Malassezia* related skin disorders. Cosmet Dermatol [Internet]. 2011 March; 24(3):137-145. Available from:

https://www.researchgate.net/publication/286292384_Evaluation_and_treatment_of_Malassezia-related_skin_disorders

27. Parry ME, Sharpe GR. Seborrheic dermatitis is not caused by an altered immune response to *Malassezia* yeast. Br J Dermatol [Internet]. 1998 Aug;139(2):254-63.

28. Faergemann J, Bergbrant IM, Dohsé M et al. Seborrhoeic dermatitis and Pityrosporum (*Malassezia*) folliculitis: characterization of inflammatory cells and mediators in the skin by immunohistochemistry. Br J Dermatol (2001) 144:549–556. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9767239>

29. Wessels MW, Doekes G, Van Ieperen-Van Dijk AG, Koers WJ, Young E. IgE antibodies to Pityrosporum ovale in atopic dermatitis. Br J Dermatol [Internet]. 1991 Sep;125(3):227-32. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1911314>

30. Broberg A, Faergemann J, Johansson S, Johansson SGO, Strannegard IL, Svejgaard E. Pityrosporum ovale and atopic dermatitis in children and young adults. Acta Derm Venereol. 1992;72(3):187-92. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1357856>

31. Bayrou O, Pecquet C, Flahault C, Artigou C, Abuaf N, Leynadier F. Head and neck atopic dermatitis and *Malassezia-furfur*-specific IgE antibodies. Dermatology [Internet]. 2005;211(2):107-13. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16088155>

32. Back O, Scheynius A, Johansson SGO. Ketoconazole in atopic dermatitis: therapeutic response is correlated with decrease in serum IgE. Arch Dermatol Res [Internet]. 1995;287(5):448-51. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7625855>

33. Broberg A, Faergemann J. Topical antimycotic treatment of atopic dermatitis in the head/neck area. A double-blind randomised study. Acta Derm Venereol [Internet]. 1995 Jan;75(1):46-9.

Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7747534>

34. Bäck O, Bartosik J. Systemic ketoconazole for yeast allergic patients with atopic dermatitis. J Eur Acad Dermatol Venereol [Internet]. 2001 Jan;15(1):34-8. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11451319>

35. Svejgaard E, Larsen P Ø, Deleuran M, Ternowitz T, Roed-Petersen J, Nilsson J. Treatment of head and neck dermatitis comparing itraconazole 200 mg and 400 mg daily for 1 week with placebo. J Eur Acad Dermatol Venereol [Internet]. 2004 Jul;18(4):445-9. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15196159>

36. Ikezawa Z, Kondo M, Okajima M, Nishimura Y, Kono M. Clinical usefulness of oral itraconazole, an antimycotic drug, for refractory atopic dermatitis. Eur J Dermatol [Internet]. 2004 Nov-Dec;14(6):400-6. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15564204>

37. Scalabrin DM, Bavbek S, Perzanowski MS, Wilson BB, Platts-Mills TA, Wheatley LM. Use of specific IgE in assessing the relevance of fungal and dust mite allergens to atopic dermatitis: A comparison with asthmatic and nonasthmatic control subjects. J Allergy Clin Immunol [Internet]. 1999 Dec;104(6):1273-9. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10589012>

38. Brodska P, Panzner P, Pizinger K, Schmid-Grendelmeier P. IgE-mediated sensitization to *Malassezia* in atopic dermatitis: More common in male patients and in head and neck type. Dermatol [Internet]. 2014 May-Jun;25(3):120-6. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10589012>

39. Lange L, Alter N, Keller T, Rietschel E. Sensitization to *Malassezia* in infants and children with atopic dermatitis: Prevalence and clinical characteristics. Allergy [Internet]. 2008 Apr;63(4):486-7. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18315742>

40. Glatz M, Bosshard PP, Hoetzenecker W, Schmid-Grendelmeier P. The Role of *Malassezia* spp. in Atopic Dermatitis. J Clin Med [Internet]. 2015 Jun; 4(6): 1217–1228. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4484996/>

41. Glatz M, Buchner M, von Bartenwerffer W, Schmid-Grendelmeier P, Worm M, Hedderich J, Folster-Holst R. *Malassezia* spp.-specific Immunoglobulin E Level is a Marker for Severity of Atopic Dermatitis in Adults. Acta Derm Venereol [Internet]. 2015 Feb;95(2):191-6. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24696225>

42. Sandstrom Falk MH, Faergemann J. Atopic dermatitis in adults: Does it disappear with age? Acta Derm Venereol [Internet]. 2006;86(2):135-9. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16648916>

43. Ramirez de Knott HM, McCormick TS, Kalka K, Skandamis G, Ghannoum MA, Schluchter M, et al. Cutaneous hypersensitivity to *Malassezia sympodialis* and dust mite in adult atopic dermatitis with a textile pattern. Contact Dermatitis [Internet]. 2006 Feb;54(2):92-9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16487281>
44. Sugita T, Boekhout T, Velegraki A, Guillot J, Hađina S, Cabañes FJ. Epidemiology of *Malassezia*-Related Skin Diseases. In: Boekhout T, Guého-Kellermann E, Mayser P, Velegraki A. *Malassezia* and the Skin Springer Heidelberg Dordrecht London New York 2010 p 65-120
45. Kesavan S, Holland KT, Ingham E. The effects of lipid extraction on the immunomodulatory activity of *Malassezia* species *in vitro*. Med Mycol [Internet] . 2000 Jun;38(3):239-47. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10892993>
46. Kesavan S, Walters CE, Holland KT, Ingham E. The effects of *Malassezia* on pro-inflammatory cytokine production by human peripheral blood mononuclear cells *in vitro*. Med Mycol [Internet]. 1998 Apr;36(2):97-106. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9776820>
47. Porro MN, Passi S, Caprilli F, Nazzaro P, Morpurgo G. Growth requirement and lipid metabolism of *Pityrosporum orbiculare*. J Invest Dermatol [Internet]. 1976 Mar;66(3):178-82. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1249447>
48. Xu J, Saunders CW, Hu P, Grant RA, Boekhout T, Kuramae EE, et al. Dandruff-associated *Malassezia* genomes reveal convergent and divergent virulence traits shared with plant and human fungal pathogens. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 2007 Nov 20;104(47):18730-5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18000048>
49. Caprilli F, Mercantini R, Nazzaro Porro M, Passi S, Tonolo A. Studies of the genus *Pityrosporum* in submerged culture. Mycopathol Mycol Appl [Internet]. 1973 Nov 15;51(2):171-89. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4128616>
50. Porro MN, Passi S, Caprilli F, Mercantini R. Induction of hyphae in cultures of *Pityrosporum* by cholesterol and cholesterol esters. J Invest Dermatol [Internet]. 1977 Dec;69(6):531-4. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/925376>
51. Riciputo RM, Oliveri S, Micali G, Sapuppo A. Phospholipase activity in *Malassezia furfur* pathogenic strains. Mycoses [Internet]. 1996 May-Jun;39(5-6):233-5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8909036>

52. Mayser P, Gaitanis G. Physiology and Biochemistry. In: Boekhout T, Guého-Kellermann E, Mayser P, Velegraki A. *Malassezia* and the Skin Springer Heidelberg Dordrecht London New York 2010 p 121-139
53. Mayser P, Imkampe A, Winkeler M, Papvassilis C. Growth requirements and nitrogen metabolism of *Malassezia furfur*. Arch. Dermatol [Internet]. 1998 May;290(5):277-82. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9681680>
54. Brotherton. The sulphur metabolism of *P. Ovale* and its inhibition by selenium compounds. J Gen Microbiol [Internet]. 1967 Dec;49(3):393-400. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5582657>
55. Xu J, Boekhout T, DeAngelis Y, Dawson T, Saunders CW. Genomics and Pathophysiology: Dandruff as a Paradigm. In:Boekhout T, Guého- Kellermann E, Mayser P, Velegraki A. *Malassezia* and the Skin. London, New York: Springer Heidelberg Dordrecht; 2010. p.252-269.
56. Nelson SC, Yau YC, Richardson SE, Matlow AG. Improved detection of *Malassezia* species in lipid-supplemented Peds Plus blood culture bottles. J Clin Microbiol [Internet]. 1995 Apr; 33(4): 1005–1007. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC228086/>
57. Mayser P, Führer D, Schmidt R, Gründer K. Hydrolysis of fatty acid esters by *Malassezia furfur*: different utilization depending on alcohol moiety. Acta Derm Venereol [Internet]. 1995 Mar;75(2):105-9. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7604636>
58. Mayser P. Medium chain fatty acid ethyl esters – activation of antimicrobial effects by *Malassezia* enzymes. Mycoses [Internet]. 2015 Apr;58(4):215-9. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25676074>
59. Huang CB, Alimova Y, Myers TM, Ebersole JL. Short- and mediumchain fatty acids exhibit antimicrobial activity for oral microorganisms. Arch Oral Biol [Internet]. 2011 Jul;56(7):650-4. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21333271>
60. Mayser P, Haze P, Papavassilis C, Pickel M, Gruender K, Guého E. Differentiation of *Malassezia* species: selectivity of cremophor EL, castor oil and ricinoleic acid for *M. furfur*. Br J Dermatol [Internet]. 1997 Aug;137(2):208-13. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9292068>
61. Čajkovac M. Kozmetologija. 2. izdanje. Naklada Slap. Zagreb 2000.
62. Guého E, Midgley G, Guillot J. The genus *Malassezia* with description of four new species. Antonie van Leeuwenhoek [internet].1996 May;69(4):337-55. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8836432>

63. Cabañes FJ, Coutinho SDA, Puig L, Bragulat MR, Castellá G. New lipid-dependent *Malassezia* species from parrots. Rev Iberoam Micol [Internet]. 2016 Apr-Jun;33(2):92-9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27184440>
64. Honnavar P, Prasad GS, Ghosh A, Dogra S, Handa S, Rudramurthy SM. *Malassezia arunalokei* sp. nov., a novel yeast species isolated from seborrheic dermatitis patients and healthy individuals from India. J Clin Microbiol [Internet]. 2016 Jul;54(7):1826-1834. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27147721>
65. Kim SH, Ko HC, Kim MB, Kwon KS, Oh CK. The Effect of Detergents on the Morphology and Immunomodulatory Activity of *Malassezia furfur*. Ann Dermatol [internet]. 2009 May;21(2):130-5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20523770>
66. Kesavan S, Holland KT, Ingham E. The effects of lipid extraction on the immunomodulatory activity of *Malassezia* species in vitro. Med Mycol [Internet]. 2000 Jun;38(3):239-47. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10892993>
67. Ishibashi Y, Sugita T, Nishikawa A. Cytokine secretion profile of human keratinocytes exposed to *Malassezia* yeasts. FEMS Immunol Med Microbiol [Internet]. 2006 Dec;48(3):400-9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17069617>
68. Oh C, Kim A, Kuo I, Krutzik SR, Liu PT, Sieling PA, et al. Lipids on the *Malassezia furfur* cell wall inhibit proinflammatory cytokine production in human monocytes by downregulating the toll-like receptor 2: immunomodulatory role of *Malassezia furfur*. J Invest Dermatol. 2005;124:A127.
69. Bowe PW, Logan AC. Clinical implications of lipid peroxidation in acne vulgaris: old wine in new bottles Lipids Health Dis. 2010; 9: 141. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3012032/>
70. Jourdain R, Moga A, Vingler P, el Rawadi C, Pouradier F, Souverain L, et al. Exploration of scalp surface lipids reveals squalene peroxide as a potential actor in dandruff condition. Arch Dermatol Res [Internet]. 2016 Apr;308(3):153-63. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4796319/>
71. De Luca C, Picardo M, Breathnach A, Passi S. Lipoperoxidase activity of *Pityrosporum*: characterisation of by-products and possible role in pityriasis versicolor. Exp Dermatol [Internet]. 1996 Feb;5(1):49-56. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8624612>
72. Nazzaro-Porro M, Passi S, Caprilli F, Mercantini R. Induction of hyphae in cultures of *Pityrosporum* by cholesterol and cholesterol esters. J Invest Dermatol [Internet]. 1977 Dec;69(6):531-4. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/925376>

73. Saadatzadeh MR, Ashbee HR, Holland KT, Ingham E. Production of the mycelial phase of *Malassezia in vitro*. Med Mycol [Internet]. 2001 Dec;39(6):487-93. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11798054>
74. Zeichner JA, Del Rosso JQ. Multivesicular Emulsion Ceramide-containing Moisturizers: An Evaluation of Their Role in the Management of Common Skin Disorders J Clin Aesthet Dermatol [Internet]. 2016 Dec; 9(12): 26–32. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5300724/>
75. Mao C, Obeid LM. Ceramidases: regulators of cellular responses mediated by ceramide, sphingosine, and sphingosine-1-phosphate. Biochim Biophys Acta [Internet]. 2008 Sep; 1781(9): 424–434. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2614331/>
76. Nenoff P, Haustein UF. *In vitro* Activity of Phytosphingosines against *Malassezia furfur* and *Candida albicans*. Acta Derm Venereol [Internet]. 2002;82(3):170-3. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12353705>
77. Pavicic T, Wollenweber U, Farwick M, Korting HC. Anti-microbial and -inflammatory activity and efficacy of phytosphingosine: an in vitro and in vivo study addressing acne vulgaris. Int J Cosmet Sci [Internet]. 2007 Jun;29(3):181-90. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18489348>
78. Rawlings AV, Harding CR. Moisturization and skin barrier function. Dermatol Ther [Internet]. 2004;17 Suppl 1:43-8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14728698>
79. Tauch A, Kaiser O, Hain T, Goesmann A, Weisshaar B, Albersmeier A, et al. Complete genome sequence and analysis of the multiresistant nosocomial pathogen *Corynebacterium jeikeium* K411, a lipid-requiring bacterium of the human skin flora. J Bacteriol [Internet]. 2005 Jul;187(13):4671-82. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15968079>
80. Murai T, Nakamura Y, Kano R, Watanabe S, Hasegawa A. Differentiation of *Malassezia furfur* and *Malassezia sympodialis* by glycine utilization. Mycoses [Internet]. 2002 Jun;45(5-6):180-3. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12100536>
81. Dorn M, Roehnert K. Dimorphism of *Pityrosporum orbiculare* in a defined culture medium. J Invest Dermatol [Internet]. 1977 Aug;69(2):244-8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/881572>
82. Mayser P, Wille G, Imkamp A Thoma W, Arnold N, Monsees T. Synthesis of fluorochromes and pigments in

- Malassezia furfur* by use of tryptophan as single nitrogen source. Mycoses [Internet]. 1998 Sep-Oct;41(7-8):265-71. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9861829>
83. Faergemann J, Fredriksson T. Propylene glycol in the treatment of pityriasis versicolor. Acta Derm Venereol [Internet]. 1980;60(1):92-3. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6153851>
84. Faergemann J. Propylene glycol in the treatment of seborrheic dermatitis of the scalp: a double-blind study. Cutis [Internet]. 1988 Jul;42(1):69-71. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2974411>
85. Hartmann AA. The influence of various factors on the human resident skin flora. Semin Dermatol [Internet]. 1990 Dec;9(4):305-8. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2285575>
86. Roberts DL, Marshall R, Marks R. Detection of the action of salicylic acid on the normal stratum corneum. Br J Dermatol [Internet]. 1980 Aug;103(2):191-6. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7426416>
87. Akaza N, Akumatsu H, Takeoka S, Sasaki Y, Mizutani H, Nakata S, et. al. *Malassezia globosa* tends to grow actively in summer conditions more than other cutaneous *Malassezia* species. J Dermatol [Internet]. 2012 Jul;39(7):613-6. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/m/pubmed/22229642/>
88. Matousek JL, Campbell KL, Kakoma I et al. Evaluation of the effect of pH on *in vitro* growth of *Malassezia pachydermatis*. Can J Vet Res [Internet]. 2003 Jan; 67(1): 56–59. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC227028/#!po=68.7500>
89. Selander C, Zargari A, Möllby R, Rasool O, Scheynius A. Higher pH level, corresponding to that on the skin of patients with atopic eczema, stimulates the release of *Malassezia sympodialis* allergens. Allergy [Internet]. 2006 Aug;61(8):1002-8. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16867055>
90. Gupta AK, Nicol K, Batra R. Role of antifungal agents in the treatment of seborrheic dermatitis. Am J Clin Dermatol [Internet]. 2004;5(6):417-22. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15663338>
91. Van Cutsem J, Van Gerven F, Franssen J, Schrooten P, Janssen PA. The *in vitro* antifungal activity of ketoconazole, zinc pyrithione, and selenium sulfide against *Pityrosporum* and their efficacy as a shampoo in the treatment of experimental pityrosporiasis in guinea pigs. J Am Acad Dermatol [Internet]. 1990 Jun;22(6 Pt 1):993-8. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2142498>
92. Warner RR, Schwartz JR, Boissy Y, Dawson TL Jr. Dandruff has an altered stratum corneum ultrastructure that is improved with zinc pyrithione shampoo. J Am Acad Dermatol [Internet]. 2001 Dec;45(6):897-903. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11712036>

93. Gupta AK , Nicol K. The use of sulfur in dermatology. J Drugs Dermatol [Internet]. 2004 Jul-Aug;3(4):427-31. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15303787>

94. Nenoff P, Haustein UF and Brandt W. Antifungal activity of the essential oil of tea tree against pathogenic fungi, *in vitro*. Skin Pharmacol [Internet]. 1996; 9: 388-394 Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9055360>

95. Andrew C, Satchell MB, Anne S, Craig B, Ross C. Treatment of dandruff with 5% tea tree oil shampoo. J Am Acad Dermatol [Internet]. 2002 Dec;47(6):852-5. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12451368>

96. Vijayakumar R, Muthukumar C, Kumar T, Saravanamuthu R. Characterization of *Malassezia Furfur* and its control by using plant extracts. Indian J Dermatol [Internet]. 2006;51:145-8 Available from:

<http://www.e-ijid.org/article.asp?issn=0019->

[5154;year=2006;volume=51;issue=2;spage=145;epage=148;aulast=Vijayakumar](http://www.e-ijid.org/article.asp?issn=0019-5154;year=2006;volume=51;issue=2;spage=145;epage=148;aulast=Vijayakumar)

97. Chee HY, Lee MH. In vitro Activity of Celery Essential Oil against *Malassezia furfur*. Mycobiology [Internet]. 2009 Mar; 37(1): 67–68. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3749459/>

98. Khosravi AR, Shokri H, Fahimirad S. Efficacy of medicinal essential oils against pathogenic *Malassezia sp.* Isolates. J Mycol Med [Internet]. 2016 Mar;26(1):28-34. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26597143>

99. Lee JH, Lee JS. Chemical Composition and Antifungal Activity of Plant Essential Oils against *Malassezia furfur*. Kor J Microbiol [Internet]. Biotechnol. 2010 Nov, 38(3): 315–321 Available from:

<https://www.researchgate.net/publication/>

[268400039_Chemical_Composition_and_Antifungal_Activity_of_Plant_Essential_Oils_against_Malassezia_furfur](https://www.researchgate.net/publication/268400039_Chemical_Composition_and_Antifungal_Activity_of_Plant_Essential_Oils_against_Malassezia_furfur)

100. Hammer K, Carson C, Riley T. Influence of organic matter, cations and surfactants on the antimicrobial activity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil in vitro. J Appl Microbiol [Internet]. 1999 Mar;86(3):446-52. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10196749>

101. Pooja A., Arun N, Maninder K. Screening of plant essential oils for antifungal activity against *Malassezia furfur*. Int J Pharm Pharm Sci [Internet]. 2013 Jan; 5(2):37-39. Available from:

<https://www.researchgate.net/publication/>

[286296852_Screening_of_plant_essential_oils_for_antifungal_activity_against_Malassezia_furfur](https://www.researchgate.net/publication/286296852_Screening_of_plant_essential_oils_for_antifungal_activity_against_Malassezia_furfur)

102. Naeini A, Nazeri M, Shokri H. Inhibitory effect of plant essential oils on *Malassezia* strains from Iranian dermatitis patients. J Herbmed Pharmacol [Internet]. 2018;7(1):18-21. Available from:

http://herbmedpharmacol.com/Article/JHP_1042_20171122122349

103. Leong C, Buttafuoco A, Glatz M, Bosshard PP. Antifungal Susceptibility Testing of *Malassezia spp.* with an Optimized Colorimetric Broth Microdilution Method. J Clin Microbiol [Internet]. 2017 Jun;55(6):1883-1893. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28381607>
104. Gao Z, Perez-Perez GI, Chen Y, Blaser MJ. Quantitation of major human cutaneous bacterial and fungal populations. J. Clin. Microbiol [Internet]. 2010 Oct; 48(10): 3575–3581. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2953113/>
105. Kaur M, Narang T, Bala M, Gupte S, Aggarwal P, Manhas A. Study of the distribution of *Malassezia* species in patients with pityriasis versicolor and healthy individuals in Tertiary Care Hospital, Punjab. Indian J Dermatol [Internet]. 2013 Jul-Sep;31(3):270-4. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23883714>

POPIS KRATICA

AD - atopijski dermatitis

AhR - aril ugljikovodični receptor

BHA-beta hidroksidna kiselina

DA - Dixon agar

HNAD - atopijski dermatitis glave i vrata

KOH – kalijev hidroksid

mDA - modificirani Dixon agar

MF- malasezia folikulitis

MIK – minimalna inhibitorna koncentracija

MnSOD - manganski ovisna dismutaza superoksid

NMF - prirodni faktor vlažnosti

PV - Pytiriasis versicolor

PRR- pattern recognition receptor

SA - Sabouraud agar

SGA - Sabouraud glukoza agar

SD - seboroični dermatitis