

Ecotoxicidade aguda de duas substâncias utilizadas no combate à COVID-19 sobre o organismo-teste *Daphnia magna*

Acute ecotoxicity of two substances used against COVID-19 on the *Daphnia magna* test organism

Natalia Dias Souza¹, Jocilene Braga dos Santos¹, Silvana Daniel da Silva¹,
Karissa Conceição Souza¹, Alice Pereira Chaves¹, Rogerio Oliveira Souza¹,
Marcelo Siqueira de Oliveira¹, Erlei Cassiano Keppeler¹

RESUMO

Testes de toxicidade podem ser definidos como o uso de procedimentos para testar respostas biológicas. Consistem basicamente em submeter organismos a diferentes condições. Ele tenta simular o ambiente natural e visa constatar seus efeitos positivos e negativos. O teste de toxicidade para invertebrados aquáticos desempenha um papel importante na determinação do impacto ambiental dos produtos químicos. Ao final do ano de 2019, o mundo se deparou com o primeiro caso de infecção por SARS-CoV-2, um vírus da família Coronaviridae, capaz de causar a doença do coronavírus (COVID-19). Onde cientistas e autoridades sanitárias fizeram uma ampla divulgação e fortalecimento em 2020 sobre a importância dos cuidados sanitários em locais públicos e privados, dentre as substâncias químicas para a desinfecção e higienização para conter o vírus estão o álcool gel e a água sanitária. O organismo-teste é um pequeno microcrustáceo que vive em água doce e vem sendo muito utilizado como bioindicador em pesquisas científicas. O método de pesquisa consistiu em expor os neonatos de *Daphnia magna* à amostra (qualitativa) ou a várias diluições da amostra (quantitativa) por 24h. e 48 horas. A análise de dados dos valores de CE50, concentração efetiva mediana que causa efeito agudo a 50% dos organismos no tempo de exposição e foram calculados usando Análise Probit, cujas análises foram realizadas com o software BIOESTAT® 2008. Regressão linear também foi usada utilizando o programa Prism. Conclui-se que as substâncias utilizadas no combate ao Covid-19, álcool gel e água sanitária tem efeitos sub-letais e letais aos organismos do cladóceros *Daphnia magna*.

Palavras-chave: Ecotoxicidade; álcool gel; água sanitária

ABSTRACT

Toxicity testing can be defined as the use of procedures to test for biological responses. They basically consist of submitting organisms to different conditions. It tries to simulate the natural environment and aims to verify its positive and negative effects. Toxicity testing for aquatic invertebrates plays an important role in determining the environmental impact of chemicals. At the end of 2019, the world was faced with the first case of infection by SARS-CoV-2, a virus of the Coronaviridae family, capable of causing coronavirus disease (COVID-19). Where scientists and health authorities made a wide

dissemination and strengthening in 2020 about the importance of health care in public and private places, among the chemical substances for disinfection and hygiene to contain the virus are alcohol gel and bleach. The test organism is a small microcrustacean that lives in fresh water and has been widely used as a bioindicator in scientific research. The research method consisted of exposing *Daphnia magna* neonates to the sample (qualitative) or to various sample dilutions (quantitative) for 24h. and 48 hours. Data analysis of EC50 values, median effective concentration that causes acute effect to 50% of organisms in exposure time and were calculated using Probit Analysis, whose analyzes were performed with BIOESTAT® 2008 software. Linear regression was also used using the Prism program. It is concluded that the substances used in the fight against Covid-19, alcohol gel and bleach have sub-lethal and lethal effects on the organisms of the cladoceran *Daphnia magna*.

Keywords: Ecotoxicity, alcohol gel, bleach.

INTRODUÇÃO

Ao final do ano de 2019, o mundo se deparou com o primeiro caso de infecção por SARS-CoV-2, um vírus da família Coronaviridae, capaz de causar a doença do coronavírus (COVID-19), condição sindrômica de propagação respiratória que apareceu em Wuhan, China, e ocasionou uma contaminação mundial, pandemia. Em resposta a infecção e aos índices de mortalidade, a sociedade teve que potencializar métodos de higiene pessoal para mitigar a transmissão e disseminação da condição, algo que, no Brasil, foi incentivado pelas autoridades de saúde. Por meio de ampla divulgação de medidas incentivando a importância dos cuidados sanitários em locais públicos e privados (OLIVEIRA; LEMOS, 2021).

Um dos métodos para prevenir a contaminação pelo SAR-CoV-2 é o álcool gel. Ele é feito de álcool líquido 70% (etanol em água), glicerina (usada como umectante), carbômero (um polímero acrílico formador de gel) e Trietanolamina (substância neutra). Como qualquer produto químico, deve passar por controles de qualidade, como verificações de pH, devem ser neutros para não causar irritação e alergia (ROSA; VANZELE; SANTOS, 2021).

Outro método de higiene utilizado foi a descontaminação espacial com o uso de água sanitária. A água sanitária é um composto obtido através da diluição do hipoclorito de sódio. Ela é utilizada para a desinfecção e limpeza de ambientes, objetos e até mesmo na água para consumo, sendo que o hipoclorito de sódio se encontra inconstante no ambiente por conta de sua fotossensibilidade (MARTINS, 2013). Ela é um dos produtos químicos de limpeza mais empregados na higienização, por ter um preço acessível e ação bactericida, portanto, com o cenário da pandemia a utilização do mesmo cresceu cada vez (PIMENTEL, 2020).

Os testes de toxicidade podem ser definidos como o uso de procedimentos para testar respostas biológicas. Através deles é possível identificar, avaliar e analisar um ou mais efeitos adversos ou não adversos de determinadas substâncias em sistemas biológicos (RAND, 1995). Esses testes consistem basicamente em submeter organismos a diferentes condições. Ele tenta simular o ambiente natural e visa constatar seus efeitos positivos e negativos (MIODUSKI, 2014).

O teste de toxicidade para invertebrados aquáticos desempenha um papel importante na determinação do impacto ambiental dos produtos químicos. (LAITANO; MATIAS, 2006). São baseados em observações de efeitos potenciais imediatos de

poluentes em vários componentes dos ecossistemas, em ambientes controlados e reprodutíveis (ABE, 2012). Eles são conhecidos por usar uma grande variedade de espécies, sendo: aquáticos como pequenos crustáceos, invertebrados, peixes e girinos; terrestres como abelhas e minhocas, assim por diante (ESTER; PEREIRA, 2016).

Daphnia magna (STRAUS, 1820), é um pequeno microcrustáceo que vive em água doce e vem sendo muito utilizado como bioindicador em pesquisas científicas, se destacando em inúmeros estudos sobre controle de qualidade da água e em testes de toxicidade para análise de resíduos e/ou substâncias (ESTER; PEREIRA, 2016). É possível utilizar *Daphnia magna* como organismo teste, pois, seus descendentes são geneticamente idênticos, característica que proporciona uniformidade de respostas nos testes, além disso, ao mesmo tempo possui fácil reprodução em laboratório acompanhada de condições controladas (KNIE; LOPES, 2004). Devido à maior sensibilidade de *Daphnia magna* em comparação com outros invertebrados aquáticos, seu tamanho é comparativamente grande, o que facilita seu tratamento (KNIE; LOPES, 2004). A mesma possui um ciclo reprodutivo rápido e um período de vida curto, sendo altamente suscetível a diversas toxinas, *Daphnia magna* é bastante comum em ambientes aquáticos e muito utilizada na piscicultura (PAUW e LAUREYS; MORALES, 1981).

Nesse sentido, a *Daphnia magna* se torna extremamente relevante para estudos de toxicidade em água por se tratar de organismos aquáticos cujo habitat natural se assemelha às condições naturais na água, além disso, o curto tempo de exposição e o pequeno tamanho amostral utilizado são os principais motivos para usando estes aspectos importantes de um microcrustáceo (ABNT, 2016).

Face ao exposto, este trabalho se propôs avaliar a toxicidade aguda de três substâncias utilizadas no combate à Covid-19, em um cladóceros utilizado comumente em testes toxicológicos. Buscou-se também avaliar a Concentração Efetiva Mediana (CE50) em 24h. e 48h. de cada substância testada, que é utilizada no combate à Covid-19, que provoca uma resposta eficaz em metade dos indivíduos submetidos ao organismo teste, representado neste estudo pelo cladóceros *Daphnia magna*, além de. comparar a CE50 em 24h. e 48h, de cada substância testada.

MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Análises de água e Limnologia da Universidade Federal do Acre (UFAC), localizado no *Campus* de Cruzeiro do Sul. O método consistiu em expor os neonatos de *Daphnia magna* à amostra (qualitativa) ou a várias diluições da amostra (quantitativa) por 24h. e 48 horas. Os produtos químicos utilizados neste trabalho foram o álcool gel 70% com *Aloe Vera* e glicerina, a água sanitária cuja composição era de hipoclorito de sódio e cloro. Cinco concentrações foram escalonadas (0,1; 0,5; 1; 5 e 10%), nos testes com o álcool gel, mais um controle zero; para os testes com a água sanitária, as cinco concentrações escalonadas (0,0001; 0,0002; 0,0004; 0,0008; 0,0016%). Os testes foram realizados numa sala climatizada a 25°C no escuro.

As culturas foram mantidas a 25°C. A espécie de Cladócerca usada nos experimentos foi *Daphnia magna*, cultivada em meio EPA. O meio EPA foi preparado dissolvendo 96 mg de NaHCO₃, 60 mg de NaCl, 60 mg de MgSO₄, e 4 mg de KCl em um litro de água destilada (WEBER, 1993), para cultivar os neonatos dos organismos-teste do gênero *Daphnia*.

A metodologia do teste de toxicidade aguda utilizando *D. magna* como organismo-teste foi realizada de acordo com a NBR 12.713 (ABNT, 2016) e consistiu na exposição de 5 neonatos por réplica (com 2 até 26 horas de vida) a uma série de diluições da substância testadas por um curto intervalo de tempo (24 e 48 horas), usando neonatos de *Daphnia magna*: com idade entre 2 h e 26 h, obtidos a partir de fêmeas com idade entre 10 dias e 60 dias.

Usando fêmeas partenogênicas de culturas puras, as culturas de estoque foram estabelecidas separadamente, em meio EPA, que foi renovado 2 vezes por semana. As culturas consistiram de frascos de vidro contendo cerca de um litro do meio. *Daphnia magna* foi cultivada em meio EPA, à densidade de algas de 1×10^6 de células/mL. Foram fornecidas cepas de *Chlorella sorokiniana* obtida na Fundação André Tosello, da Coleção de Culturas Tropicais. O meio sintético que foi utilizado para o cultivo dela foi o Bold's Basal Medium (BBM) que é o recomendado pelo Centro de Cultura de Algas e Protozoários de Cambridge (CCAP). A matriz celular da microalga *Chlorella sorokiniana* foi inoculada em garrafas de plástico (PET) com capacidade de 2 litros, onde foi usado o volume útil de 1.400mL de água destilada, em meio Bold que permite o crescimento da alga exponencialmente.

Foi adicionada 10mL do conteúdo contendo a microalga em cada garrafa. Foi cultivada num intervalo de tempo de 24 horas a microalga *Chlorella sorokiniana* por um período constante de 8 dias (192 horas). Os organismos-teste foram obtidos a partir de fêmeas ovígeras, mantidas em culturas previamente selecionadas, capturados com auxílio de uma pipeta Pasteur de ponta arredondada, com cerca de 2 mm de diâmetro (CESAR et al., 1997). Cinco recém-nascidos com idade inferior a 24h. (OCDE, 1981; DIN, 1981; ISO 1981; 1982), foram divididos em quatro grupos e foram expostos a cada concentração durante 24h. e 48h. em um ensaio estático (US EPA, 1985), juntamente com um controle (KUNGOLOS et al., 1999) em fotoperíodo escuro (AFNOR de 1974, DIN 1981, ABNT, 1987). O número de espécimes móveis e imóveis foram registrados após 24h. e 48h. (AFNOR, 1974; DIN, 1981; ISO 1982, ABNT, 1987) e foram calculados pelos valores de Concentração Estimada (CE).

Os testes foram realizados numa sala climatizada a 20°C no escuro. As condições experimentais gerais foram as seguintes: 50 mL de frascos transparentes como recipientes de teste; cada concentração tóxica foi dissolvida em 25 mL de água destilada e 25 mL de meio EPA com 1×10^6 células.mL⁻¹ de *C. sorokiniana*. Cada frasco de teste recebeu 5 recém-nascidos (<24h) de uma das duas espécies de cladóceros. Foram utilizadas quatro repetições para cada concentração contendo 5 neonatos, para testes de 24h. e 48h. Após o início do experimento, diariamente foi feita a quantificação do número de indivíduos que sobreviventes em cada corte.

Os valores de CE₅₀, concentração efetiva mediana que causa efeito agudo a 50% dos organismos no tempo de exposição e foram calculados usando Análise Probit, cujas análises foram realizadas com o software BIOESTAT® 2008. Regressão linear e Coeficiente de Correlação de Pearson também foram determinados utilizando o programa Past.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O coeficiente de determinação e correlação de Pearson para o álcool gel indicou correlação positiva entre as concentrações e a mortalidade nos diferentes tempos de exposição, sendo forte em 24h. e moderada em 48h. (Tabela 1). Os valores de CE50 para os testes de toxicidade agudo, obtidos na análise Probit, em várias doses de exposição foram 6,878 e 2,778% respectivamente para 24 e 48h. Houve um aumento significativo na mortalidade, a partir da concentração de 5% e uma diminuição significativa em resposta ao aumento das concentrações de adição (Figura 1 e 2). Os valores calculados de CE50 24h. dos testes de toxicidade aguda com a substância álcool gel, para *D. magna*, estão apresentados na (Figura 3), com o desvio e mortalidade.

Tabela 1 - Coeficiente de Correlação de Pearson para a mortalidade em diferentes doses de álcool gel sobre o organismo *Daphnia magna* em diferentes tempos de exposição.

Tempo de exposição	R	R ²	Estimativa do desvio padrão
24h.	0,9875	0,9752	55,21
48h.	0,8817	0,7775	437,7

Figura - 1. Regressão linear das concentrações para determinar as porcentagens da mortalidade para *Daphnia magna* após 24 h. de exposição ao álcool gel.

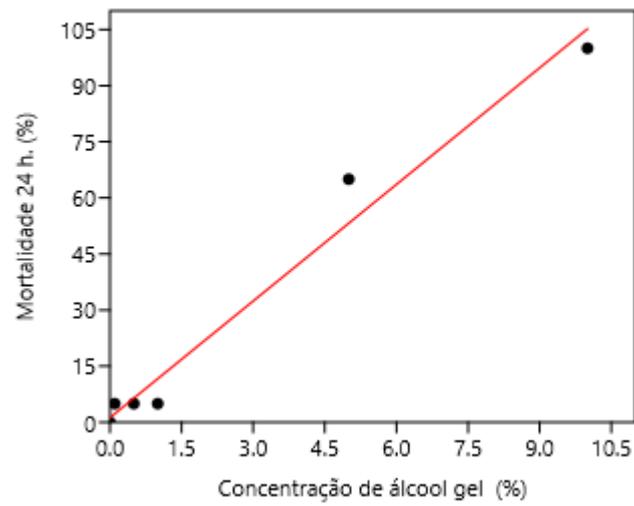


Figura - 2 . Regressão linear das concentrações para determinar as porcentagens da mortalidade para *Daphnia magna* após 48 h. de exposição ao álcool gel.

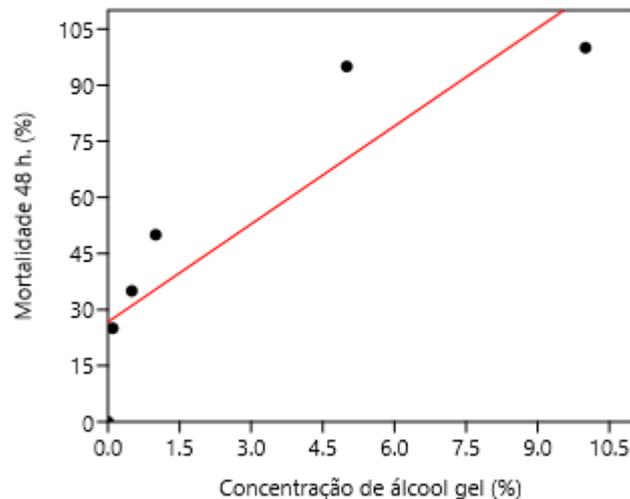
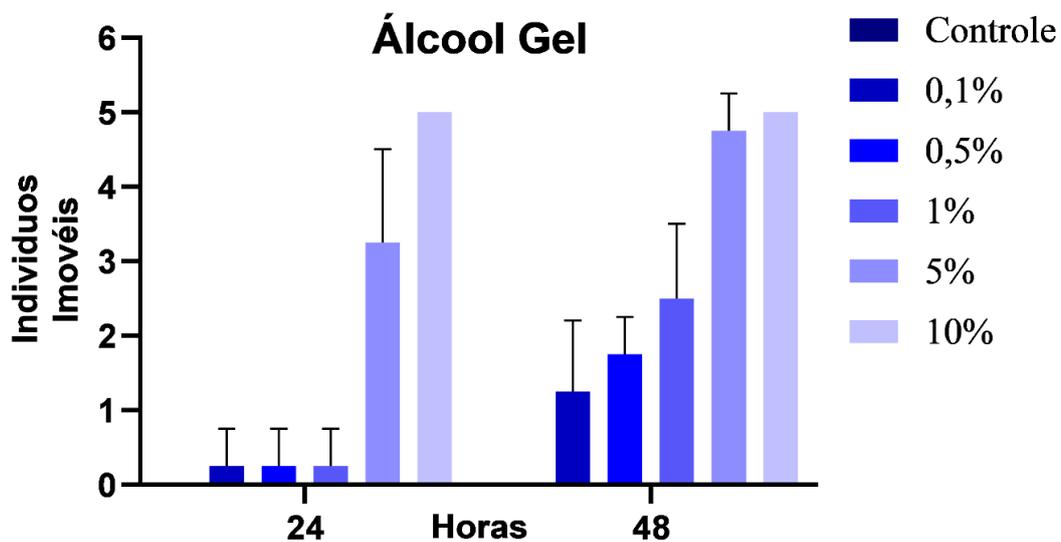


Figura - 3. Médias \pm desvios-padrão dos indivíduos imóveis de neonatos de *Daphnia magna* do teste com álcool gel.



Os resultados dos testes com o álcool gel demonstraram que as concentrações acima da CE50 de 10% apresentaram 100% de imobilidade após 48h (Figura 1), já as concentrações na faixa da CE50 5% apresentaram uma porcentagem de imobilidade 70% na leitura realizada em 24h e 95% de imobilidade após 48h. Apenas nas concentrações 0,1, 0,5 e 1% obtido imobilidade na faixa abaixo de 5% (Figura 1). As médias da porcentagem de imobilidade dos testes definitivos de

toxicidade confirmam que a concentração 10% causa imobilidade de todos os organismos testados e que as diluições são menos nocivas.

Os coeficientes de determinação e correlação de Pearson para a água sanitária indicaram correlação positiva entre as concentrações e a mortalidade nos diferentes tempos de exposição, e foi fraca em 24h. e moderada em 48h. (Tabela 2). Os valores de CE50 para os testes de toxicidade aguda, obtidos na análise Probit de várias doses de exposição foram e de 0,0018 e 0,0008%, respectivamente para 24h. e 48h. Houve um aumento significativo na mortalidade, a partir da concentração de 0,0004% e uma diminuição significativa em resposta ao aumento das concentrações (Figura 4). Os valores calculados de CE50 24 e 48h. dos testes de toxicidade aguda com água sanitária, para *D. magna*, estão apresentados na (Figura 5), com o desvio e mortalidade. Wong et al. (2009) estudaram nove substâncias similares ao álcool gel em *Daphnia* e observaram que efeitos tóxicos apareceram após 24h. de exposição.

Tabela 2 - Coeficiente de Correlação de Pearson para a mortalidade em diferentes doses de água sanitária em *Daphnia magna* e diferentes tempos de exposição.

Tempo de exposição	R	R ²	Estimativa do desvio padrão
24h.	0,6896	0,4756	122,4
48h.	0,8645	0,7474	175,8

Para os resultados dos testes com água sanitária demonstraram que as concentrações acima da CE50 de 0,0016% apresentaram mais de 50% de imobilidade após 48h (Figura 4), já as concentrações na faixa da CE50 0,0008% apresentaram uma porcentagem de imobilidade de 30 a 20% na leitura realizada em 24h e 95% de imobilidade após 48h. Apenas nas concentrações 0,0001, 0,0002, 0,0004% obtido imobilidade na faixa de 15 a 40% (Figura 4).

Figura - 4. Regressão linear das concentrações para determinar as porcentagens da mortalidade para *Daphnia magna* após 24 h de exposição a água sanitária.

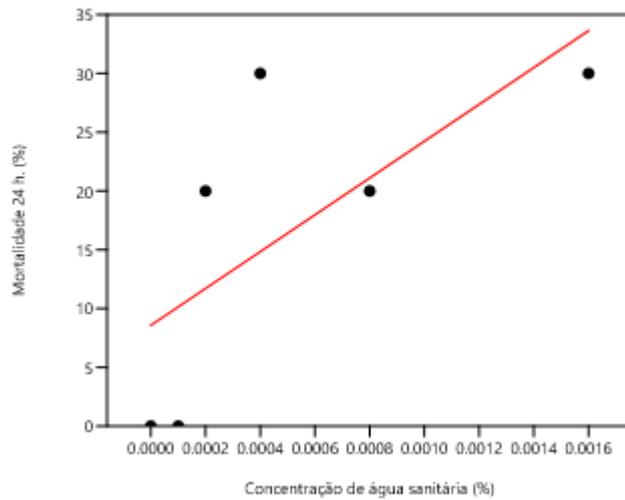


Figura - 5. Regressão linear das concentrações para determinar as porcentagens da mortalidade para *Daphnia magna* após 48 h. de exposição a água sanitária.

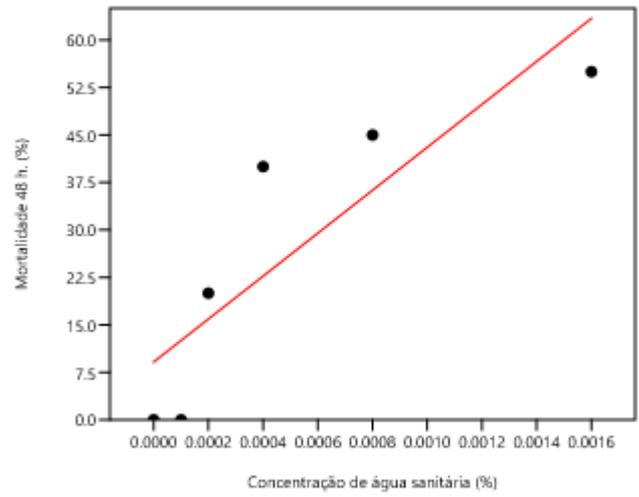
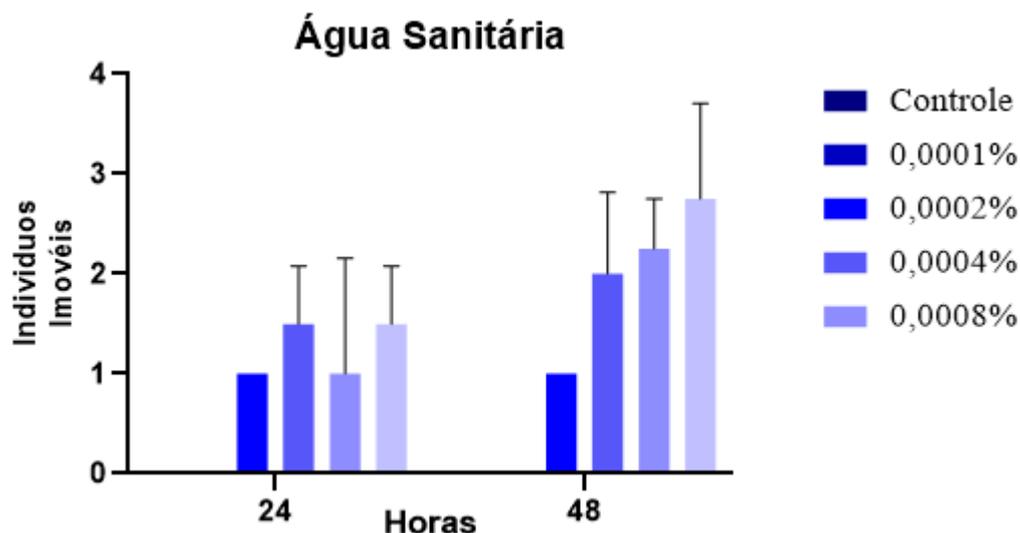


Figura - 6. Médias \pm desvios-padrão dos indivíduos imóveis de neonatos de *Daphnia magna* do teste com água sanitária.



Estudos mostram, nomeadamente, que existem inúmeras evidências do uso de hipoclorito de Sódio principal substância usada na produção da água sanitária com efeitos sub-letais e letais para *Daphnia magna*, sendo ainda comprovado que aproximadamente 50% da produção de juvenis foi limitada, diminuindo a taxa de natalidade dos mesmos e mostrando sua sensibilidade a essa substância (MARTINS, 2013).

Ambas as substâncias testadas causaram efeito a 50% dos organismos, o álcool gel mostrou-se com potencial tóxico mais elevado que a água sanitária, tendo em vista as concentrações, já que a porcentagem de organismos imóveis foi maior no teste com o álcool em gel.

CONCLUSÃO

Os resultados dos testes de sensibilidade com álcool gel e a água sanitária evidenciaram a sensibilidade aos testes de toxicidade aguda. Conclui-se ainda que, as substâncias utilizadas no combate à contaminação por SARS-CoV-2, álcool gel e água sanitária tem efeitos sub-letais e letais aos organismos do cladóceros *Daphnia magna*. As análises do efeito de ecotoxicidade aguda sobre o organismo-teste mostram que para o álcool gel 10% da substância causa imobilidade de 100% após

48h. Para a água sanitária as análises mostram um efeito de ecotoxicidade aguda a partir da concentração de 0,0016% de imobilidade dos organismos-teste de 50%. Assim, comprova-se que o organismos-teste do cladócero *Daphnia magna* é sensível às substâncias utilizadas no combate do Covid-19.

REFERÊNCIAS

ABE, F. R. Avaliação Ecotoxicológica e Risco Ambiental dos Inseticidas Utilizados no Controle da Larva de *Aedes aegypti* para *Daphnia magna*, *Lemna minor* e peixes. **Universidade Estadual Paulista Centro de Aquicultura Da Unesp**, 2012. Disponível em: < <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/86654>>. Acesso em: 20 ago. 2022.

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12713**: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda: Método de ensaio com *Daphnia spp* (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro, v. 4. ed., 2016. Disponível em: < <https://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/fitossanidade/joaquimgoncalvesmachadoneto/nbr12713-2016-toxic-aguda-daphnia.pdf>>. Acesso em: 10 jul. 2022.

ABNT. **Associação Brasileira de Normas Técnicas**. Água – Teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis*, Claus (Cladocera, Crustacea) – Método de ensaio. São Paulo, 31p. (Projeto 1: 62.05-001, novembro/1987, 1. Projeto de Norma). 1987.

AFNOR. **Association Française de Normalisation**. Essais de eaux – Détermination de l'inhibition de la mobilité *Daphnia magna* Strauss (Crustacés, Cladocère). Paris. 12p. 1974.

ARREDONDO-VEGA, B.O., VOLTOLINA, D. Concentración, recuento celular y tasa de crecimiento. In: ARREDONDO-VEGA, B.O., VOLTOLINA, D., editors. **Métodos y Herramientas Analíticas en la Evaluación de la Biomasa Microalgal**. Baja California Sur, Mexico: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz; pp. 17–25, 2007.

BOWNIK, A. Science of the Total Environment *Daphnia* swimming behaviour as a biomarker in toxicity assessment: **A review**. *Science of the Total Environment*, v. 601– 602, p. 194–205, 2017.

CESAR, A.; SILVA, S. L. R.; SANTOS, A. R. Teste de toxicidade aquática no Controle da Poluição. **Universidade Santa Cecília - UNISANTA - Santos**, São Paulo, Brasil. 37 p., 1997.

DIN. **Deutsches Institut für Normung**. Testverfahren mit wasserorganismen (Gruppe L) Bestimmung der Wirkung von Wasserinhaltsstoffen auf kleinkrebse. (*Daphnien* – Kurzzeittest) (L11). Berlim. 1981.

- DIN. **Deutsches Institut für Normung**, Deutsches institute für normung – testverfahren mit wasserorganismen (gruppe 1). Bestimmung der nicht akut giftigen wirkung von abwasser gegenüber daphnien über verdünnungstufen norma din 38412 teil 30 (1 30). DIN 38412. 1989.
- ESTER, B.; PEREIRA, G. Cultivo do microcrustáceo *Daphnia magna*: desafios e empregabilidade para estudos ambientais. **Universidade Federal da Fronteira Sul**. n. 2014, p. 1–6, 2016. Disponível em: <<https://portaleventos.uffs.edu.br/index.php/simpos-sul/article/view/15653/10517>>. Acesso em: 18 jul. 2022.
- ISO (International Organization for Standizartion). **Water quality: Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Strauss (Cladocera, Crustacea)**. Paris, ISO, 2p. 1982.
- KNIE; LOPES, E. W. B. Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações. Florianópolis. **FATMA / GTZ**, 2004.
- LAITANO, K. S.; MATIAS, W. G. Testes de Toxicidade com *Daphnia magna* Uma Ferramenta para Avaliação de um Reator Experimental UASB. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 1, n. 1, p. 43–47, 2006.
- LIMA, R. Uso indiscriminado de repelentes traz riscos à saúde. **Conexão UFRJ: Memória**. Disponível online: <<https://conexao.ufrj.br/2011/03/uso-indiscriminado-de-repelentes-traz-riscos-a-saude>>. 2011. Acesso em 30 de agosto de 2022.
- MARTINS, J. G. Efeitos tóxicos de biocidas (hipoclorito de sódio e bronopol) no crustáceo cladocero *Daphnia magna*. **Universidade do Porto FCUP**. Portugal, 2013.
- MIODUSKI, J. Avaliação da toxicidade de extratos da semente de Moringa oleifera LAM. frente aos organismos *Daphnia magna* STRAUS. e *Artemia salina* LENCH. **Universidade Tecnológica Federal do Paraná**. Paraná. p. 82, 2014.
- OECD (Organization for Economic Co-operation and Development). **Guidelines for Testing of chemicals**. Section 4. Effects of biotic systems. OECD, 1981. 15p.
- OECD. (Organization for Economic Co-operation and Development). ***Daphnia sp.*, acute immobilisation test, revised proposal for updating guideline 202**. Organization for the Economic Cooperation and Development, Paris, France. 2000.
- OLIVEIRA, E. D.; LEMOS, I. N. Ação viricida do álcool em gel. **Diversitas Journal**, v. 6, n. 1, p. 757–768, 2021.
- PIMENTEL, KILMA GABRIELLE BARBOSA et al. Vantagens e Limitações de Soluções Antissépticas Na Higienização E Prevenção Frente Ao Novo Coronavírus. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 16, n. 4, 2020.
- RAND, G. M. Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, environmental fate, and risk assessment. **Ed. Taylor & Francis**, v. 2ed., p. 114, 1995.

ROSA, J. S. S.; VANZELE, P. A. R.; SANTOS, H. C. DE A. S. DOS. As implicações do uso do álcool gel na microbiota das mãos durante a pandemia. **Conjecturas**, v. 21, n. 5, p. 631–643, 2021.

USEPA. EPA **Probit Analysis Program Used for Calculating LC/EC Values**. Version 1.5, Ecological Monitoring Research Division, Environmental Monitoring Systems Laboratory, U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, OHIO, 45628. 1999.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. **Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms**. USEPA, Cincinnati, 215p. 1985.

WEBER, C. I. **Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms**. 4th ed. United States Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio. 275p. 1993.

WOLLENBERGER, L.; HALLING-SØRENSEN, B.; K.O KUSK, K. O Acute and chronic toxicity of veterinary antibiotics to *Daphnia magna*. **Chemosphere**, 40(7): 723-730. 2000.

WONG, D. C.L., DORN, P. B., AND CHAI, E. Y. Acute toxicity and structure activity relationships of nine alcohol ethoxylate surfactants to fathead min now and *Daphnia magna*. **Environ. Toxicol. Chem.**, 16, 1970–1976. 1997.

Recebido em: 01/12/2023

Aprovado em: 21/12/2022

Publicado em: 06/02/2023