

Atividade antifúngica de formulação à base de bórax sobre leveduras do gênero *Candida*

Silvana Soléo Ferreira dos SANTOS^a, Daniel Freitas Alves PEREIRA^b,
Clélia Aparecida de Paiva MARTINS^b, Maria Stella Amorin da Costa ZÖLLNER^c,
Antonio Olavo Cardoso JORGE^b, Cristiane Yumi KOGA ITO^b

^aDepartamento de Odontologia, UNITAU – Universidade de Taubaté, 12020-450 Taubaté - SP, Brasil

^bDepartamento de Biociências e Diagnóstico Bucal, Faculdade de Odontologia,
UNESP – Univ Estadual Paulista, 12245-000 São José dos Campos - SP, Brasil

^cInstituto Básico de Biociências, UNITAU – Universidade de Taubaté, 12030-180 Taubaté - SP, Brasil

Santos SSF, Pereira DFA, Martins CAP, Zöllner MSAC, Jorge AOC, Koga Ito CY. Antifungal activity of borax-based formula on *Candida* spp. Rev Odontol UNESP. 2011; 40(2): 91-95.

Resumo

Introdução: A descoberta de novos agentes que possam ajudar no controle de lesões bucais causadas por leveduras do gênero *Candida* vem despertando interesse, visto que reservatórios bucais de micro-organismos oportunistas têm potencial para causar infecções sistêmicas, especialmente em pacientes imunocomprometidos. **Objetivo:** O objetivo do estudo foi avaliar o efeito antifúngico de uma formulação de bórax, água de rosas e mel, in vitro, sobre cepas clínicas e padrão de *C. albicans*, e amostras padrão de *C. dubliniensis*. **Material e método:** O método utilizado foi de diluição em ágar Müeler-Hinton (Difco®). A formulação completa e seus constituintes isolados foram avaliados em diferentes concentrações. **Resultado:** Observou-se que a associação foi inibitória para todas as cepas testadas na concentração de 6,75%. Os resultados mostraram que soluções de bórax isoladamente apresentaram melhor eficácia se comparadas às soluções com outros constituintes ou até mesmo à formulação, com efeito antifúngico a partir da concentração de 0,0625%. O bórax isolado apresentou maior efetividade antifúngica a baixas concentrações. Quando da adição do mel ou água de rosas, observou-se redução da efetividade. **Conclusão:** Os resultados sugerem que o bórax é o responsável pelo efeito biológico da fórmula e que esta pode ser aplicada como coadjuvante no controle de infecções fúngicas bucais.

Palavras-chave: *Candida* spp.; bórax; mel; água de rosas.

Abstract

Introduction: The interest in new antifungal agents that may help the control of *Candida* spp. related lesions has been increasing. Oral reservoirs of opportunistic microorganisms have the potential to cause systemic infections, in particular in immunocompromised patients. **Objective:** This study evaluated the antifungal effect of a borax-based formula with water of roses and honey on *Candida albicans* clinical and standard strains and two *Candida dubliniensis* standard strains. **Method:** The method adopted was dilution in Müeler-Hinton agar (Difco®). The complete formula and its constituents were evaluated at different concentrations. **Result:** The complete formula showed inhibitory effect against all the tested isolates at the concentration of 6.75%. The results showed that borax solutions were more efficient when compared to the other constituents of the formula. Borax solutions showed high antifungal activity even in low concentrations. The addition of the honey and water of roses reduced their effectiveness. **Conclusion:** The results suggest that borax is the responsible for the biological effect of the formula and that it can be used as adjuvant in the control of fungal oral infections.

Keywords: *Candida* spp.; borax; honey; water of roses.

INTRODUÇÃO

A candidose associada à estomatite protética é a forma mais comum de candidose bucal e ocorre em 75% dos pacientes que utilizam prótese total^{1,2}. O tratamento da estomatite protética é multifatorial, envolvendo a remoção dos fatores traumatizantes, a higiene da prótese e o uso de antifúngicos tópicos³. A infecção por *Candida* nem sempre é de fácil controle em razão do pequeno número de fármacos disponíveis⁴.

Na busca por agentes terapêuticos que possam controlar essas infecções, pesquisas cada vez mais promissoras são realizadas⁵. Associações de substâncias também podem favorecer o controle de infecções, principalmente as infecções oportunistas causadas por determinadas espécies de fungos⁶.

O bórax ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$), também conhecido como tetraborato de sódio, é um composto com 11,5% do elemento químico boro⁷. Apresenta efeito antioxidante, não é genotóxico e demonstrou toxicidade apenas em altas doses (cerca de 4,5 g.kg⁻¹) em estudos com ratos^{8,9}. O boro é encontrado nos tecidos animais e humanos em baixas concentrações¹⁰. O bórax, em presença da água, dissocia-se em ácido bórico, apresenta baixa toxicidade aguda oral, cutânea e pela inalação. Esses boratos apresentam efeitos sobre várias bactérias e fungos, visto que está presente em antibióticos isolados de *Streptomyces antibioticus* e *Streptomyces griseus*^{7,8,11}. O mecanismo de ação sugerido para a ação antifúngica do ácido bórico sobre *Candida* spp. é a inibição do metabolismo oxidativo¹².

O ácido bórico tem sido indicado para utilização tópica no tratamento da vaginite recorrente¹³. Savini et al.¹⁴ (2009) relataram sucesso no tratamento de vulvovaginite causada por *C. glabrata* resistente aos azóis, utilizando-se ácido bórico. Na Odontologia, existem poucos relatos sobre sua utilização. Enxagatórios bucais contendo bórax, como o Boracyl® e o Gargaril®, foram eficazes no tratamento da estomatite aftosa e apresentou efeito antifúngico sobre *Candida* ssp^{15,16}.

Mel rosado é uma preparação, popularmente utilizada, composta por extrato de rosa-rubra e mel puro. O mel apresenta boa atividade antimicrobiana sobre patógenos humanos, em especial sobre bactérias^{6,17-20} e *C. albicans*^{21,22}. Seu uso deve ser considerado quando terapias antimicrobianas convencionais falham²³. Além de oferecer vantagem em controlar o crescimento bacteriano e no tratamento de determinados problemas de saúde, o mel apresenta facilidade de administração para o tratamento de feridas e ausência de resistência, um quadro diferente do encontrado com os antibióticos convencionais²⁴; note-se também a ausência de efeitos colaterais que possam agredir os tecidos, sendo de uso aconselhável em cavidades²¹. Associado à água de rosas, o mel, na medicina árabe, é utilizado como auxiliar na digestão²⁵.

A rosa-rubra (*Rosa gallica* L.) é uma rosácea, utilizada também para fazer água de rosas. É empregada principalmente na Dermatologia e possui efeito antimicrobiano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*²⁵⁻²⁷.

O presente estudo objetivou avaliar o efeito antifúngico da formulação à base de bórax, água de rosas e mel, in vitro, sobre

cepas padrão e clínicas de *Candida albicans* e duas cepas padrão de *Candida dubliniensis*.

MATERIAL E MÉTODO

1. Formulação e Constituintes

A formulação contendo bórax - 2 g, mel rosado - 10 g e água de rosas q.s.p. - 10 mL, bem como seus constituintes, foram adquiridos comercialmente (Farmácia Vivência, Pindamonhangaba-SP) e avaliados em associação e separadamente.

2. Amostras Clínicas

Foram utilizadas 30 cepas de leveduras do gênero *Candida*, sendo 27 amostras clínicas isoladas da cavidade bucal, uma amostra padrão (ATCC 18804) de *Candida albicans* e duas de *Candida dubliniensis* (ATCC 3949 e 5108). As cepas foram semeadas em ágar Sabouraud dextrose (Difco®) a 37 °C por 24 horas antes da realização dos experimentos. Células fúngicas em fase exponencial de crescimento foram utilizadas para o preparo da suspensão padronizada por espectrofotometria ($\lambda = 530 \text{ nm}$, OD = 0.284) contendo 1×10^6 células por mililitro.

3. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) da associação e dos componentes foi determinada utilizando-se o método de diluição em ágar Müeller-Hinton (Difco®)²⁸. As soluções-teste foram esterilizadas por filtração (Millipore® de 0,22 µm) e foi adicionado 0,1 mL de cada diluição ao meio a 50 °C. Para o bórax isolado, foi preparada uma solução com concentração igual àquela da associação em água destilada esterilizada. Foram preparadas séries de placas contendo concentrações de 0,0625 a 50% de cada solução, em diluições sequenciais múltiplas de dois. As cepas foram semeadas com o auxílio de replicador de Steers e incubadas a 37 °C, por 24 horas. Todos os testes foram realizados em duplicata. A leitura foi feita pela observação de presença ou ausência de crescimento de colônias na superfície do ágar, comparando-se com o controle de crescimento das amostras.

4. Análise Estatística

Os resultados, expressos em número de amostras de *C. albicans* suscetíveis ao bórax, água de rosas e mel isolados ou associados, foram comparados por meio do teste paramétrico para cálculo da diferença entre duas proporções, teste exato de Fisher, utilizando o programa Prism 5 for Windows Version 5.00. O nível de significância adotado foi 5%.

RESULTADO

Os resultados obtidos mostraram que o bórax isoladamente apresentou efeito antifúngico superior aos outros componentes da fórmula sobre todas as cepas analisadas (Tabela 1 e Figura 1). A concentração de 0,625% de bórax apresentou atividade antifúngica

Tabela 1. Concentração mínima inibitória (CIM) das associações constituintes isolados da formulação: Bórax, água de rosas e mel

Cepas do gênero <i>Candida</i>	Bórax	AR	Mel	Bórax + AR	Bórax + mel	AR + mel	Formulação
N1	0,0625	R	6,75	R	25	50	6,75
N3	0,0625	R	6,75	R	25	50	6,75
N4	0,0625	R	6,75	R	25	50	6,75
N5	0,0625	R	6,75	R	25	50	6,75
N6	0,0625	12,50	12,50	R	25	50	6,75
N7	0,0625	R	6,75	R	25	50	6,75
N8	0,0625	R	6,75	R	25	50	6,75
N2	0,0625	R	6,75	R	25	50	6,75
N14	0,0625	R	6,75	25	25	50	6,75
N15	0,0625	R	6,75	R	12,50	50	6,75
N16	0,0625	R	6,75	R	25	50	6,75
N19	0,0625	R	6,75	R	25	50	6,75
N20	0,0625	R	6,75	R	25	50	6,75
N23	0,0625	R	6,75	R	12,50	50	6,75
N24	0,0625	R	6,75	R	25	50	6,75
N25	0,0625	R	6,75	R	25	50	6,75
N27	0,0625	R	6,75	R	25	50	6,75
N31	0,0625	R	6,75	R	25	50	6,75
N32	0,0625	R	6,75	R	25	50	6,75
N34	0,0625	R	6,75	R	25	50	6,75
N36	0,0625	R	6,75	R	25	50	6,75
N41	0,0625	R	6,75	R	25	50	6,75
N48	0,0625	R	6,75	R	25	50	6,75
N52	0,0625	R	6,75	R	25	50	6,75
N56	0,0625	R	12,50	R	25	50	6,75
N57	0,0625	R	6,75	R	25	50	6,75
N58	0,0625	R	6,75	R	25	50	6,75
ATCC CA	0,0625	R	6,75	R	12,50	50	6,75
ATCC 3949 CD	0,0625	6,75	6,75	R	12,50	50	6,75
ATCC 5108 CD	0,0625	R	6,75	R	25	50	6,75

Valores de CIM em porcentagem. R - cepa resistente.

frente a todas as amostras de *C. albicans* e *C. dubliniensis* avaliadas. Quando associado somente com água de rosas, a quantidade de cepas resistentes aumentou significativamente ($p < 0,0001$), sendo que apenas duas amostras foram inibidas na concentração de 25%. Já a associação com mel foi mais favorável, pois essa associação apresentou efeito fungicida para todas as amostras avaliadas na concentração de 12,5 a 25%.

A água de rosas isoladamente apresentou 96,43% das amostras resistentes à concentração máxima avaliada (50%).

Quando associada ao bórax, o percentual de amostras suscetíveis não diferiu significativamente ($p = 1,000$); contudo, quando associada ao mel, a atividade antifúngica da água de rosas foi significativamente mais elevada ($p < 0,0001$).

O mel, isoladamente, apresentou atividade antifúngica frente a 86,7% das amostras avaliadas na concentração de 6,75%. Quando associado à água de rosas ou ao bórax, todas as amostras mostraram-se susceptíveis.

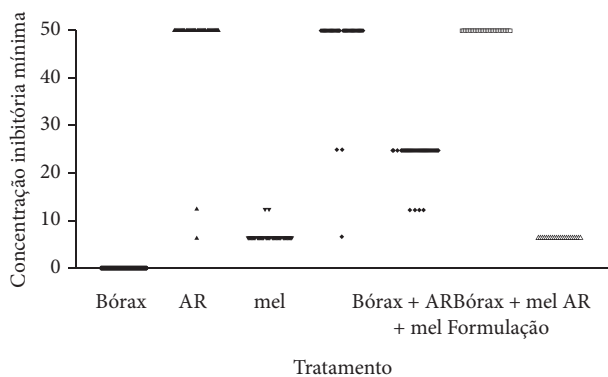


Figura 1. Quantidade de cepas segundo a concentração inibitória mínima e o tratamento utilizado.

DISCUSSÃO

A associação de bórax, mel rosado e água de rosas foi selecionada para estudo porque tem sido utilizada empiricamente (uso tópico) na clínica para o tratamento de candidoses bucais associadas a próteses, por muitos anos. Observou-se que a associação dos componentes apresentou efeito antifúngico in vitro frente a todas as amostras avaliadas, o que sugere ser correlacionado com a efetividade clínica da utilização empírica. Com efeito, o bórax parece ter a maior participação na atividade antifúngica, já que se mostrou fungicida na concentração de 0,625%. Na literatura, não foram encontrados trabalhos anteriores que possibilitassem a comparação com este resultado. Contudo, trabalhos anteriores com o ácido bórico, que é um subproduto do bórax em água, demonstraram seu efeito antifúngico¹².

Estudo anterior avaliou a concentração mínima inibitória (CIM) do ácido bórico sobre 108 cepas clínicas de *C. albicans* isoladas de mulheres com vaginite. Um total de 97,4% das cepas foi sensível à diluição de 0,4%. Nesse mesmo estudo, a CIM para *C. glabrata* foi $\geq 0,6\%$ para 21 cepas²⁹. O sucesso da utilização do ácido bórico tópico para o tratamento de vaginite recorrente por *Candida* tem sido relatado na literatura. Segundo De Seta et al.¹² (2009), 90% das cepas de *Candida* isoladas de pacientes com vaginite apresentam MICs entre 1563 e 6250 mg.L⁻¹ de ácido bórico; a concentração de 50,000 mg.L⁻¹ foi fungicida. Savini et al.¹⁴ (2009) reportaram um caso clínico de sucesso de tratamento de vulvovaginite por *C. glabrata* resistente aos azóis, após tratamento tópico com ácido bórico.

REFERÊNCIAS

1. Penha SS, Birman EG, Silveira FRX, Paula CR. Frequency and enzymatic activity (proteinase and phospholipase) of *Candida albicans* from edentulous patients, with and without denture stomatitis. *Braz Oral Res.* 2000; 14: 119-22.
2. Pinto TM, Neves AC, Leão MV, Jorge AO. Vinegar as an antimicrobial agent for control of *Candida* spp. in complete denture wearers. *J Appl Oral Sci.* 2008; 16: 385-90.
3. Maver-Biscanin M, Mravak-Stipetic M, Jerolimov V. Effect of low-level laser therapy on *Candida albicans* growth in patients with denture stomatitis. *Photomed Laser Surg.* 2005; 23: 328-32.
4. Lyon JP, Moreira LM, Cardoso MAG, Saade J, Resende MA. Antifungal susceptibility profile of *Candida* spp. oral isolates obtained from denture wearers. *Braz J Microbiol.* 2008; 39: 668-72.
5. Talwar GP, Dar SA, Rai MK, Reddy KV, Mitra D, Kulkarni SV, et al. A novel polyherbal microbicide with inhibitory effect on bacterial, fungal and viral genital pathogens. *Int J Antimicrob Agents.* 2008; 32: 180-5.

O mel rosado, avaliado isoladamente, inibiu 93,3% das cepas na concentração de 6,25%. Já nos estudos de Lusby et al.¹⁹ (2005), nos quais foi avaliado o efeito antimicrobiano de diferentes tipos de mel, os mesmos não apresentam efeito sobre *C. albicans*, mas apenas sobre cepas bacterianas.

Wahadan³⁰ (1998) verificou uma redução do número de colônias de *Candida albicans* quando em presença do mel. Theunissen et al.²² (2001), avaliando o efeito de três tipos de mel procedentes do Sul da África, verificaram uma redução no crescimento de células planctônicas de 29,4% dos isolados de *C. albicans* na concentração de 25% (v/v). Boukraa et al.²¹ (2008) relataram CIM do mel de 40 a 45% sobre cepas de *C. albicans*. Os autores ainda observaram sinergismo entre o mel e o amido, sendo que a concentração passou a ser de 30 a 35%. Segundo Al-Waili⁶ (2008), mel e associação do mel, cera de abelha e óleo de oliva apresentaram efeito antimicrobiano sobre *S. aureus* e *C. albicans*.

Em estudo anterior, a água de rosas aparece associada a outras substâncias; contudo, não foram encontrados estudos anteriores sobre sua associação com bórax ou mel. Talwar et al.⁵ (2008) avaliaram a ação da associação de curcumina, extrato de *Embllica officinalis*, saponinas de *Sapindus mukorossi*, *Aloe vera* e água de rosas, e obtiveram atividade sobre *C. glabrata*, *C. albicans* e *C. tropicalis* isoladas de candidose vaginal.

Os resultados deste estudo sugerem que a associação bórax, mel e água de rosas apresentou efeito antifúngico, in vitro, o que pode explicar a sua efetividade clínica empírica e basear a sua utilização como alternativa terapêutica. Os resultados indicam que o bórax seja o princípio ativo mais importante da formulação quanto à atividade antifúngica, porém o mel pode ter um efeito clínico positivo, tornando a formulação mais viscosa. Outros estudos, como de toxicidade, ainda são necessários para embasar a indicação terapêutica da formulação.

CONCLUSÃO

A associação bórax, mel e água de rosas apresentou efeito inibitório para 100% das cepas avaliadas. O bórax é o princípio ativo com maior atividade antifúngica dentre os componentes da fórmula.

6. Al-Waili NS. Mixture of honey, beeswax and olive oil inhibits growth of *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. Arch Med Res. 2005; 36: 10-3.
7. Hubbard SA. Comparative toxicology of borates. Biol Trace Elem Res. 1998; 66: 343-57.
8. Coughlin JR. Sources of human exposure: overview of water supplies as sources of boron. Biol Trace Elem Res. 1998; 66: 87-100.
9. Weir RJ Jr, Fisher RS. Toxicologic studies on borax and boric acid. Toxicol Appl Pharmacol. 1972; 23: 351-64.
10. Moseman RF. Chemical disposition of boron in animals and humans. Environ Health Perspect. 1994; 102(Suppl 7): 113-7.
11. Woods WG. An introduction to boron: history, sources, uses, and chemistry. Environ Health Perspect. 1994; 102(Suppl 7): 5-11.
12. De Seta F, Schmidt M, Vu B, Essmann M, Larsen B. Antifungal mechanisms supporting boric acid therapy of *Candida vaginitis*. J Antimicrob Chemother. 2009; 63: 325-36.
13. Reichman O, Akins R, Sobel JD. Boric acid addition to suppressive antimicrobial therapy for recurrent bacterial vaginosis. Sex Transm Dis. 2009; 26: 732-4.
14. Savini V, Catavittello C, Bianco A, Balbinot A, D'Antonio F, D'Antonio D. Azone resistant *Candida glabrata* vulvovaginitis treated with boric acid. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2009; 147(1): 112.
15. Bellon Leyva S, Echarry Cano O. Evaluación clínica de la efectividad de bórax en el tratamiento de la estomatitis aftosa. Rev Cubana Estomatol [online]. 2006; 43 (2) [citado 2011 Jun 14]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072006000200006&lng=es&nrm=iso
16. Yassin A, Mostafa MA, Moawad MK. *Candida* infection of the tongue. J Laryngol Otol. 1966; 80: 138-50.
17. Cooper RA, Molan PC, Harding KG. Antibacterial activity of honey against strains of *Staphylococcus aureus* from infected wounds. J R Soc Med. 1999; 92: 283-5.
18. French VM, Cooper RA, Molan PC. The antibacterial activity of honey against coagulase-negative staphylococci. J Antimicrob Chemother. 2005; 56: 228-31.
19. Lusby PE, Coombes AL, Wilkinson JM. Bactericidal activity of different honeys against pathogenic bacteria. Arch Med Res. 2005; 36: 464-7.
20. Subrahmanyam M, Hemmady A, Pawar SG. Antibacterial activity of honey on bacteria isolated from wounds. Annals of Burns and Fire Disasters. 2001; 14: 22-4.
21. Boukraa L, Benbarek H, Moussa A. Synergistic action of starch and honey against *Candida albicans* in correlation with diastase number. Braz J Microbiol. 2008; 39: 40-3.
22. Theunissen F, Grobler S, Gedalia I. The antifungal action of three South African honeys on *Candida albicans*. Apidologie. 2001; 32: 371-9.
23. Namias N. Honey in the management of infections. Surgical Infections. 2003; 4: 219-26.
24. Jeffrey AE, Echazarreta CM. Medical uses of honey. Rev Biomed. 1996; 7: 43-9.
25. Oumeish Y. Traditional arabic medicine in dermatology. Clinics in Dermatology. 1999; 17: 13-20.
26. Bonjar S. Evaluation of antibacterial properties of some medicinal plants used in Iran. J Ethnopharmacol. 2004; 94: 301-5.
27. Ercisli S. Rose (*Rosa* spp.) germplasm resources of Turkey. Genetic Resources and Crop Evolution. 2005; 52: 787-95.
28. Oplustil CP, Zoccoli CM, Tobouti NR, Sinto SI. Procedimentos básicos em microbiologia clínica. São Paulo: Sarvier; 2000.
29. Otero L, Fleites A, Méndez FJ, Palacio V, Vázquez F. Susceptibility of *Candida* species isolated from female prostitutes with vulvovaginitis to antifungal agents and boric acid. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1999; 18: 59-61.
30. Wahdan HA. Causes of the antimicrobial activity of honey. Infection. 1998; 26: 26-31.

AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

Daniel Freitas Alves Pereira

Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal, Faculdade de Odontologia, UNESP – Univ Estadual Paulista,
12245-000 São José dos Campos - SP, Brasil
e-mail: dentistadanielfreitas@hotmail.com

Recebido: 26/11/2010

Aceito: 29/04/2011