

# Nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của phương pháp nuôi ghép ổ đến năng suất sinh sản của chuột Mlac:ICR trong điều kiện nuôi khép kín tại Viện Kiểm định quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế

## Effect of grouped raising method on reproductive performance of MLAC:ICR mice in controlled condition at National Institute for Control of Vaccines and Biologicals

Nguyễn Chí Hiếu<sup>1\*</sup>, Mẫn Thị Thành<sup>1</sup>,  
Phạm Hồng Trang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>: Viện kiểm định Quốc gia Vắc xin  
và Sinh phẩm Y tế

<sup>2</sup>: Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Nguyen Chi Hieu<sup>1\*</sup>, Man Thi Thanh<sup>1</sup>,  
Pham Hong Trang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>: National Institute for Control of Vaccines  
and Biologicals

<sup>2</sup>: Vietnam National University of Agriculture

### TÓM TẮT

Nghiên cứu mô tả thực nghiệm trên 132 chuột mẹ và 924 chuột nhắt trắng sơ sinh giống Mlac:ICR nuôi tại Viện Kiểm định Quốc Gia Vắc xin và Sinh phẩm Y tế từ tháng 6/2020 đến tháng 12/2020 nhằm đánh giá ảnh hưởng của phương pháp nuôi ghép ổ đến hiệu quả sinh sản của chuột Mlac:ICR. Kết quả nghiên cứu cho thấy, trong quá trình ghép 3 ổ/lồng không có sự khác biệt về thể trạng của chuột mẹ khi cai sữa ( $p > 0,05$ ) so với nhóm chuột mẹ nuôi riêng 1 ổ/lồng. Đối với đàn chuột con, tăng trọng của nhóm chuột được nuôi ghép ổ cao hơn so với nhóm nuôi riêng ổ. Trọng lượng trung bình/con tại thời điểm 7, 14 và 20 ngày (cai sữa) của nhóm chuột nuôi riêng lần lượt là 5,94 gr; 8,97 gr và 12,33 gr. Trọng lượng trung bình/con tại cùng thời điểm theo dõi của nhóm nuôi ghép ổ đạt lần lượt là 6,51 gr; 9,7 gr và 13,25 gr. Sự sai khác về thể trọng tại cả ba thời điểm cân giữa

### ABSTRACT

The descriptive study was conducted on 132 Mlac:ICR dams and 924 pups raised at the National Institute for Control of Vaccine and Biologicals from June to December 2020 to evaluate the effect of grouping method on reproductive efficiency of Mlac:ICR mice. The study results revealed that there was no difference ( $p > 0.05$ ) in the physical scores of dams at weaning among grouped (3 litters/cage) compare to individual rearing dams (1litter/cage). The pups' weight gain of grouped litters was higher compared to control litter. The mean weight/pup at 7, 14, and 20 days (weaning) of the control group was 5.94 gr, 8.97 gr, and 12.33 gram, respectively. The average weight of the litter group's pup at the same measured time point was 6.51 gr, 9.7 gr, and 13.25 gram, respectively. The difference in body weight at all

\*: Tác giả chính: Nguyễn Chí Hiếu  
ĐT: 0983109788  
Email: nguyenhieu210.nicvb@gmail.com

\*: Coressponding Investigator: Nguyen Chi Hieu  
Phone: 0983109788  
Email: nguyenhieu210.nicvb@gmail.com

2 nhóm chuột là có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Số lượng con cai sữa trung bình/ổ của nhóm nuôi ghép và nuôi riêng lần lượt là 6,92 và 6,67 con/ổ ( $p < 0,05$ ). Thí nghiệm nuôi ghép ổ cho thấy, phương pháp nuôi ghép 3 ổ/lồng không ảnh hưởng đến chỉ tiêu thể trạng của chuột mẹ đồng thời cho hiệu quả sinh sản cao hơn trên phương diện tăng trọng của đàn con và số con sống sót đến cai sữa.

Từ khóa: *Chuột Mlac:ICR, nuôi ghép ổ, hiệu suất sinh sản, tăng trọng, cai sữa.*

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chuột thí nghiệm là đối tượng được sử dụng phổ biến trong các nghiên cứu độc chất học, ung thư, nhiễm trùng và dược lý học [2, 13]. Theo Nghị định thư Nagoya, chuột thí nghiệm không những đóng vai trò không thể thiếu đối với các ngành khoa học sự sống mà chúng còn là nguồn tài nguyên quan trọng. Trong số các loài chuột thí nghiệm, ICR là loài chuột lai được dụng phổ biến nhất với số lượng các nghiên cứu thực hiện trên loại chuột này tăng dần qua các năm bởi chúng có hiệu suất sinh sản tốt, rẻ, khoẻ mạnh và sinh trưởng nhanh [8]. Chuột ICR là sản phẩm lai tạo từ chuột Thụy Sĩ vào năm 1926 và năm 1974 được chính thức thông qua bởi Viện Nghiên cứu Ung thư (Institute of Cancer Research - ICR). Chuột ICR đã được các công ty bắt đầu đưa vào thương mại từ những năm 1959 và hiện tại, nhiều nhà nghiên cứu trên khắp thế giới đã tiến hành lai tạo ra nguồn ICR riêng phục vụ cho mục đích nghiên cứu hoặc thương mại [13]. Hiện nay, chuột Mlac:ICR có nguồn gốc từ Đại học Mahidol, Thái Lan đã được chuyển giao từ năm 2017 và nuôi làm đối tượng chuột thí nghiệm chính tại Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế, Việt Nam.

Đối với động vật thí nghiệm, quyền động vật là một vấn đề gây nhiều tranh cãi, đặc biệt là trên phương diện mật độ nuôi. Mặc dù mật độ nuôi chuột thí nghiệm đã được hướng dẫn cụ thể trong Hướng dẫn Chăm sóc và Sử dụng Động vật Phòng thí nghiệm [6], rất nhiều nghiên cứu đã cho thấy rằng, các dữ liệu về diện tích sàn tối thiểu cho mỗi

three-time points between two groups of mice was statistically significant ( $p < 0.05$ ). The results suggested that group 3 litter/cage did not affect the physical parameters of the dams and elevate reproductive performance in terms of weight gain of the pups and the number of survived offspring at weaning..

Keywords: *Mlac:ICR mice, polyculture, reproductive performance, weight gain, weaning.*

## I. INTRODUCTION

Laboratory mice are commonly used as study subjects in toxicology, oncology, infection and pharmacology [2, 13]. According to the Nagoya Protocol, laboratory mice not only play an indispensable role in the life sciences research, but they are also a valuable resource. Because of their high fertility rate, low cost, health, and rapid growth, ICRs have become the most commonly used hybrid mouse species in laboratory studies, the number of studies conducted on ICR mouse has risen over time [8]. The ICR mouse is a hybrid product from the Swiss mouse in 1926 and was officially approved in 1974 by the Institute of Cancer Research (ICR). ICR mice have been commercialized by companies since 1959, and now, many research institutes around the world have developed their own ICR sources for research or commercial purposes [13]. Currently, Mlac:ICR mice (originating from Mahidol University, Thailand) have been bred and raised at the National Institute for Control Vaccine and Biologicals (NICVB) in Vietnam since 2017 as the main laboratory mice.

For laboratory animals, animal rights are a controversial issue, especially in terms of housing density. Although the Guidelines for the Care and Use of Laboratory Animals (6-abbreviated as the Guide) have recommends for housing density, however, numerous studies have shown that the minimum floor space per

con chuột của Hướng dẫn này còn rất nhiều khía cạnh cần cân nhắc [12]. Điều này có thể do định hướng nghiên cứu khác nhau, ví dụ như chủ động tăng mật độ chuột nuôi để nghiên cứu các phản ứng sinh lý của chuột trước yếu tố stress này [4]; Một số nghiên cứu lại cho thấy việc ghép thêm chuột cái có tác dụng hỗ trợ những dòng “khó nuôi” hoặc nuôi chung 2 hoặc 3 chuột cái đang mang thai trong cùng một lồng mà không cần tách riêng sau khi chuột sinh sản [3]. Trong các lần tái bản trước đó của Hướng dẫn (1963; 1972 và 1974; 1978 và 1980; 1985 và 1996), trọng lượng là một căn cứ duy nhất để xác định diện tích sàn tối thiểu cho mỗi chuột thí nghiệm. Tuy nhiên, diện tích sàn tối thiểu cho chuột mẹ và đàn con đã lần đầu tiên được đề cập đến trong Hướng dẫn, tái bản năm 2011. Điều này được cho rằng là có nguồn gốc từ những dữ liệu của Hội đồng Châu Âu (1998) được đề cập trên đây [5].

Trong các thử nghiệm trên động vật thí nghiệm, việc cung cấp chuột nhất trắng đảm bảo về số lượng, trọng lượng và chất lượng, kịp thời là vấn đề quan trọng. Theo những nghiên cứu trước đây từ Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế, hàng năm cần trên 10 nghìn con chuột nhất trắng sử dụng trong công tác kiểm định chất lượng vắc xin và sinh phẩm y tế [10]. Do đó, việc lập kế hoạch ghép phối và tìm biện pháp nâng cao hiệu quả sinh sản để đáp ứng kịp thời yêu cầu về động vật thí nghiệm là cần thiết. Thử nghiệm nuôi ghép đàn chuột cái từ giai đoạn mang thai và sau khi sinh đã được thực hiện nhằm đánh giá tác động của yếu tố mật độ tới hiệu quả và năng suất sinh sản của chuột Mlac:ICR.

## II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Cỡ mẫu

Dung lượng mẫu được xác định theo công thức của Taro Yamane (1973)

#### Trong đó:

$n$  là dung lượng mẫu;

$N$  là quy mô đàn;

$e$  là sai số tiêu chuẩn.

$$n = \frac{N}{1 + N(e)^2}$$

mouse recommends in the Guide has many aspects that need to be reevaluated [12]. This may be due to different research purposes, for example, increasing the housing density to study the physiological responses of mice to this stress factor [4]; Some studies have shown that adding female mice has the effect of supporting “difficult to breed” lines or keeping 2 or 3 pregnant female in the same cage without separating after the mice reproduce [3]. In earlier editions of the Guide (1963; 1972 and 1974; 1978 and 1980; 1985 and 1996), weight was the sole factor used to determine the minimum floor space per mouse. Eventhough the recommendations for minimum amount space required for dams with litter were first made in the 2011 Guide. This is believed to be derived from the data of Council of Europe (1998) mentioned above [5].

For laboratory animal research, the timely supply of white mice in terms of quantity, weight, and quality is important. According to previous studies from the National Institute for Control Vaccine and Biologicals, annually over 10,000 white mice are needed to be used in the quality control of vaccines and biological products [10]. Therefore, it is necessary to have plan for mating and find measures to improve reproductive efficiency to promptly meet the requirements of laboratory animals. A trial of female mice populations from pregnancy and postpartum period was performed to evaluate the effect of density factor on reproductive efficiency and performance of Mlac:ICR mice.

## II. RESEARCH METHODS

### 2.1 Sample size

The sample capacity was determined according to the formula of Taro Yamane (1973).

#### in which:

$n$  = sample size,

$N$  = population size,

$e$  = standard error,

$$n = \frac{N}{1 + N(e)^2}$$

Cụ thể, trong nghiên cứu này đối với đàn chuột mẹ  $N \approx 200 - 250$  và sai số tiêu chuẩn  $e = 10\%$ ; đối với đàn chuột con  $N \approx 15000$  và sai số tiêu chuẩn  $e = 5\%$ .

Như vậy, cỡ mẫu là 66 - 100 con đối với đàn chuột mẹ và là 389 con đối với đàn chuột con.

### 2.2. Nguyên liệu

Trấu lót ổ, thức ăn, nước uống, cân điện tử theo dõi cân nặng và điều kiện nuôi dưỡng theo qui trình khép kín theo khuyến cáo WHO (nhiệt độ  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , độ ẩm  $55 \pm 10\%$ , chu kỳ chiếu sáng 12 giờ sáng/12 giờ tối, độ ồn  $< 60\text{ dB}$ ).

### 2.3. Đối tượng nghiên cứu và bố trí thí nghiệm

Đối tượng được sử dụng trong nghiên cứu là chuột Mlac:ICR. Lựa chọn những chuột cái đã đẻ 1 lứa có số lượng và trọng lượng cai sữa của chuột con đạt độ đồng đều cao. Sau khi dứt sữa toàn bộ con, chuột cái đạt tiêu chuẩn về thể trạng ( $\geq 35\text{g}$ ), khoẻ mạnh, không có tổn thương, không có biểu hiện bệnh lý sẽ được sử dụng làm thử nghiệm. Chuột được ghép 6 con/lồng sau khi tách đực. Sau 17 - 18 ngày ghép phối, chọn chuột chửa có độ đồng đều về thể trạng và tiến hành ghép lô thí nghiệm. 66 chuột thí nghiệm được chia vào 22 lồng nhựa (3 con/lồng) kích thước  $25 \times 40 \times 14\text{cm}$  và 66 chuột nhóm chứng được nuôi riêng lồng (1 con/lồng) kích thước  $12 \times 30 \times 13\text{cm}$ . Kích thước lồng thương mại được chọn căn cứ theo Hướng dẫn (tái bản năm 2011) trong bảng 1.

In this study for the dams population  $N \approx 200 - 250$  and standard error  $e = 10\%$ ; for the pups  $N \approx 15000$  and standard error  $e = 5\%$ .

Thus, the sample size is 66 - 100 for the dams and 389 for the pups.

### 2.2. Material

Rice husks, pellet food, drinking water, electronic scales to monitor weight and rearing conditions according to a closed procedure according to WHO recommendations (temperature  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , humidity  $55 \pm 10\%$ , 12 light/12 dark cycle, noise level  $< 60\text{dB}$ ).

### 2.3. Research object and experimental set-up

Subjects used in the study were Mlac:ICR mice. Female mice, that have given birth to a litter with a high uniformity in the number and amount of weaning of the pups, were selected. After weaning the whole pup, the dams, that meet the physical standard ( $\geq 35\text{g}$ ), are healthy and have neither lesions nor pathological manifestations will be used for this research. Mice were paired with 6 mice/cage after separating males. After 17-18 days of mating, select pregnant mice with uniformity in body condition and conduct experimental grouping. 66 experimental mice were divided into 22 plastic cages (3 mice/cage) with the size of  $25 \times 40 \times 14\text{cm}$  and 66 control mice were kept in separate cages (1 mouse/cage) with size  $12 \times 30 \times 13\text{cm}$ . Commercial cage sizes were selected based on the Guide (revised 2011) in Table 1. Which:

**Bảng 1. Diện tích sàn lồng cho chuột thí nghiệm**

**Table 1. Cage floor area for laboratory mice**

(Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 2011)

STT	Trọng lượng chuột (g)	Diện tích cho 1 chuột (cm <sup>2</sup> )
1	< 10	38,7
2	10 - 15	51,6
3	16 - 25	77,4
4	> 25	$\geq 96,78$
5	Ổ (1 mẹ và đàn con)	330

No.	Mouse weight (g)	Area for 1 mouse (cm <sup>2</sup> )
1	< 10	38,7
2	10 - 15	51,6
3	16 - 25	77,4
4	> 25	$\geq 96,78$
5	Group (1 mother and litter)	330

Thể trạng chuột được theo dõi theo bảng chấm điểm đánh giá dấu hiệu lâm sàng (Bảng 2) dưới đây.

The condition of the mice was monitored according to the clinical signs evaluation scoreboard (Table 2) below.

**Bảng 2. Bảng chấm điểm đánh giá dấu hiệu lâm sàng (15, 16)**  
**Table 2. Scorecard for assessment of clinical signs (15, 16)**

DẤU HIỆU SIGN	0	1	2	3
<b>Hoạt động</b> Action	Bình thường Normal	Tư thế bất thường Isolated Abnormal posture	Hoạt động bất thường Hoạt động quá mức Huddled inactive/ Overactive	Hấp hối Moribund
<b>Di chuyển</b> Movement	Bình thường Normal	Dáng đi bất thường Slight incoordination Abnormal gait	Đi bằng mũi chân Di chuyển cứng bức Incoordinated Walk on tiptoe Reluctance to move	Di chuyển vòng tròn Lết chân Tàn tật Staggering, Limb dragging Paralysis
<b>Cơ thể</b> Body condition	Ít nhìn thấy xương sống lưng Well-conditioned Less visible dorsal spine		Xương sống lưng nhô lên Under conditioned Back spine protruding	Xương sống lưng nhô cao, lộ rõ Emaciated High back spine, clearly exposed
<b>Mắt</b> Eye	Bình thường Normal	Uớt hoặc không trong Wetness or dullness	Chảy dịch, díp mắt Discharge, Eyelid matted	Mắt lồi, tổn thương giác mạc Exophthalmia, corneal rupture
<b>Mũi</b> Nose	Bình thường Normal	Uớt Wetness	Chảy dịch trong Serous discharge	Chảy dịch mủ Purulent discharge
<b>Phân</b> Feces	Bình thường Normal	Phân nhão Loose feces	Ỉa chảy Watery diarrhea Soiled perineum	Ỉa ra máu Bloody diarrhea No feces over 48hrs
<b>Da</b> Skin	Bình thường Normal	Lông xù, không mượt Coat rough, reduced grooming	Có tổn thương Thưa lông Wound Hair thinning Absence grooming	Có vết thương chảy máu, có u nhọt Bleeding/infected wounds Self mutilation

Tiến hành cân trọng lượng chuột mẹ và đàn chuột con vào các thời điểm 1, 7, 14 và 20 ngày (cai sữa). Đánh giá năng suất sinh sản của chuột mẹ thông qua các chỉ tiêu phục hồi thể trạng của chuột mẹ và độ đồng đều của đàn con.

Dữ liệu được tổng hợp trên phần mềm Microsoft Excel và xử lý thống kê trên phần mềm SPSS.

Weight of the dam and litter were weighed at 1, 7, 14 and 20 days (weaning). Evaluation of the reproductive performance of the mother mouse through the indicators of maternal recovery and the uniformity of the offspring.

The data was synthesized on Microsoft Excel software and statistically processed on SPSS software.

### III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

#### 3.1. Kết quả đánh giá chuột mẹ sau thử nghiệm nuôi ghép ổ

Thể trạng chuột mẹ sau cai sữa là một trong các chỉ tiêu quyết định đến khả năng tiếp tục sử dụng cho các đợt phối sau từ đó phản ánh khả năng sinh sản của chuột mẹ. Sau khi tiến hành thử nghiệm ghép ổ, tiến hành cân trọng lượng chuột mẹ tại thời điểm cai dứt sữa (20 ngày). Thông qua các chỉ tiêu về thể trạng và cân nặng, đánh giá tỷ lệ chuột mẹ đạt tiêu chuẩn sau cai sữa giữa nhóm thí nghiệm và nhóm chứng, kết quả được trình bày trong bảng 3.

#### Bảng 3. Kết quả so sánh tỷ lệ chuột mẹ đạt tiêu chuẩn sau cai sữa

\*: dữ liệu trong cùng một cột không có sự sai khác thống kê với  $p > 0,05$

**Table 3. Comparison of mother mouse that meet the standards after weaning**

\*: data in the same row doesn't have statistical difference with  $p > 0.05$

Nhóm thí nghiệm Experimental group	Số con đạt Pass to the next batch	Tỷ lệ (%) Percentage(%)	Số con không đạt Fail	Tỷ lệ (%) Percentage (%)
Nuôi ghép ổ (n = 66) Grouped raise (n = 66)	61	92,78*	5	7,22
Nuôi riêng (n = 66) Individual raise (n = 66)	60	90,83*	6	9,17

Kết quả thử nghiệm cho thấy không có sự khác biệt thống kê về tỷ lệ đồng đều của chuột mẹ sau thời gian nuôi thử nghiệm. Đối với nhóm thí nghiệm ghép 3 ổ/lồng, có tất cả 5 chuột không đạt các chỉ tiêu về thể trạng và trọng lượng sau cai sữa chiếm khoảng 7%. Trong khi đó, ở nhóm đối chứng nuôi riêng 1 ổ/lồng, có 6 chuột có thể trạng gầy và không hồi phục sau thời gian nuôi con và phải loại thải (chiếm khoảng 9%). Tuy nhiên, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

Thử nghiệm đánh giá ảnh hưởng của điều kiện sản tối thiểu đến năng suất sinh sản của các giống chuột khác nhau đã được thực hiện

### III. RESULTS AND DISCUSSION

#### 3.1. Evaluation the dam after the grouped experiment

Post-weaning dam's condition is one of the decisive criteria for the mice to be able to continue in the next mating cycles, thereby reflecting the reproductive ability of the mother mouse. After conducting the grouping test, the mother was weighed at the time of weaning (20 days). Base on body condition and weight, the results of dams, that meet the standards after weaning between the experimental group and the control group, are presented in Table 3.

The test results showed that there was no statistical difference in the homogeneity of the dams after the experimental period. For the experimental group of 3 litters/cage, there were all 5 mice that did not meet the criteria of body condition and post-weaning weight, accounting for about 7%. Meanwhile, in the control group reared separately in 1 litter/cage, there were 6 mice whose body was thin and did not recover after the period of rearing and had to be discarded (accounting for about 9%). However, this difference was not statistically significant ( $p > 0.05$ ).

Experiments to evaluate the effect of floor

bởi nhiều nghiên cứu trước đây. O'Malley và cộng sự (2008) [12] đã đánh giá ảnh hưởng của mật độ nuôi đến các chỉ tiêu sinh sản của chuột ICR (Harlan Sprague Dawley, Frederick, MD). Trong thể hệ thứ nhất, người ta tiến hành thử nghiệm nuôi nguyên đàn con hoặc tách 6 con/chuột mẹ. Những chuột con này (thế hệ thứ 2) được sử dụng để đánh giá năng suất sinh sản với điều kiện sàn chuồng tối thiểu theo Hướng dẫn [6]. Kết quả đánh giá cho thấy, không có sự khác biệt về thể trọng giữa hai nhóm chuột. Trong một thí nghiệm khác thực hiện bởi Gaskill và Pritchett-Corning (2015) trên chuột Crl:CD1 (ICR) và C57BL/6NCrl cho thấy, năng suất sinh sản của chuột không chịu ảnh hưởng bởi các yếu tố như kích thước sàn tối thiểu hoặc nuôi ghép ổ [5]. Tuy nhiên, các tác giả này cũng cho rằng, mặc dù các chỉ tiêu sinh sản có thể không chịu tác động, nhưng những hành vi của chuột mẹ trong thời gian ghép ổ có những thay đổi khi bắt đầu xuất hiện đàn chuột con. Theo Katherin Wasson (2017), việc ghép ổ 2 cái - 1 đực không gây ảnh hưởng tới các chỉ tiêu năng suất sinh sản của chuột cái so với nuôi cặp 1 cái - 1 đực trong điều kiện diện tích sàn tối thiểu theo quy định của Hướng dẫn [7]. Ngoài ra, Shin và cs (2017) cho biết, trong cùng một điều kiện nuôi dưỡng, không có sự khác biệt về các chỉ tiêu năng suất sinh sản giữa chuột Korl:ICR, A:ICR (Crl:CD1 (ICR)) và B:ICR (Tac:ICR) [13].

Từ những kết quả trên cho thấy, quy định về diện tích sàn tối thiểu theo Hướng dẫn không thực sự có ý nghĩa tác động đến chỉ tiêu thể trạng của chuột cái nuôi con. Thực tế nghiên cứu cho thấy, phạm vi hoạt động của chuột hoang đã khác với chuột thí nghiệm. Chuột hoang đã có xu hướng hoạt động rộng hơn trong khi chuột thí nghiệm có xu hướng hoạt động trong phạm vi hẹp xung quanh ổ của chúng [1]. Điều này có thể chịu sự chi phối cũng như sự hiện hữu của

space on the reproductive performance of different mice breeds have been performed in many previous studies. O'Malley et al (2008) [12] evaluated the effect of housing density on the reproductive parameters of ICR mice (Harlan Sprague Dawley, Frederick, MD). In the first generation, a trial was conducted to raise the whole brood or separate 6 pups/dam. These pups (2nd generation) were used to assess reproductive performance with minimal floor space according to the Guide [6]. The results showed that there was no difference in body weight between the two groups of mice. In another experiment performed by Gaskill and Pritchett-Corning (2015) [5] on Crl:CD1 (ICR) and C57BL/6NCrl mice, reproductive performance of mice was not affected by factors such as minimum floor size or nest culture. However, these authors also suggest that, although reproductive parameters may not be affected, the behavior of the mother mice during nesting changes as well as the pups begin to appear. According to Katherin Wasson (2017), the mating of group : 2 females - 1 male did not affect the reproductive performance parameters of female compared with rearing 1 female - 1 male pairs in the condition of minimal floor area. in accordance with the Guidelines [7]. In addition, Shin et al (2017) reported that, under the same rearing conditions, there was no difference in reproductive performance parameters between Korl:ICR, A:ICR mice (Crl:CD1 (Crl:CD1 (ICR)) and B:ICR (Tac:ICR) [13].

From the above results, it is shown that the recommendations on the minimum floor area according to the Guide does not really have a significant impact on the physical health of female mice while raising litter. In fact, the study shows that the range of activity of wild mice is different from that of laboratory mice. Wild mice tend to be more active while laboratory mice tend to be active in a narrow range around their nest

nguồn cung thức ăn [5]. Do đó, việc xác định diện tích sàn tối thiểu cho chuột đẻ (chuột mẹ và đàn con) hoặc ghép ổ nhiều đàn trong cùng một không gian nuôi cần được nghiên cứu sâu hơn nữa để có thể xác định được số lượng ổ chuột ghép tối đa mà tại điều kiện đó không ảnh hưởng đến các chỉ tiêu năng suất sinh sản cũng như hành vi của đàn chuột.

### 3.2. Kết quả đánh giá tăng trọng của đàn chuột con nuôi thử nghiệm

Các chỉ tiêu thể trạng của chuột con được đánh giá theo bảng 1. Cân nặng được đo vào các ngày 1, 7, 14 và 20 ngày. Kết quả so sánh giữa nhóm thí nghiệm và nhóm chứng được trình bày trong bảng 4.

[1]. This can be governed by the presence of a food supply [5]. Therefore, further studies on the maximum number of grouped in a cage did not affect the reproductive performance as well as the behavior of the mouse need to be done in order to determine the minimum floor area for breeding mice (mother and litters) or multiple group in the same rearing space.

### 3.2. Evaluation results of weight gain of the experimental pups

The physical parameters of the pups were assessed according to Table 1. Weight was measured on days 1, 7, 14 and 20 days. The results of the comparison between the experimental group and the control group are presented in Table 4.

**Bảng 4. Kết quả so sánh trọng lượng của chuột con nuôi thử nghiệm (g/con)**  
**Table 4. Weight comparison results of experimental pups (g/pup)**

Thời điểm cân Time	Nuôi riêng (1 ổ/lồng) Separate rearing (1 group/cage)				Nuôi ghép ổ (3 ổ/lồng) Nest culture (3 groups/cage)			
	n	Mean ± SD	Max	Min	n	Mean ± SD	Max	Min
Sơ sinh New born	462	1,63±0,076	1,82	1,46	462	1,62±0,07	1,87	1,46
7 ngày 7 days	460	5,94±0,59 <sup>a</sup>	7,56	4,36	461	6,51±0,56 <sup>b</sup>	9,95	4,85
14 ngày 14 days	459	8,97±0,67 <sup>a</sup>	11,05	7,07	459	9,70±0,81 <sup>b</sup>	11,65	7,8
20 ngày 20 days	440	12,33±0,80 <sup>a</sup>	14,85	9,82	457	13,25±0,92 <sup>b</sup>	15,96	10,02

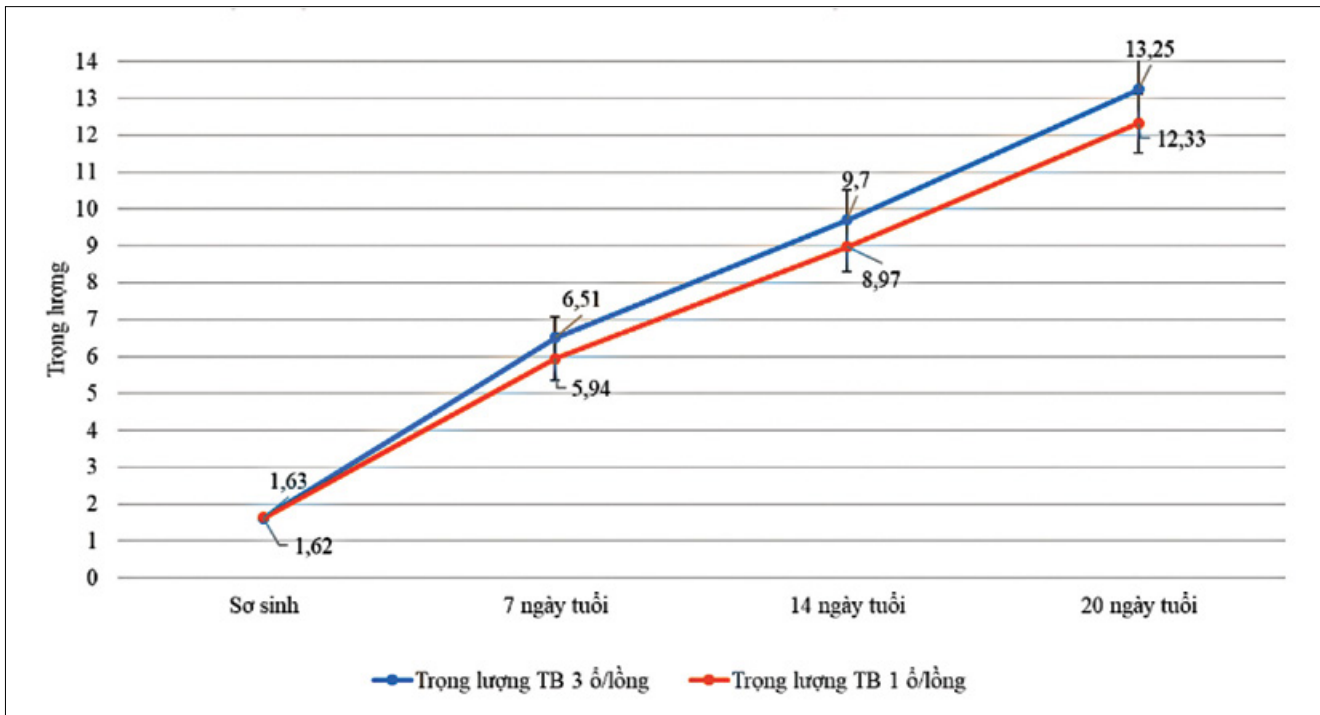
a, b: dữ liệu trong cùng một hàng có sự sai khác thống kê với  $p < 0,05$

Kết quả đánh giá tăng trọng trung bình qua thời gian theo dõi cho thấy cả hai nhóm chuột được nuôi dưỡng có xu hướng phát triển tăng dần theo thời gian. Ở nhóm nuôi riêng, chuột con cai sữa tăng trung bình 10,7g so với chuột sơ sinh; Chỉ số này là khoảng 11,63g ở nhóm chuột nuôi ghép ổ tại thời điểm 20 ngày. Sự tăng trọng trung bình này có sai khác thống kê giữa hai nhóm chuột nghiên cứu ( $p < 0,05$ ). Kết quả theo dõi được biểu diễn trong biểu đồ 1.

a, b: data in the same row have statistical difference with  $p < 0.05$

The results of the average weight gain over the follow-up period showed that both groups of mice tended to grow gradually over time. In the separate rearing group, the weaned pups gained an average of 10.7g compared to the new-born; This index was about 11.63g in the group of mice reared in grouped at 20 days. This average weight gain has a statistical difference between the two groups of mice studied ( $p < 0.05$ ). The tracking results are shown in Figure 1.





**Biểu đồ 1. Biểu đồ so sánh tăng trọng chuột con (ỏ) của nhóm thí nghiệm và nhóm đối chứng**  
**Chart 1. The chart comparing the weight gain of the mice of the experimental group and the control group**

Từ biểu đồ 1 cho thấy, Mean trọng lượng của chuột con nuôi ghép ỏ luôn có xu hướng cao hơn so với chuột nuôi riêng ỏ tại các thời điểm 7, 14 và 20 ngày tuổi mặc dù Mean trọng lượng sơ sinh không có sự khác biệt.

Trong thí nghiệm được thực hiện bởi O'Malley và cs (2008) [12], khi so sánh trọng lượng tại thời điểm 7, 14 và 20 ngày, trọng lượng trung bình ở đàn chuột con không tách ỏ lần lượt là 5,46 g; 8,59 g và 16,52 g; Trong khi đó, cùng thời điểm tương ứng, trọng lượng trung bình của đàn chuột con có tách 6 con/1 mẹ lần lượt là 6,57g; 11,28 g và 20,20 g. Điều này có thể là do chuột được sử dụng trong nghiên cứu này có năng suất sinh sản cao hơn so với thí nghiệm của chúng tôi. Theo nhóm tác giả trên đây, số con trung bình/lứa vào khoảng 11,4 con, kết quả, khi chỉ nuôi 6 con/1 mẹ thì khả năng tăng trọng của chuột con sẽ đạt ở mức cao hơn. Tuy nhiên, sự chênh lệch này lại không có ý nghĩa thống kê khi đánh giá khả năng tăng trọng của đàn chuột con ở thế hệ thứ 2. Do vậy, việc tách đàn có thể ảnh hưởng trực tiếp đến thế hệ thứ nhất (do mật độ thấp) nhưng không

From the chart 1 shows, mean weight of pups raised in test group always tends to be higher than that of mice reared individual at 7, 14 and 20 days of age, although mean of birth weight has no difference.

In the experiment performed by O'Malley et al (2008) [12], when comparing the weights at 7, 14 and 20 days, the mean weights in the non-separated pups were 5.46 g; 8.59 g and 16.52g respectively; Meanwhile, at the same time, the average weight of the pups with 6 pup/mother was 6.57 g; 11.28 g and 20.20 g respectively. This may be because the mice used in this study had a higher reproductive performance than in our experiment. According to the above authors, the average number of pup per litter is about 11.4 mice, as a result, when only 6 pups per dam are raised, the ability to gain weight of the pups will be at a higher level. However, this difference is not statistically significant when assessing the weight gain of the pups in the 2nd generation. Therefore, the separation of the pups may directly affect the first generation (due low density) but it is no longer meaningful

còn ý nghĩa khi tiếp tục duy trì mật độ đàn bình thường ở thế hệ sau.

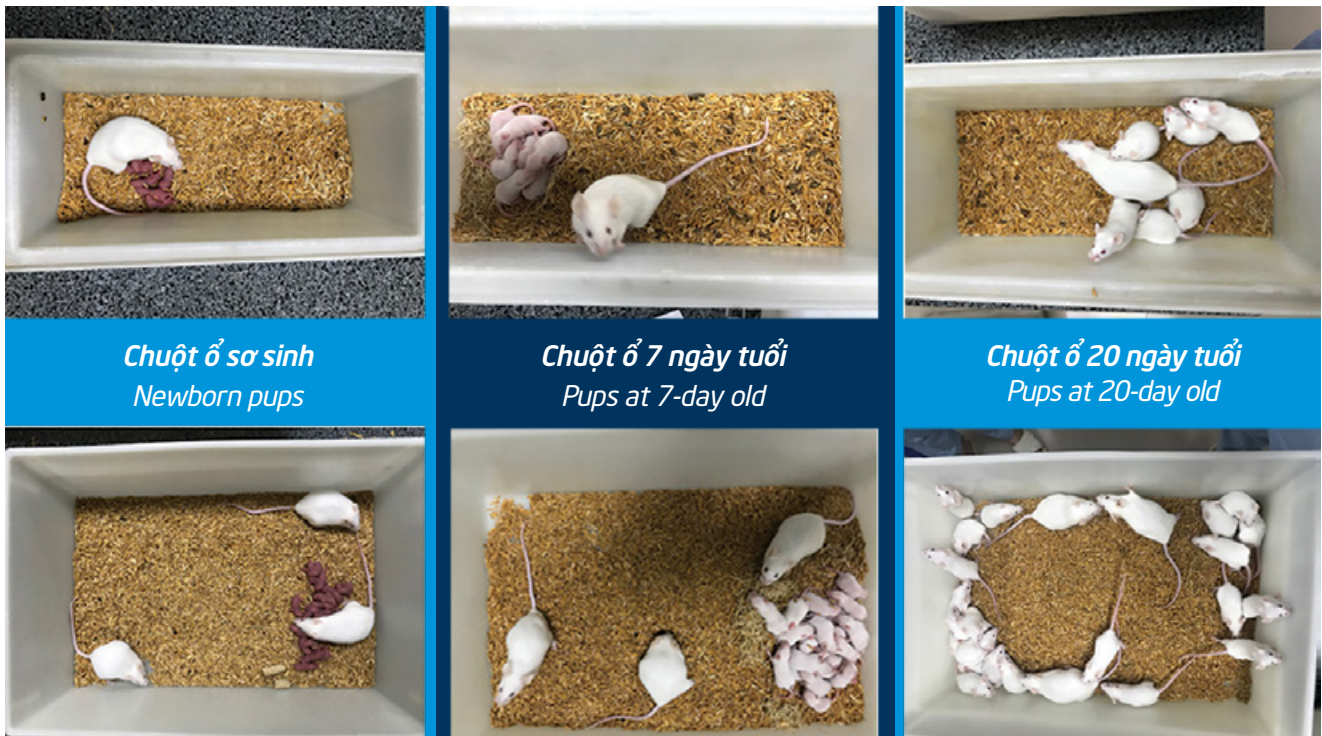
Trọng lượng cai sữa của đàn chuột con trong thí nghiệm nằm trong khoảng trọng lượng của chuột ICR tham chiếu từ một số nghiên cứu đã được công bố trước đây. Theo Shin và cộng sự (2017) [13], trọng lượng cai sữa trung bình của chuột Korl:ICR vào khoảng  $14,5 \pm 2,9$  g và chuột ICR thương mại là khoảng 11,5 g. Đồng thời, nhóm tác giả cũng khẳng định, sự chênh lệch này không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

Các nghiên cứu trước đây [9; 16] đều cho rằng diện tích sàn tối thiểu không phải là yếu tố chính quyết định đến hiệu quả sinh sản của chuột mẹ hoặc khả năng tăng trọng của đàn con. Mật độ nuôi đông chỉ có thể ảnh hưởng trực tiếp đến hành vi của chuột. Trong một bài tổng hợp thực hiện bởi Whittaker và cộng sự (2012) [17], cho thấy stress nhiệt độ lạnh ở lồng rộng có thể ảnh hưởng đến tăng trọng của chuột. Xét về yếu tố này, cả hai nhóm chuột của chúng tôi đều đạt mức tăng trọng tốt và không chịu ảnh hưởng bởi stress nhiệt độ thấp. Cụ thể, một ổ chuột sinh sản gồm 1 chuột mẹ và đàn con sẽ cần diện tích sàn tối thiểu là 330 cm<sup>2</sup> (Bảng 1). Như vậy, đối với 3 ổ chuột nuôi ghép sẽ cần khoảng 990 cm<sup>2</sup>. Tại thời điểm cai sữa trong thí nghiệm này, một chuột mẹ nặng trung bình 39g và 1 chuột con nặng 12,33g (nhóm nuôi riêng) và 13,25g (nhóm nuôi ghép). Căn cứ theo Hướng dẫn, 1 chuột nặng trên 25g sẽ cần 96,78 cm<sup>2</sup> sàn, một chuột trong khoảng 10 - 15g sẽ cần 51,6 cm<sup>2</sup> sàn (bảng 1). Dựa trên số lượng chuột/ổ (1 chuột mẹ và 6 chuột con), trung bình nhóm nuôi riêng sẽ cần 406,38 cm<sup>2</sup> ( $96,78 + (6 \times 51,6)$ ) và nhóm nuôi ghép sẽ cần 1.219,14 cm<sup>2</sup> ( $(3 \times 96,78) + (18 \times 51,6)$ ). Trong thực tế lồng nuôi riêng và nuôi ghép trong thí nghiệm của chúng tôi có diện tích sàn tương ứng lần lượt là 360 cm<sup>2</sup> (12x30cm) và 1.000 cm<sup>2</sup> (25x40cm). Như vậy, tổng trọng lượng/ổ tại thời điểm cai sữa của cả hai nhóm chuột đều vượt khoảng 23% so với quy định diện tích sàn tối thiểu theo Hướng dẫn [6].

to continue to maintain normal group density in the next generation.

The weight of the weaning pups in the experiment was within the weight range of the reference ICR mice from several previously published studies. According to Shin et al (2017) [13], the mean weight of weaning Korl:ICR mice is about  $14.5 \pm 2.9$  g and commercial ICR mice is about 11.5g. At the same time, the authors also confirmed that this difference was not statistically significant ( $p > 0.05$ ).

Previous studies [9; 16] all suggested that the minimum floor area was not the main factor determining the reproductive efficiency of the mother mice or the weight gain of the pups. Crowding density can only directly affect the behavior of mice. In a review conducted by Whittaker et al (2012) (17), it was shown that cold temperature in large cages can affect weight gain of the mice. In this regard, both groups of mice achieved good weight gain and were not affected by low temperature. Specifically, a breeding litter of 1 mother mouse and her pups would require a minimum floor area of 330 cm<sup>2</sup> (Table 1). Thus, for 3 groups of polyculture, about 990 cm<sup>2</sup> will be needed. At the time of weaning in this experiment, one mother mouse weighed an average of 39g and one pup weighed 12.33g (separate group) and 13.25g (multi-culture group). According to the Guide, 1 mouse weighing over 25g will need 96.78cm<sup>2</sup> of floor, a mouse between 10-15g will need 51.6cm<sup>2</sup> of floor (table 1). Based on the number of mice per group (1 dam and 6 pups), on average the monoculture group will need 406.38 cm<sup>2</sup> ( $96.78 + (6 \times 51.6)$ ) and the polyculture group will need 1,219.14 cm<sup>2</sup> ( $(3 \times 96.78) + (18 \times 51.6)$ ). In fact, the individual and polyculture cages in our experiment had a floor area of 360 cm<sup>2</sup> (12x30cm) and 1000 cm<sup>2</sup> (25x40cm) respectively. Thus, the total weight per litter at weaning time of both groups of mice was approximately 23% above the minimum floor area requirement according to the Guide [6].



**Hình 1. Chuột ổ ở các ngày tuổi khác nhau (sơ sinh - 20 ngày tuổi)**  
**Figure 1. Pups at different age ( 20-day of age)**

**3.3 Kết quả so sánh hiệu quả sinh sản của các nhóm chuột thí nghiệm**

Nhằm đánh giá ảnh hưởng của thử nghiệm ghép đàn, thử nghiệm tiến hành đánh giá năng suất đàn con thu được tại thời điểm cai sữa. Kết quả tính toán được trình bày trong bảng 5.

**3.3.Results of comparing reproductive efficiency of experimental groups of mice**

In order to evaluate the effect of the mating trial, the trial evaluated litter performance obtained at the time of weaning. The calculation results are presented in Table 5.

**Bảng 5. Hiệu quả sinh sản của chuột thí nghiệm tại thời điểm cai sữa**  
**Table 5. Reproductive efficiency of experimental rats at weaning time**

Nhóm chuột Chuột ổ 20 ngày tuổi	Nuôi riêng (66 ổ/66 lồng) Individual (66 litter/66 cage)	Nuôi ghép (66 ổ/22 lồng) Grouped (66 litter/22 cage)
Số con sơ sinh (con) Number of newborn pups	462	462
Số con sơ sinh trung bình/ổ (con/ổ) Number of newborn pups per litter	7	7
Số con cai sữa (con) Number of weaning pups	440	457
Số con cai sữa trung bình/ổ (con/ổ) Number of weaning pups per litter	6,67a	6,92b
Tỷ lệ nuôi sống đến cai sữa (%) Survival rate to weaning (%)	95,23	98,92



**3 ổ/lồng:**  
36 ổ/kệ đơn;  
12 lồng, 12  
chai nước,  
12 nắp  
3 litters/  
cage: 36  
litter/shelf;  
12 cages,  
12 water  
bottles,  
12 lids



**1 ổ/lồng:**  
24 ổ/kệ đơn  
24 lồng, 24  
chai nước,  
24 nắp  
1 litter/  
cage: 24  
litters/shelf;  
24 cages,  
24 water  
bottles,  
24 lids

**Hình 2. Nuôi chuột ở hai hình thức khác nhau** *Figure 2. Breeding pups in two different forms*

a, b: dữ liệu trong cùng một hàng có sự sai khác thống kê với  $p < 0,05$

Qua kết quả theo dõi, cùng với số chuột con theo dõi là 462 chuột con, số thu được lô thí nghiệm đạt 457 con chiếm 98,92%; lô chứng là 440 chiếm tỷ lệ 95,23%. Tỷ lệ nuôi sống tới cai sữa trong thí nghiệm của chúng tôi nằm trong khoảng tỷ lệ công bố bởi O'Malley và cs (2008) [12]. Nhóm tác giả này cho biết, tỷ lệ nuôi sống thu được vào khoảng 95,8 - 100%.

Số lượng chuột thu được ở thời điểm cai sữa đạt tiêu chuẩn cũng là một chỉ tiêu quan trọng đánh giá hiệu quả sinh sản. Với số lượng chuột con sơ sinh để nuôi 7 con/ổ, số chuột trung bình trên ổ thu được ở thời điểm cai sữa trong hình thức nuôi 3 ổ/lồng là 6,92 con/ổ cao hơn khi nuôi 1 ổ/lồng là 6,67 con/ổ. Khi so sánh số lượng này trên phần mềm SPSS cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Hay nói cách khác, phương pháp ghép mẹ nuôi chung lồng, làm tăng năng suất sinh sản.

Với số lượng con thu được của chuột Mlac:ICR là 6,61 con/ổ, cao hơn so với kết quả theo dõi trên chuột Swiss của Nguyễn Chí Hiếu năm 2012 [11] đạt trung bình 6,33 con/ổ nuôi 1

a, b: data in the same row have statistical difference with  $p < 0.05$

Through the monitoring result, along with the number of mice monitored was 462 pups, the number of experimental batches obtained was 457 mice, accounting for 98.92%; the control group was 440, accounting for 95.23%. The survival rate to weaning in our experiment was within the range published by O'Malley et al (2008) [12]. This group of authors said that the survival rate obtained was about 95.8 - 100%.

The number of mice obtained at the standard weaning time is also an important indicator of reproductive efficiency. With the number of newborn mice to feed 7 pups/cage, the average number of mice per litter obtained at the time of weaning in the 3 litters/cage rearing was 6.92 pups/litter, higher than that of 1 litter/cage rearing is 6.67 pups/litter. When comparing this number on SPSS software, there is a statistically significant difference ( $p < 0.05$ ). In other words, the method of grouping mothers to the same cage, increases reproductive performance.

With the number of mice obtained from Mlac:ICR mice was 6.61 mice/litter, higher than the results of Swiss mice monitoring by Nguyen Chi Hieu in 2012 [11] with an average of 6.33

ổ/ lồng trong điều kiện mở sử dụng điều hòa và 6,49 con/ổ năm 2017 cùng trong điều kiện nuôi của Mẫn Thị Thành năm 2017 [10]

Trong quy trình ghép chuột nhất trắng sinh sản, áp dụng hình thức nuôi ghép chuột ổ trong 1 lồng (3 ổ/lồng) không chỉ làm tăng số lượng con cai sữa thu được mà còn làm giảm diện tích nuôi cũng như công chăm sóc, cùng diện tích kệ đặt lồng nuôi sẽ tăng được số đầu chuột mẹ nuôi con và số con thu được. Việc thực hiện các quy trình chăm sóc tại cơ sở của nhân viên kỹ thuật cũng sẽ giảm khi số lồng nuôi, số nắp, số chai nước giảm như hình 2. Điều này đặc biệt có ý nghĩa khi diện tích nuôi chuột nhất sinh sản tại Viện cũng như một số cơ sở nuôi động vật thí nghiệm hiện nay còn hạn chế và khó khăn so với nhu cầu sử dụng chuột ngày càng nhiều.

#### IV. KẾT LUẬN

Thể trạng và tỉ lệ chuột mẹ đạt tiêu chuẩn sau cai sữa để giữ lại sử dụng cho các lần sinh sản tiếp theo ở hai hình thức nuôi không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Tỷ lệ chuột mẹ duy trì đạt ở 1 ổ/lồng là 90,83% và 3 ổ/lồng là 92,78%.

Trọng lượng của chuột con theo mẹ và ở thời điểm cai sữa giữa hai hình thức nuôi nhốt chuột ổ (1 ổ/lồng và 3 ổ/lồng) có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Ở hình thức nuôi nhốt 3 ổ/lồng cho hiệu quả tốt hơn hình thức nuôi 1 ổ/lồng.

Số lượng chuột thu được ở thời điểm dứt sữa giữa hai hình thức nuôi nhốt ổ có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Ở hình thức nuôi nhốt 3 ổ/lồng số lượng con trung bình trên ổ thu được 6,92 con/ổ cho hiệu quả tốt hơn hình thức nuôi 1 ổ/lồng với 6,67 con/ổ.

Sử dụng hình thức nuôi ghép chuột ổ trong một lồng (3 ổ/lồng) có hiệu quả nâng cao hiệu quả sinh sản, làm tăng số lượng chuột con thu được, chuột cai sữa có trọng lượng lớn và độ đồng đều cao hơn.

mice/litter with 1litter/cage in open condition using air-conditioner and 6.49 mice/cages in 2017 and Man Thi Thanh's rearing conditions in 2017 [10]

In the breeding process, the application of groupng mice in 1 cage (3 litters/cage) not only increases the number of weaned animals obtained, but also reduces the rearing area as well as the care work, with the same area of shelves for raising cages, the number of mother-raised pups and the number of offspring collected will be increased. The implementation of care procedures at the facility by technical staff will also decrease when the number of cages, caps, and water bottles decrease as shown in Figure 2. This is especially significant when the area for breeding mice is reduced. At the Institute as well as a number of facilities raising experimental animals, there are still limitations and difficulties compared to the increasing demand for mice.

#### IV. CONCLUSION

There was no statistically significant difference in the condition and percentage of mother mice that met the standards after weaning to keep them for future reproduction in the two rearing methods. The percentage of mother mice maintained at 1 litter/cage was 90.83% and 3 litters/cage was 92.78%.

Weight of pups according to the mother and at the time of weaning between the two forms of caged mice (1 litter/cage and 3 litters/cage) had a statistically significant difference. In captivity 3 litter/cage gives better efficiency than 1 litter/cage.

The number of mice obtained at the time of weaning between the two forms of caged breeding had a statistically significant difference ( $p < 0.05$ ). In the form of captive breeding with 3 litter/cage, the average number of animals per nest was 6.92 litter/cage, which gave better efficiency than the farming method with 1 litter/cage with 6.67 pups/litter.

Using the form of grouped mice in one cage (3 litters/cage) effectively improved reproductive efficiency, increased the number of pups obtained, weaned mice had a larger weight and higher uniformity.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chambers LK, Singleton GR, Krebs CJ. Movements and social organization of wild house mice (*Mus domesticus*) in the wheatlands of northwestern Victoria, Australia. *Journal of Mammalogy*. 2000; 81:59-69.
2. Chia R, Achilli F, Festing MF, Fisher EM. The origins and uses of mouse outbred stocks. *Nature Genetics*. 2005;37(11):1181-1186.
3. Council of Europe 1998. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes, appendix A. Strasbourg: Council of Europe.
4. Fullwood S, Hicks TA, Brown JC, Norman RL, McGlone JJ. Floor space needs for laboratory mice: C57BL/6 males in solid-bottom cages with bedding. *Journal of the Institute for Laboratory Animal Research - ILAR J*. 1998;39:29-36.
5. Gaskill BN, Pritchett-Corning KR. The Effect of Cage Space on Behavior and Reproduction in Crl:CD1(Icr) and C57BL/6N Crl Laboratory Mice. *PLoS One*. 2015;10(5):e0127875.
6. Guide for the care and use of laboratory animals. Eighth Edition. 2011. <https://grants.nih.gov/grants/olaw/guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals.pdf>
7. Katherin Wasson. Restropective analysis of reproductive performance of pair-bred compared with trio-bred mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. 2017; 56(2):190-193.
8. Kim JE, Nam JH, Cho JY, Kim KS, Hwang DY. Annual tendency of research papers used ICR mice as experimental animals in biomedical research fields [published correction appears in *Lab Anim Res*. 2017 Dec;33(4):320]. *Lab Anim Res*. 2017;33(2):171-178.
9. Krackow S. Effects of mating dynamics and crowding on sex ratio variance in mice. *Journal of Reproduction and Fertility*. 1997;110:87-90
10. Mẫn Thị Thành, Đánh giá tình hình sinh sản của chuột nhắt Swiss nuôi trong điều kiện hệ thống kín, Đề tài nghiên cứu cấp Viện, Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế, 2017.
11. Nguyễn Chí Hiếu, Nghiên cứu chỉ tiêu sinh sản của đàn chuột nhắt trắng giống Swiss nuôi tại Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế, Luận văn tốt nghiệp cao học, Hà Nội, 2012, tr 46-47
12. O'Malley J, Dambrosia JM, Davis JA. Effect of housing density on reproductive parameters and corticosterone levels in nursing mice. *Journal of American Association for Laboratory Animal Science*. 2008;47(2):9-15.
13. Shin HJ, Cho YM, Shin HJ, et al. Comparison of commonly used ICR stocks and the characterization of Korl:ICR. *Laboratory Animal Research*. 2017;33(1):8-14.
14. SOP TN 03-02 Chăm sóc chuột nhắt trắng sinh sản; Quy trình chuẩn nội bộ khoa Động vật thực nghiệm - Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế.
15. SOP số TN 04-01 Ghép chuột ICR sản xuất; Quy trình chuẩn nội bộ khoa Động vật thực nghiệm - Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế
16. Whitaker J, Moy SS, Godfrey V, Nielsen J, Bellinger D and Bradfield J. Effects of cage size and enrichment on reproductive performance and behavior in C57BL/6Tac mice. *Laboratory Animals (NY)*. 2009;38:24-34.
17. Whittaker AL, Howarth GS and Hickman DL. Effects of space allocation and housing density on measures of wellbeing in laboratory mice: a review. *Laboratory Animals*. 2012;46:3-13.

## REFERENCE

10. Man Thi Thanh, Evaluation of the reproductive status of Swiss mice reared in closed system conditions, Institute-level research project, National Institute for Control Vaccines and Biologicals (NICVB), 2017.
11. Nguyen Chi Hieu, Research on reproductive parameters of white mice of Swiss breed raised at the National Institute for Control Vaccines and Biologicals (NICVB), Master thesis, Hanoi, 2012, pp. 46-47
14. SOP TN 03-02 Reproductive white mice care; Standard operating procedures of the Department of Experimental Animals - National Institute for Control Vaccines and Biologicals (NICVB).
15. SOP No. TN 04-01 Reproductive ICR mice mating; Standard operating procedures of the Department of Experimental Animals - National Institute for Control Vaccines and Biologicals (NICVB).