

## KẾT QUẢ XÂY DỰNG BỘ TIÊU BẢN CỐ ĐỊNH VẬT THỂ BARR Ở NGƯỜI

Phạm Thị Phương<sup>1</sup>, Vũ Bích Thủy<sup>1</sup>, Phạm Thanh Thế<sup>2</sup>

Ngày nhận bài: 30/8/2022; Ngày phản biện thông qua: 06/12/2022; Ngày duyệt đăng: 30/01/2023

### TÓM TẮT

Xét nghiệm vật thể Barr là một nội dung thực hành quan trọng trong học phần Di truyền y học, giúp sinh viên bước đầu học chẩn đoán một số hội chứng lệch bội nhiễm sắc thể. Thực tế cho thấy số sinh viên có thể làm tiêu bản thành công và quan sát thấy vật thể này không cao, từ đó ảnh hưởng không nhỏ tới kết quả học tập. Bằng phương pháp thực nghiệm, chúng tôi đã xác định được thời điểm thu mẫu phù hợp để làm tiêu bản là 7h, phương pháp nhuộm mẫu phù hợp là phương pháp nhuộm một thi bằng giemsa 10% trong thời gian 20 phút. Trên cơ sở đó, chúng tôi đưa ra được quy trình để làm tiêu bản cố định và hoàn thiện bộ tiêu bản cố định (gồm 20 tiêu bản) phục vụ cho việc dạy và học, góp phần giải quyết khó khăn trong việc dạy thực hành của học phần di truyền y học nêu trên.

**Từ khóa:** vật thể Barr, tiêu bản cố định, quy trình làm tiêu bản.

### 1. MỞ ĐẦU

Từ năm 1921, các tế bào của người nam hay nữ đã có thể được phân biệt bằng các nhiễm sắc thể (NST) giới tính, nhưng phải đến năm 1949 thì mới phân biệt được bằng tế bào ở gian kỳ. Năm 1949, Barr và Bertrem khi nghiên cứu các tế bào thần kinh của mèo cái đã phát hiện một khối nhiễm sắc đặc biệt mà tế bào của mèo đực thì không có. Khối bắt màu đặc biệt này được đặt tên là vật thể Barr, và sau này, nó được tìm thấy ở hầu hết các tế bào động vật có vú. Sự khám phá ra vật thể Barr cho phép các nhà khoa học xác định giới tính dựa trên việc phân tích tế bào ở gian kỳ (Trịnh Văn Bảo, 2008). Ở người, xét nghiệm vật thể Barr có thể được thực hiện ở nhiều loại tế bào, chẳng hạn tế bào niêm mạc miệng, tế bào niêm mạc âm đạo, tế bào da, tế bào chân tóc, nguyên bào sợi của tủy răng, nhưng tế bào niêm mạc miệng và tế bào niêm mạc âm đạo hay được dùng để xét nghiệm hơn cả (Trịnh Văn Bảo, 2008; Htun et al., 2017; Baby et al., 2017).

Vật thể Barr thường là một khối hình thấu kính phẳng lồi nằm áp sát mặt trong của màng nhân, đôi khi có hình nón hoặc hình khác, vật thể Barr bắt màu sẫm hơn màu của nhân. Kích thước trung bình là  $1,2 \times 0,7\mu\text{m}$ . Số lượng vật thể Barr trong một tế bào chính bằng số lượng nhiễm sắc thể giới tính X trừ đi 1 (Trịnh Văn Bảo, 2008; Htun et al., 2017; Baby et al., 2017). Tiêu bản vật thể Barr thường được nhuộm bằng thuốc nhuộm kiềm tính như aceto-orcein, fuchsin, oresyl violet, toluidine blue (Htun et al., 2017).

Tần số xuất hiện vật thể Barr khác nhau giữa nam và nữ, khác nhau ở các loại tế bào sử dụng để xét nghiệm. Ở nữ giới, tần số vật thể Barr là 50%

và có thể cao hơn ở tế bào biểu mô, 21% ở tế bào niêm mạc miệng, 24% ở tế bào niêm mạc âm đạo. Nam giới bình thường không có vật thể Barr, nếu có thì tỷ lệ rất thấp. Ở mô ác tính nữ, tỷ lệ vật thể Barr rất thấp vì tế bào phân chia nhanh, kỳ trung gian ngắn nên ít có cơ hội được nhìn thấy vật thể Barr (Trịnh Văn Bảo, 2008).

Xét nghiệm vật thể Barr thường được dùng để xác định giới tính trước sinh (sử dụng tế bào bong trong nước ối hoặc tế bào gai rau) hoặc trong pháp y, chẩn đoán hội chứng lệch bội nhiễm sắc thể như siêu nữ, Turner và Klinefelter (Trịnh Văn Bảo, 2008; Bhardwaj et al., 2020).

Khi học phần thực hành của học phần di truyền y học, sinh viên được tiến hành làm tiêu bản tạm thời, quan sát để tìm ra vật thể Barr. Tuy nhiên, chỉ một số ít sinh viên tìm thấy được vật thể Barr. Nguyên nhân thường thấy nhất là: (1) Người học có thể lấy mẫu chứa nhiều tạp chất, dẫn mẫu không đều; (2) Giới hạn về thời gian thực hành; (3) Mức độ khéo léo khi thao tác của mỗi người học khác nhau. Từ đó gây ảnh hưởng đến chất lượng buổi thực hành. Ngoài ra, thời gian sử dụng của tiêu bản tạm thời chỉ vài giờ, nên giảng viên sẽ mất nhiều thời gian để làm lại tiêu bản khi muốn kiểm tra sinh viên về nội dung này. Nhằm giải quyết được những khó khăn nêu trên trong quá trình giảng dạy và học tập, giảng viên có thể làm tiêu bản cố định để sử dụng khi cần thiết. Hiện nay, có nhiều tác giả đã đề cập đến quy trình làm tiêu bản vật thể Barr để quan sát. Các quy trình đó cho thấy, có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến việc làm tiêu bản, ví dụ loại thuốc nhuộm, thời gian nhuộm, thời gian định hình tế bào,... Nghiên cứu này nhằm xác định thời gian thu mẫu, phương pháp nhuộm và thời gian nhuộm

<sup>1</sup>Khoa Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, Trường Đại học Tây Nguyên;

<sup>2</sup>Phòng Đào tạo, Trường Đại học Tây Nguyên;

Tác giả liên hệ: Phạm Thị Phương; ĐT: 0964535998; Email: ptpuong@ttn.edu.vn.

để xây dựng quy trình làm tiêu bản cố định và hoàn thiện bộ tiêu bản cố định vật thể Barr phục vụ cho việc giảng dạy học phần Di truyền y học.

## 2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng, vật liệu và địa điểm nghiên cứu

- Đối tượng: Quy trình làm tiêu bản cố định vật thể Barr ở người.

- Vật liệu: Mẫu tế bào niêm mạc miệng nữ giới, bộ NST  $2n = 46$  (đã được sự đồng ý của người cho).

- Địa điểm: Phòng thí nghiệm 4.6. Khu nhà thực hành Nông Lâm.

### 2.2. Nội dung nghiên cứu

- Khảo sát thời điểm thu mẫu để làm tiêu bản
- Khảo sát ảnh hưởng của phương pháp nhuộm đến khả năng bắt màu của vật thể Barr khi nhuộm.
- Khảo sát ảnh hưởng của thời gian nhuộm đến khả năng bắt màu của vật thể Barr khi nhuộm.
- Hoàn thiện bộ tiêu bản hiển vi cố định vật thể Barr ở người.

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

Khi tiến hành các thí nghiệm khảo sát, tiêu bản hiển vi tạm thời được thực hiện như sau: Đầu tiên, người cho mẫu súc miệng bằng nước sạch để loại bỏ bớt tạp chất trong khoang miệng. Mẫu tế bào niêm mạc miệng được lấy bằng cách sử dụng que đê lưỡi bằng gỗ đã được tiệt trùng, cạo nhẹ lớp niêm mạc miệng và quét lên phiến kính. Mẫu được dàn nhanh và đều lên tiêu bản để thu được các tế bào tách biệt nhau tạo thuận lợi cho việc quan sát sau khi hoàn thành tiêu bản. Tiếp theo, mẫu đã phết lên phiến kính được để khô ở nhiệt độ phòng. Nếu mẫu khó khô có thể sử dụng quạt để giúp mẫu nhanh khô hơn. Sau khi mẫu đã khô hoàn toàn, tiến hành cố định mẫu bằng ethyl alcohol trong 35 phút (Htun et al., 2017). Phiến kính mẫu tạm thời được nhuộm bằng giemsa 10% trong khoảng thời gian 20 phút. Dung dịch giemsa 10% được pha từ dung dịch giemsa mẹ bằng nước cất. Sau khi nhuộm, phiến kính mẫu được rửa dưới vòi nước sạch để loại bỏ phần hóa chất còn dư. Cuối cùng để khô mẫu ở nhiệt độ phòng và quan sát dưới kính hiển vi ở vật kính x40 và vật kính x100 (Arun Kishore et al., 2021). Khi làm tiêu bản cố định, nước còn tồn dư trong tiêu bản sau khi rửa dưới vòi nước được loại bỏ bằng cách để khô ở nhiệt độ phòng (Arun Kishore et al., 2021). Sau đó, lá kính được dán lên phiến kính chứa mẫu bằng keo dán lam Thermo.

Chúng tôi tiến hành khảo sát thời gian thu mẫu, phương pháp nhuộm mẫu và thời gian nhuộm mẫu

để tìm ra khoảng giá trị phù hợp cho mẫu vật. Khoảng giá trị phù hợp được xác định khi tỷ lệ tiêu bản đạt ở đó là cao nhất. Tỷ lệ tiêu bản đạt là tỷ số giữa số lượng tiêu bản đáp ứng các tiêu chí khi đánh giá so với số lượng tiêu bản làm trong mỗi lần (15 tiêu bản). Số liệu thu được được xử lý trên phần mềm Excel 2019.

#### 2.3.1. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian lấy mẫu đến kết quả thực hiện tiêu bản

- Cách tiến hành: Làm tiêu bản hiển vi tạm thời tại các khoảng thời gian 7h, 8h, 9h. Mỗi mốc thời gian làm 15 tiêu bản, lặp lại 3 lần.

- Đánh giá tiêu bản:

Sau khi hoàn thành tiêu bản tiến hành quan sát trên kính hiển vi ở vật kính 40 và vật kính 100 để quan sát, đánh giá. Mốc thời gian lấy mẫu phù hợp được xác định khi tại đó tỷ lệ vật thể Barr được tìm thấy là nhiều nhất.

#### 2.3.2. Khảo sát ảnh hưởng của phương pháp nhuộm đến việc thực hiện tiêu bản

- Cách tiến hành: Làm tiêu bản hiển vi tạm thời với hóa chất nhuộm giemsa bằng phương pháp nhuộm một thì (nhuộm một lần) và phương pháp nhuộm hai thì (nhuộm hai lần) (Cao Văn Tuyên, 2016). Mỗi phương pháp làm 15 tiêu bản, lặp lại 3 lần.

- Đánh giá tiêu bản đạt:

Các tế bào có sự tương phản rõ nét giữa tế bào chất và nhân, nhân tế bào bắt màu đều và đẹp, ít cận hóa chất tồn dư.

#### 2.3.3. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian nhuộm đến việc thực hiện tiêu bản

- Cách tiến hành: Làm tiêu bản hiển vi tạm thời với hóa chất nhuộm là giemsa. Thời gian nhuộm được thay đổi ở 3 khoảng giá trị: 10 phút, 15 phút, 20 phút. Mỗi khoảng thời gian làm 15 tiêu bản, lặp lại 3 lần.

- Đánh giá tiêu bản đạt:

Các tế bào có sự tương phản rõ nét giữa tế bào chất và nhân, giữa nhân và vật thể Barr.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian lấy mẫu đến việc thực hiện tiêu bản

Tế bào niêm mạc miệng là mẫu vật thường được dùng khi làm tiêu bản vật thể Barr. Tỷ lệ vật thể Barr quan sát được ở mẫu tế bào này là 21%. Vật thể Barr ít được quan sát thấy khi tế bào đang phân chia. Do đó, việc xác định thời điểm thu mẫu phù hợp sẽ làm tăng khả năng tìm thấy vật thể Barr trong tiêu bản.

Thực hiện thu mẫu tế bào niêm mạc miệng ở

3 thời điểm trong ngày: 7h, 8h, 9h. Tại mỗi thời điểm, có 45 tiêu bản tạm thời được thực hiện với 3 lần lặp lại. Kết quả phân tích tỷ lệ tế bào có vật thể Barr+ so với tổng số tế bào được quan sát ở các thời điểm thể hiện trong bảng 1.

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, tỷ lệ vật thể Barr+

**Bảng 1. Kết quả khảo sát thời điểm thu mẫu phù hợp**

Thời gian lấy mẫu	Tỷ lệ các tế bào vật thể Barr+ ở các lần khảo sát (%)			Trung bình (% ± SD)
7h	14,33	15,67	14,67	14,89 ± 0,70
8h	13,33	12,40	13,27	13,00 ± 0,52
9h	10,20	10,67	11,80	10,89 ± 0,82

Chú thích: SD là độ lệch chuẩn.

**3.2. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của phương pháp nhuộm đến việc thực hiện tiêu bản**

Vật thể Barr nằm ở trong nhân và bắt màu đậm hơn so với các vùng khác của nhân ở gian kỳ. Do đó, để quan sát vật thể Barr tốt, phương pháp nhuộm đòi hỏi phải tạo ra độ tương phản giữa nhân và tế bào chất rõ ràng. Khi nhuộm tế bào, có thể sử dụng một loại thuốc nhuộm (nhuộm đơn) hoặc nhiều loại thuốc nhuộm (nhuộm kép) (Nandini and Karuppaiyan, 2006). Trong nghiên cứu này, chúng tôi thực hiện nhuộm đơn với hóa chất giemsa. Với

quan sát được nhiều nhất ở các tiêu bản sử dụng mẫu lấy lúc 7h. Tỷ lệ này có sự khác biệt giữa các mốc thời gian khảo sát vì  $P < 0,05$ . Do đó, mẫu tế bào niêm mạc miệng dùng trong các thí nghiệm tiếp theo sẽ được thu lúc 7h.

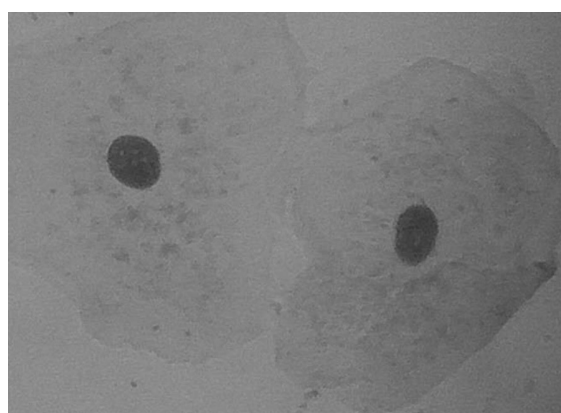
giemsa, bên cạnh phương pháp nhuộm một thì (một lần) thông thường, chúng tôi khảo sát thêm phương pháp nhuộm hai thì (hai lần) để so sánh khả năng bắt màu của nhân giữa hai phương pháp này (Cao Văn Tuyên, 2016).

Sau 3 lần thực nghiệm, chúng tôi thu được 90 tiêu bản tạm thời trong đó 45 tiêu bản được nhuộm với phương pháp nhuộm một thì, 45 tiêu bản được nhuộm với phương pháp nhuộm hai thì. Kết quả bắt màu của tế bào thể hiện trong bảng 2 và hình 1.

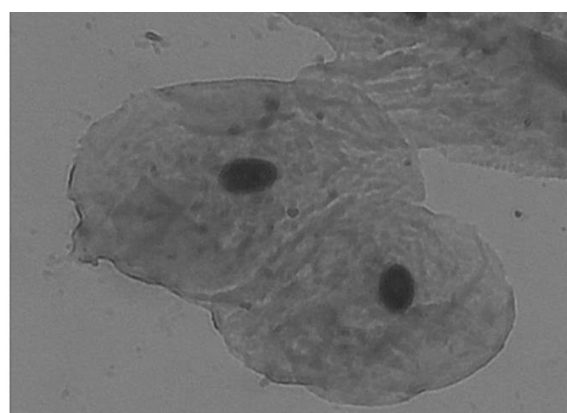
**Bảng 2. Kết quả khảo sát phương pháp nhuộm**

Phương pháp nhuộm	Tỷ lệ các tiêu bản đạt ở các lần khảo sát (%)		Trung bình (% ± SD)
Nhuộm một thì	66,67	53,33	60,00 ± 6,67
Nhuộm hai thì	20,00	20,00	22,22 ± 3,85

Chú thích: SD là độ lệch chuẩn.



(a)



(b)

**Hình 1. Tế bào niêm mạc miệng được nhuộm bằng phương pháp nhuộm một thì (a) và phương pháp nhuộm hai thì (b) khi quan sát ở vật kính 40**

Ở bảng 2, tỷ lệ tế bào có sự tương phản cao giữa tế bào chất và nhân trong phương pháp nhuộm một thì và phương pháp nhuộm hai thì lần lượt là 60% và 22,22%. Tỷ lệ này khác nhau về mặt thống kê vì  $P < 0,05$ . Quan sát trên kính hiển vi, nhân tế bào bắt màu đậm hơn ở những tiêu bản nhuộm bằng phương pháp nhuộm hai thì so với các tiêu bản

nhuộm bằng phương pháp nhuộm một thì. Tuy nhiên, tế bào chất của tế bào khi nhuộm hai thì cũng bám màu nhiều hơn khi nhuộm một thì, làm cho sự tương phản giữa nhân và tế bào chất không rõ ràng, gây khó khăn khi quan sát để tìm vật thể Barr. Vì vậy, chúng tôi quyết định chọn phương pháp nhuộm một thì để tiến hành thí nghiệm tiếp

theo cũng như để hoàn thành quy trình làm tiêu bản và làm bộ tiêu bản cố định về sau.

So sánh hiệu quả xác định giới tính dựa trên vật thể Barr giữa giemsa và methylene blue, Kyaw Soe Htun và cộng sự nhận thấy, nhuộm một thì với các tế bào niêm mạc miệng trong 20 đến 25 phút cho kết quả tốt hơn so với methylene blue (Htun et al., 2017). Một số tác giả sử dụng phương pháp nhuộm một thì với các hóa chất khác để xác định giới tính dựa trên vật thể Barr như cresyl violet acetate (Kamischke et al., 2003), thuốc thử Schiff huỳnh quang (Baby et al., 2017), aceto-orcein (Datar et al., 2013), (Sahana Ashok and Ashok KP, 2017), Carbol Fuschin (Jethva et al., 2018), acridine orange (Aziz et al., 2019). Kết quả một số nghiên cứu còn chỉ ra rằng, nhuộm đơn mang lại hiệu quả xác định thể Barr cao hơn so với nhuộm kép mặc dù quy trình nhuộm đơn đơn giản hơn quy trình nhuộm kép, chẳng hạn nhuộm đơn với aceto-orcein tốt hơn nhuộm kép với Papanicolaou (PAP) (Datar et al., 2013), (Sahana Ashok and Ashok KP, 2017), nhuộm đơn với AF Schiff tốt hơn nhuộm kép với PAP (Baby et al., 2017). Mặt khác, so với các loại thuốc nhuộm khác như aceto-orcein, PAP, Feulgen, Guard, cresyl violet, carbol fuschin, và các phương pháp nhuộm huỳnh quang khác, sử dụng giemsa để xác định giới tính sẽ tiết kiệm chi phí hơn (Htun et al., 2017). Nghiên cứu sử dụng phương pháp nhuộm một thì với giemsa cho phép tiết kiệm chi phí một cách tối đa mà vẫn cho kết quả tốt.

**3.3. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian nhuộm đến việc thực hiện tiêu bản**

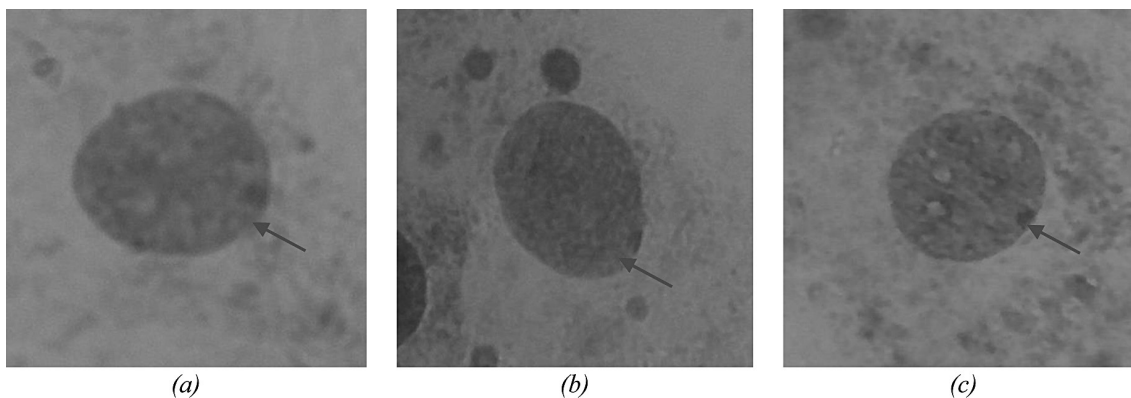
Bên cạnh phương pháp nhuộm, thời gian nhuộm

mẫu vật cũng là một yếu tố quan trọng cần lưu ý khi làm tiêu bản vật thể Barr. Nếu thời gian nhuộm hợp lý, sự tương phản giữa nhân và tế bào chất, giữa vật thể Barr và nhân thể hiện rõ nét, hình dạng của vật thể Barr hiện ra rõ ràng, từ đó giúp người học xác định vật thể Barr tốt hơn, phân biệt được vật thể Barr với các tạp chất có thể xuất hiện trong quá trình làm tiêu bản. Ngược lại, nếu thời gian nhuộm chưa đủ hoặc lâu quá, sự tương phản giữa nhân và tế bào không rõ ràng, vật thể Barr bắt màu mờ hoặc bắt màu quá đậm, khiến cho người học không nhận diện được hình ảnh vật thể Barr hoặc nhầm lẫn vật thể Barr với các tạp chất khác. Có nhiều loại thuốc nhuộm khác nhau được dùng để nhuộm vật thể Barr, chẳng hạn methylene blue (Htun et al., 2017), (Sharga et al., 2018), cresyl violet acetate (Kamischke et al., 2003), thuốc thử Schiff huỳnh quang (Baby et al., 2017), Hematoxylin và Eosin (H&E) (Bhardwaj et al., 2020), (Selvi et al., 2018), (Murugesan et al., 2018), thionin (Sharga et al., 2018), aceto-orcein (Datar et al., 2013), (Sahana Ashok and Ashok KP, 2017), Carbol Fuschin (Jethva et al., 2018), acridine orange (Aziz et al., 2019). Bên cạnh các loại thuốc nhuộm trên, giemsa cũng được biết đến là một loại thuốc nhuộm phổ biến sử dụng trong nhiều lĩnh vực như huyết học, mô học, tế bào học, vi khuẩn học. Vì vậy, giemsa được sử dụng nhiều trong các phòng nghiên cứu và phòng xét nghiệm. Thực hiện khảo sát thời gian nhuộm màu với phẩm nhuộm giemsa ở nhiệt độ phòng, chúng tôi ghi nhận được kết quả như sau: thời gian nhuộm màu phù hợp là 20 phút, với tỷ lệ các tiêu bản đạt được ghi nhận là 60%. Tỷ lệ này ở các thời điểm khác nhau có ý nghĩa vì  $P < 0,05$ .

**Bảng 3. Kết quả khảo sát thời gian nhuộm**

Thời gian (phút)	Tỷ lệ các tiêu bản đạt ở các lần khảo sát (%)			Trung bình (% ± SD)
10	13,33	6,67	13,33	11,11 ± 3,85
15	26,67	33,33	40,00	33,33 ± 6,67
20	53,33	66,67	60,00	60,00 ± 6,67

Chú thích: SD là độ lệch chuẩn.



**Hình 2. Hình ảnh nhân tế bào và vật thể Barr ở tiêu bản được nhuộm trong 10 phút (a), 15 phút (b), và 20 phút (c) khi quan sát ở vật kính 100**

Khi tiêu bản được nhuộm trong 20 phút, sự tương phản giữa nhân và tế bào chất, giữa vật thể Barr và nhân biểu hiện rõ nhất, điều này rất quan trọng giúp dễ dàng nhận biết vật thể Barr. Trong khi đó, có ít tiêu bản nhuộm ở 10 phút hoặc 15 phút cho hình ảnh tế bào, nhân, và vật thể Barr bắt màu rõ ràng. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu trước đó của Htun và cộng sự khi đánh giá hiệu quả của giemsa và methylene blue đối với việc xác định giới tính ở người sử dụng mẫu tế bào niêm mạc miệng. Nghiên cứu này cũng khẳng định khả năng nhuộm nhân của giemsa tốt hơn methylene blue trong cùng khoảng thời gian từ 20 đến 25 phút (Htun et al., 2017). Kamischke và cộng sự cũng phân tích thể Barr ở 311 bệnh nhân Klinefelter sử dụng cresyl violet acetate để nhuộm tế bào niêm mạc miệng trong 15 đến 20 phút và cho kết quả tốt (Kamischke et al., 2003). Thuốc thử acriflavine (AF) Schiff và PAP cũng tỏ ra hữu dụng khi xác định thể Barr ở tế bào niêm mạc miệng, trong đó AF Schiff hỗ trợ việc xác định giới tính tốt hơn PAP. Ngoài ra nhuộm AF Schiff cũng đơn giản hơn nhuộm PAP, dù thời gian nhuộm AF Schiff (20 phút) dài hơn so với thời gian nhuộm PAP (5 phút) (Baby et al., 2017). Thuốc nhuộm H&E cũng được dùng để nhuộm tế bào niêm mạc miệng khi Shivaji Selvi và cộng sự so sánh thể Barr và thể Davidson trong việc xác định giới tính ở 15 người nam và 15 người nữ. Kết quả cho thấy vật thể Davidson giúp xác định giới tính tốt hơn vật thể Barr (Selvi et al., 2018). Uma Datar và cộng sự cũng so sánh hiệu quả xác định giới tính bằng cách sử dụng aceto-orcein và PAP để nhuộm tế bào niêm mạc miệng ở 120 người Ấn Độ; kết quả cho thấy aceto-orcein nhuộm nhân tốt hơn và hiệu quả hơn PAP. Tuy vậy, nghiên

cứu không chỉ ra cụ thể thời gian nhuộm (Datar et al., 2013). Sử dụng carbol fuschin để nhuộm các tế bào niêm mạc miệng trong 15 đến 20 phút ở nhiệt độ phòng, Jethva và cộng sự nhận thấy rằng có thể xác định giới tính bằng nhiễm sắc chất giới tính (Jethva et al., 2018). Kết quả khảo sát trên 250 người của Sahana Ashok và Ashok K P cho thấy aceto-orcein mang lại hiệu quả xác định giới tính tốt hơn PAP trong thời gian ngắn hơn (Sahana Ashok and Ashok KP, 2017).

### 3.4. Hoàn thiện quy trình làm tiêu bản cố định vật thể Barr

Sau quá trình khảo sát chúng tôi xây dựng quy trình cụ thể để làm bộ tiêu bản cố định như sau:

Bước 1: Lấy mẫu. Trước khi lấy mẫu cần súc miệng sạch, sử dụng que đũa lưỡi gỗ cạo nhẹ bên trong má để lấy được lớp tế bào niêm mạc. Sau đó quét mẫu lên phiến kính sạch.

Bước 2: Để mẫu khô tự nhiên.

Bước 3: Cố định mẫu bằng ethyl alcohol trong 35 phút. Sau đó lấy ra và để khô tự nhiên.

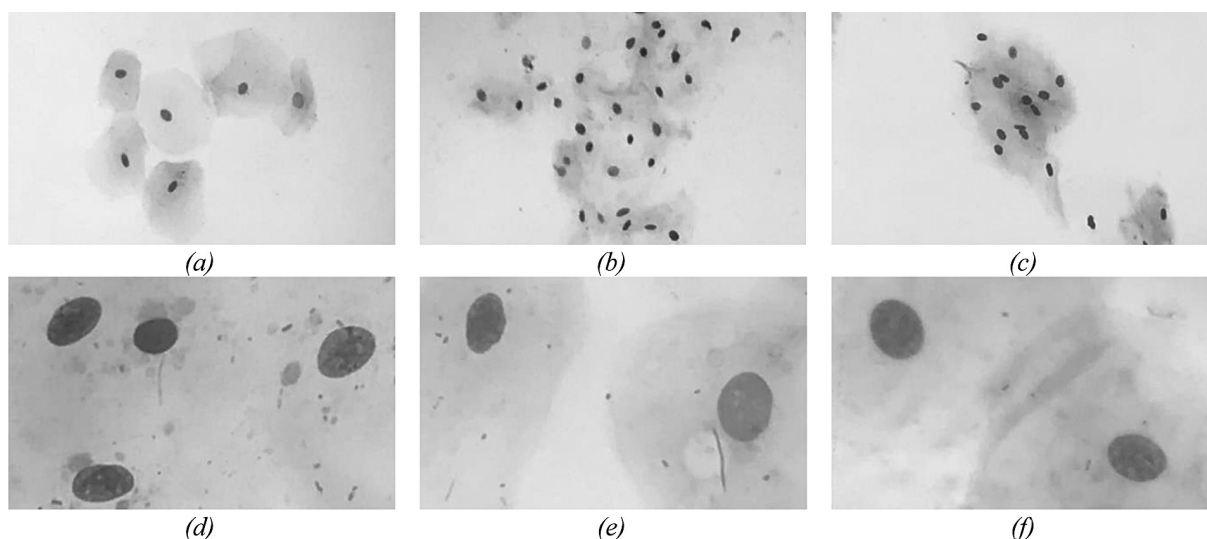
Bước 4: Nhuộm mẫu bằng phương pháp nhuộm một thì với giemsa trong 20 phút.

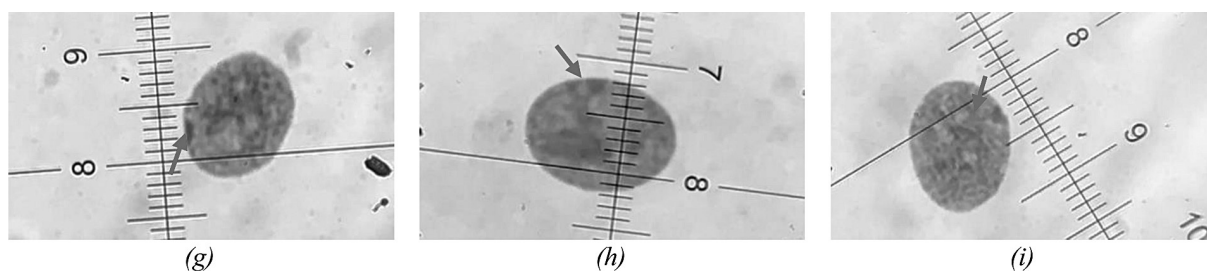
Bước 5: Rửa mẫu vật qua nước.

Bước 6: Để mẫu khô tự nhiên.

Bước 7: Dán lá kính (sử dụng keo dán Mouting medium).

Với quy trình cụ thể trên, chúng tôi đã tiến hành làm tiêu bản cố định và hoàn thiện bộ tiêu bản vật thể Barr với 20 tiêu bản để phục vụ việc dạy và học một nội dung trong phần thực hành của học phần di truyền y học. Hình số 3 thể hiện một số hình ảnh ghi nhận được ở các tiêu bản đã cố định.





**Hình 3. Tế bào niêm mạc miệng ở vật kính 10 (a, b, c), 40 (d, e, f) và mũi tên màu đỏ chỉ vật thể Barr ở vật kính 100 (g, h, i)**

#### 4. KẾT LUẬN

Giai đoạn khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả làm tiêu bản đã xác định được: (1) Thời điểm để thu mẫu làm tiêu bản phù hợp là 7h; (2) Chọn phương pháp nhuộm một thì bằng thuốc

nhuộm giemsa 10%; (3) Thời gian nhuộm mẫu là 20 phút. Dựa trên các kết quả khảo sát, quy trình hoàn thiện bộ tiêu bản cố định gồm 7 bước đã được đề xuất.

### THE RESULTS OF BUILDING A SET OF BARR BODY SPECIMENS IN HUMANS

Pham Thi Phuong<sup>3</sup>, Vu Bich Thuy<sup>3</sup>, Pham Thanh The<sup>4</sup>

Received Date: 30/8/2022; Revised Date: 06/12/2022; Accepted for Publication: 30/01/2023

#### SUMMARY

The Barr body test is an important practical content in the Medical Genetics module. It helps students initially learn to diagnose some aneuploidy syndromes. The number of students who can make a specimen and observe this object is not high, significantly affecting the learning results. Using the experimental method, we have determined that the time to collect samples for specimen making is 7h. The suitable sample staining method is one-time with 10% Giemsa for 20 minutes. On that basis, we have provided a process for making a fixed specimen and finalized a set of fixed specimens (including 20 specimens) for teaching and learning, contributing to solving difficulties in practical education.

**Keywords:** Barr body, fixed specimen, how to make specimen.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

##### Tài liệu tiếng Việt

Trịnh Văn Bảo (2008). *Di truyền Y học*. NXB GD

Cao Văn Tuyền (2016). 7 lưu ý để làm một tiêu bản máu dàn ngoại vi đẹp. Lấy từ <http://www.tuyenlab.com/2016/01/7-luu-y-e-lam-mot-tieu-ban-mau-dan.html>

##### Tài liệu tiếng nước ngoài

Arun Kishore RN, Priyadharshini R, Palati Sinduj (2021). Efficacy of methylene blue and papanicolaou stain in sex determination-a comparative study. *Journal of Research in Medical and Dental Science* 2021, Volume 9, Issue 10, Page No: 109-115

Aziz NZ, Prasad BG, Arathi K, Britto FP, Aradhya BV, Abdulrashid B (2019). Efficacy of acridine orange and papanicolaou stains in sex determination using barr bodies in buccal smears: A comparative study. *Int J Prev Clin Dent Res* 2019;6:7-10.

<sup>3</sup>Faculty of Natural Science and Technology, Tay Nguyen University;

<sup>4</sup>Office of Undergraduate Academic Affairs;

Corresponding author: Pham Thi Phuong; Tel: 0964535998; Email: [ptphuong@ttn.edu.vn](mailto:ptphuong@ttn.edu.vn).

- Baby TK, Thomas P, Palani J, Pillai RK, Ramakrishnan BP (2017). Sex determination efficacy of Papanicolaou and acriflavine Schiff stains in buccal smears. *J Forensic Dent Sci* 2017; 9:46-7.
- Bhardwaj N, Bhat N, Gupta H, Puri A, Nangia R and Kaur R (2020). Barr bodies- a spoonful of sex chromatin. *International Journal Of Current Medical and Pharmaceutical Research. Volume 6; Issue 01(A); January 2020; Page No. 4939-4942*
- Datar U, Angadi PV, Hallikerimath S and Kale AD (2013). Cytological assessment of Barr bodies using aceto-orcein and papanicolaou stains in buccal mucosal smears and their sex estimation efficacy in an indian sample. *Acta Cytologica* 2013;57:516–521
- Htun KS, Tuu N, Aung YL, Zaw T, and Hlaing TM (2017). Gender determination from Barr bodies using giemsa and methylene blue stains in buccal mucosal smears. *Proceedings of the 24th Myanmar Military Medical Conference DSOH (500-Beds), Yangon, Myanmar, Feb 2017, Paper No. XXX*
- Jethva K, Rathva A, Chvda S, Rathod SP (2018). Study of sex determination by presence of sex chromatin in oral mucosal cells. *International Journal of Anatomy and Research, Int J Anat Res* 2018, Vol 6(2.1):5091-95.
- Kamischke A, Baumgardt A, Horst JR, Nieschlag AE (2003). Clinical and Diagnostic Features of Patients With Suspected Klinefelter Syndrome. *Journal of Andrology, Vol. 24, No. 1*
- Lewis, *Human Genetics, Concepts and Applications* 5e (McGraw, 2003)
- Murugesan A, Balakrishnan S, Kumaresan IP, Jayakumar A, Mohan J, Champakesan B (2018). Cytological Method of Barr Body Expression in Dental Pulp Tissue at Varying Temperature. *J Orofac Sci* 2018;10:108-11
- Sahana Ashok and Ashok KP (2017). Aceto-orcein squash technique for Barr body detection. *RGUHS Journal of Dental Sciences, January 2017 / Vol-9 / Issue-1*
- Selvi S, Prasad H, Rajmohan M, Chinthu KKS, Prema V and Mahalakshmi L (2018). Comparison of davidson bodies with Barr bodies. *International Journal of Current Research. Vol. 10, Issue, 05, pp.69805-69807, May, 2018*
- Sharga BM, Pylypiv DB, Feketa VP (2018). Medical Biology Practicals. Cytogenetic. Practical 2. Barr body observation in squamous epithelium cells from human throat lining. *Uzhhorod National University Medical Faculty №2, Department of Fundamental Medical Disciplines.*
- Nandini K and Karuppaiyan R (2006). Techniques in Physiology, Anatomy, Cytology and Histo-Chemistry of Plants. Kerala Agriculture University, Vellanikkara. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/309118583>.