

KRAJOWA KOMISJA ETYCZNA
DO SPRAW DOŚWIADCZEŃ NA ZWIERZĘTACH

z s. Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego
ul. Wspólna 1/3, 00-529 Warszawa

UCHWAŁA nr 30/2026
Krajowej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach
z dnia 24 lipca 2026 roku

Na podstawie art. 33 ust. 1 pkt 2 ustawy z dnia 15 stycznia 2015 r. *o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych* (Dz.U. z 2023 r. poz. 465 ze zm.), uchwala się, co następuje:

§ 1

Krajowa Komisja Etyczna do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach (dalej: KKE) ustala opisane w załączniku do niniejszej uchwały **dobre praktyki** w zakresie **uśmiercania zwierząt z wykorzystaniem dwutlenku węgla**.

§ 2

Niniejszą uchwałę udostępnia się do wiadomości oraz stosownego wykorzystywania przez lokalne komisje etyczne do spraw doświadczeń na zwierzętach i zespoły ds. dobrostanu zwierząt oraz publikuje się w Biuletynie Informacji Publicznej na stronie podmiotowej ministra właściwego do spraw szkolnictwa wyższego i nauki oraz na stronie internetowej KKE.

§ 3

Niniejszą uchwałą uchyla się uchwałę KKE nr 42/2018 z dnia 14 grudnia 2018 w sprawie dobrych praktyk w zakresie uśmiercania zwierząt z wykorzystaniem dwutlenku węgla.

§ 4

Uchwała wchodzi w życie z dniem podjęcia.

dr hab. Radosław KOWALSKI, prof. Instytutu
Przewodniczący
Krajowej Komisji Etycznej
do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach

Dobre praktyki

Uśmiercanie zwierząt z wykorzystaniem dwutlenku węgla (CO₂)

Wstęp

Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady 2010/63/UE z dnia 22 września 2010 r. w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych (Dz.Urz. UE L 276 z 20.10.2010, str. 33, ze zm.; dalej: dyrektywa), a w ślad za nią ustawa z dnia 15 stycznia 2015 r. o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych (Dz.U. z 2023 r. poz. 465 ze zm., dalej „ustawa”), dopuszcza zastosowanie dwutlenku węgla (CO₂) jako jedną z metod uśmiercania gryzoni oraz ptaków.

Zalety wykorzystania CO₂ do uśmiercania zwierząt to:

- i) wywołanie przez CO₂ szybkiego efektu przeciwbólowego i znieczulającego, a zatem ograniczenie negatywnego oddziaływania na zwierzęta;
- ii) bezpieczeństwo stosowania – CO₂ jest gazem niepalnym i niewybuchowym.

Stosowanie CO₂ jako środek do uśmiercania zwierząt ma również istotne **wady**:

- i) występują duże i nie w pełni poznane różnice w odpowiedzi na wdychanie CO₂ między gatunkami zwierząt oraz między szczepami w obrębie tego samego gatunku, co utrudnia opracowanie jednego zalecanego protokołu postępowania;
- ii) u niektórych grup zwierząt CO₂ wywołuje silną awersję i dyskomfort, bez względu na wybrany protokół postępowania;
- iii) ponieważ CO₂ jest cięższy od powietrza, tworzenie warstw gazu przy niekompletnym wypełnieniu komory, w której wykonywane jest uśmiercanie umożliwia zwierzętom unikanie ekspozycji i przedłuża czas trwania uśmiercania.

Właściwości CO₂

Powietrze w mieście zawiera około 0.04% CO₂ - gazu, który jest dla ludzi prawie bezwonny, nawet w stężeniu 30%. Myszy potrafią jednak wyczuć CO₂ już przy stężeniu 0.04%, a aktywnie unikają CO₂ w stężeniu zaledwie 0.2%. U gryzoni opisano neurony węchowe ulegające depolaryzacji w odpowiedzi na CO₂, z progiem wykrywalności 0.1%, które prawdopodobnie nie mają odpowiednika u ludzi.

Zwierzęta doświadczalne, u których można stosować CO₂

Prawidłowe zastosowanie tej metody dla gryzoni wymaga umieszczenia zwierząt w atmosferze zawierającej stopniowo zwiększane stężenia dwutlenku węgla (CO₂). Należy jednak zaznaczyć, że zgodnie z przepisami metody uśmiercania zwierząt za pomocą CO₂ nie stosuje się w przypadku form embrionalnych i noworodków gryzoni.

Obecnie dowiedziono także, że CO₂ nie powinno być stosowane także w przypadku uśmiercania zwierząt gatunków zdolnych do zapadania w odrętwienie.

U gryzoni CO₂ nie powinien być stosowany do uśmiercania noworodków i bardzo młodych zwierząt, do drugiego tygodnia życia, ponieważ noworodki różnych gatunków są

szczególnie mało wrażliwe na działanie CO₂, zwłaszcza w pierwszych dniach po narodzeniu. Nawet przy wykorzystaniu wysokich stężeń CO₂ utrata przytomności u noworodków następuje po 30-60 minutach, w zależności od stopnia dojrzałości w momencie urodzenia (zwierzęta bardziej dojrzałe są wrażliwsze na działanie CO₂).

Dyrektywa stanowi także, że zastosowanie tej metody uśmiercania dopuszczalne jest w stosunku do ptaków. W odróżnieniu od regulacji dotyczących gryzoni, nie określono metody podawania CO₂ ani stadium rozwoju, w którym zastosowanie takiej metody jest niedopuszczalne. Należy jednak wyraźnie zaznaczyć, że obecnie dowiedziono, iż nie wolno stosować CO₂ do uśmiercania ptaków nurkujących, gdyż mogą na długo wstrzymywać oddech i wydajnie wykorzystywać metabolizm beztlenowy.

U zwierząt chorych, u których częstość oddechów lub wydajność wentylacji jest zmniejszona, powinno się stosować premedykację przed zastosowaniem uśmiercania metodą wziewną lub należy wybrać inną, nieinhalacyjną metodę.

Przy planowaniu doświadczeń należy również uwzględnić, że CO₂ może powodować zmiany w obrębie płuc i górnych dróg oddechowych oraz zmiany biochemiczne w mózgu, a także wpływać na biochemię krwi. Dlatego, jeśli po śmierci zwierzęcia pobierane mają być próbki z układu nerwowego lub oddechowego lub krew, lepiej wykorzystać inną metodę uśmiercania.

Skutki źle zastosowanego CO₂:

Aby podawany gaz wywołał efekt biologiczny, musi osiągnąć określone stężenie w pęcherzykach płucnych i krwi. Dlatego utrata przytomności przez zwierzę nie jest natychmiastowa. Wdychany CO₂ może wywoływać u zwierząt kwasicę oddechową i powodować odwracalną anestezję poprzez obniżenie wewnątrzkomórkowego pH. Wykazano, że wdychanie CO₂ o stężeniu 7,5% podwyższa próg bólu, a stężenie wynoszące 30% może powodować głębokie znieczulenie i śmierć dopiero przy długotrwałej ekspozycji.

CO₂ może wywoływać stres u zwierząt poprzez:

- i) ból związany z tworzeniem się kwasu węglowego na powierzchni oczu i błonach układu oddechowego,
- ii) uczucie duszności,
- iii) bezpośrednią stymulację kanałów jonowych w ciele migdałowatym, wywołującą uczucie strachu.

CO₂ nawet w niskich stężeniach może tworzyć kwas węglowy na wilgotnej powierzchni tkanek. Podrażnienie błon śluzowych nosa może powodować swędzenie i nadmierne wydzielanie śluzu, prowadzące do rozdrażnienia zwierzęcia. Przy wyższych stężeniach CO₂ tworzenie kwasu węglowego może wywoływać ból.

Wysokie stężenia CO₂ wywołują natomiast bezdech i zmniejszają częstość skurczów serca. U szczurów ekspozycja na 100% CO₂ prowadzi do ciężkiej niewydolności oddechowej i bradykardii, czego nie obserwuje się przy stężeniach 10%, 25% i 50%. To wskazuje, że stopniowe zwiększanie stężenia CO₂ stwarza mniejsze ryzyko wywołania bólu przed utratą przytomności przez zwierzę. Umieszczenie przytomnych zwierząt w 100% CO₂ jest niedopuszczalne etycznie i prawnie.

Przebieg prawidłowego uśmiercania za pomocą CO₂:

Uśmiercanie z wykorzystaniem CO₂ należy przeprowadzać w szczelnych pojemnikach, zapewniających regulację przepływu gazu tak, by można było dokładnie kontrolować stężenie CO₂ w komorze. Ma to kluczowe znaczenie dla humanitarnego przebiegu procesu. Komora powinna minimalizować hałas i ryzyko skaleczenia zwierzęcia. Strumień gazu nie może być

kierowany bezpośrednio na zwierzęta. Do uśmiercania wykorzystywany jest wyłącznie sprężony CO₂ z butli. Nie wolno używać suchego lodu (zbyt niska temperatura) lub gaśnic przeciwpożarowych (hałas) jako źródła CO₂.

Samo uśmiercanie może powodować u zwierzęcia stres, niepokój lub ból. Należy dołożyć wszelkich starań by je zminimalizować. Zwierzęta mogą próbować ucieczki, mogą wykazywać przyspieszony puls, zmienioną aktywność układu współczulnego (SNS) i osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (HPA). Należy przy tym pamiętać, że aktywacja SNS i HPA nie musi świadczyć o świadomym odczuwaniu stresu przez zwierzę.

Na dyskomfort zwierzęcia podczas uśmiercania wpływa nie tylko bezpośrednie działanie samego czynnika wywołującego śmierć, ale również czynności przygotowawcze: chwytanie, oddzielenie od znanych osobników, przenoszenie do nieznanego otoczenia, kontakt z nieznanymi zwierzętami. Czynniki te mają istotny wpływ na dobrostan. Jeżeli zwierzęta są w procesie uśmiercania łączone w grupy, muszą należeć do tego samego gatunku i nie mogą wykazywać agresji. W miarę możliwości nie należy łączyć zwierząt z różnych klatek.

Podstawowym sposobem zmniejszenia stresu jest uśmiercenie w klatce bytowej, bez przenoszenia zwierząt, najlepiej w okresie, kiedy nie są aktywne. Jest to stosunkowo łatwe w przypadku klatek indywidualnie wentylowanych. U szczurów uśmiercenie za pomocą stopniowego zwiększania stężenia CO₂ (ok. 33% na minutę) w klatkach bytowych nie wywoływało behawioralnych i biochemicznych oznak stresu szacowanych na podstawie pomiaru poziomu ACTH, glukozy i kortykosteronu w surowicy.

Jeżeli uśmiercenia nie można przeprowadzić w klatce bytowej, komory do tego przeznaczone należy opróżniać i czyścić po każdym użyciu, aby zminimalizować zapachy mogące powodować dodatkowy stres u kolejnych uśmiercanych zwierząt.

W przypadku uśmiercania z wykorzystaniem CO₂ należy brać pod uwagę dwa czynniki: duszność i lęk, które mogą pojawiać się już przy niskich stężeniach gazu, oraz ból, który może pojawiać się po przekroczeniu stężenia 40%. Z jednej strony należy dążyć do jak najszybszej utraty przytomności przez zwierzę – wymagany czas jest krótszy przy wysokich stężeniach gazu. Z drugiej strony konieczne jest zabezpieczenie zwierzęcia przed bólem poprzedzającym utratę przytomności.

Obecnie **wymagane jest stopniowe wypełnianie komory CO₂**, by zminimalizować ryzyko, że aktywacja receptorów bólowych przez kwas węglowy wystąpi przed utratą przytomności. W trakcie tego procesu zaleca się szybkość podawania gazu od 10% do 30% objętości komory na minutę, przy utrzymywaniu stężenia CO₂ w komorze poniżej 40% dopóki zwierzęta są przytomne. Są również badania wskazujące, że optymalna szybkość podawania gazu to 50% objętości komory na minutę, ale wciąż przy utrzymywaniu stężenia CO₂ w komorze poniżej 40% do czasu utraty przytomności przez zwierzęta. Taki protokół minimalizuje czas (do ok. 30 sekund) między odczuciem duszności (ocenianej na podstawie ciężkiego oddechu) a utratą przytomności. Po utracie przytomności przez zwierzęta stężenie CO₂ jest zwiększane u kawii domowej do 100%, u pozostałych gryzoni (co do zasady) do 70%.

W przypadku uśmiercania z wykorzystaniem CO₂ przepływ gazu (we właściwym stężeniu, tj. 70 lub 100%) należy utrzymywać przez co najmniej 1 minutę po zatrzymaniu oddychania zwierząt. Aby zminimalizować ryzyko przeżycia przez zwierzę, zwierzęta powinny pozostawać w komorze przez co najmniej 5-6 minut po zaprzestaniu aktywności ruchowej.

Metody potwierdzania zgonu:

Zgodnie z załącznikiem IV do Dyrektywy 2010/63/UE uśmiercanie zwierząt, w tym za pomocą CO₂, jest kończone zastosowaniem jednej z metod wymienionych poniżej:

- i) potwierdzenie trwałego zaniku krążenia;

- ii) zniszczenie mózgu;
 - iii) dyslokacja kręgów szyjnych;
 - iv) wykrwawienie lub
 - v) potwierdzenie początku stężenia pośmiertnego.
- Śmierć musi zostać potwierdzona u każdego zwierzęcia.

Literatura:

ACUC guideline on the use and euthanasia procedures of chicken-avian embryos. Approved by the ACUC February 9, 2012.

American Veterinary Medical Association. AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2007 Edition.

American Veterinary Medical Association. AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2013 Edition.

Boivin GP, Hickman DL, Creamer-Hente MA, Pritchett-Corning KR, Bratcher NA. Review of CO₂ as a Euthanasia Agent for Laboratory Rats and Mice. J Am Assoc Lab Anim Sci. 2017 Sep 1;56(5):491-499. PMID: 28903819; PMCID: PMC5605172.

Close B, Banister K, Baumans V, Bernoth EM, Bromage N, Bunyan J, Erhardt W, Flecknell P, Gregory N, Hackbarth H, Morton D, Warwick C. Zalecenia dotyczące eutanazji zwierząt doświadczalnych: część 1. Komentarz do zarządzenia 86/609/EEC Komisji Europejskiej nr L 358, ISSN 0378-6978.

Cressey D. Rodent euthanasia methods under scrutiny. Nature; 2012. doi:10.1038/nature.2012.12083.

Hawkins P, Prescott MJ, Carbone L, Dennison N, Johnson C, Makowska IJ, Marquardt N, Readman G, Weary DM, Golledge HDR. A good death? Report of the Second Newcastle Meeting on Laboratory Animal Euthanasia. Animals 2016; doi:10.3390/ani6090050.

Karmarkar SW, Bottum KM, Tischkau AA. Considerations for the use of anesthetics in neurotoxicity studies. Comp Med 2010; 60: 256–262.

Leach MC, Howell VA, Allan TF, Morton BD. Measurement of aversion to determine humane methods of anaesthesia and euthanasia. Animal Welfare 2004; 13: S77-86.

Moody CM, Chua B, Weary BM. The effect of carbon dioxide flow rate on the euthanasia of laboratory mice. Lab Animals 2014; 48: 298–304.

National Research Council. Recognition and alleviation of pain and distress in laboratory animals. Chapter 7: Euthanasia. The National Academies Press OpenBook. 1992.

National Research Council. Guide for the care and use of laboratory animals. Eighth Edition. National Academies Press 2010.

Pritchett K, Corrow D, Stockwell J, Smith A. Euthanasia of neonatal mice with carbon dioxide. *Comp Med* 2005; 55: 275-281.

Pritchett-Corning K. Euthanasia of neonatal rats with carbon dioxide. *JAALAS* 2009; 48: 23-27.

Toussaint I. Alternative methods for killing laboratory animals: Summary of a published advisory report by the Netherlands national Committee for the protection of animals used for scientific purposes and for education (NCad). *Lab Anim.* 2017 Apr;51(2):222-223. doi: 10.1177/0023677217695435. PMID: 28332933.