

# GAF® Fixative - Glyoxal Acid Free

## Ficha Técnica e Instruções de Utilização

GAF® Fixative (Glyoxal Acid Free) é uma alternativa histológica fixadora à formalina baseada em uma solução aquosa tamponada de glioxal.

Os ácidos contidos na solução comercial de glioxal foram removidos através de um processo de privação patenteado e o pH é mantido em torno de 7,1 - 7,8, como evidenciado pela cor rosa (indicador de pH).

O fixador GAF® está protegido por uma patente internacional e é produzido pela ADDAX Biosciences S.r.l.

O GAF® atua com um mecanismo de reação aldeídica. Portanto, o método de reação e fixação tecidual são análogos aos do formaldeído. No entanto, não sendo volátil, o GAF® está isento das características tóxicas, alergênicas e carcinogênicas associadas aos vapores de formaldeído.

O fixador GAF® é estável durante vinte e quatro meses se conservado no frigorífico entre 2 °C e 8 °C. Pode ser conservado à temperatura ambiente (5 °C - 25 °C) durante, pelo menos, três meses. Em qualquer caso, pode sempre ser usado se a cor for rosa. Se a cor ficar amarela, recomenda-se não utilizar o reagente.

### UTILIZAÇÃO PREVISTA

GAF® Fixative (Glyoxal Acid Free) é um dispositivo de diagnóstico in vitro usado como alternativa de fixação histológica ao formalino.

### DESCRIÇÃO DO DISPOSITIVO

GAF® Fixative (Glyoxal Acid Free) é uma solução aquosa à base de glioxal isento de ácido, em solução tampão fosfato, com pH de 7,1-7,8.

O dispositivo de diagnóstico in vitro destina-se exclusivamente à fixação histológica.

### ESTABILIDADE – INSTRUÇÕES DE CONSERVAÇÃO

GAF® Fixative (Glyoxal Acid Free) é estável (cor rosada, pH  $\geq 7$ ) durante 24 (vinte e quatro) meses quando armazenado entre 2°C e 8°C.

Antes de utilizar, **manter o produto à temperatura ambiente** para permitir a dissolução de quaisquer cristais formados devido a temperaturas excessivamente baixas e **efetuar a fixação com o produto à temperatura ambiente**.

O dispositivo pode ser conservado à temperatura ambiente (5 °C - 25 °C) durante, pelo menos, 90 (noventa) dias.

Não o utilize em caso de acidificação (alteração da cor para amarelo).

**GAF® Fixative (Glyoxal Acid Free) deve ser usado de acordo com as instruções de uso abaixo**

De acordo com a Formalin, aplicam-se as seguintes regras gerais e normas de boas práticas para o tratamento de tecidos histológicos:

- Corrija o mais cedo possível: lembre-se que a degeneração começa assim que as células são privadas de um suprimento de sangue.
  - Se a fixação não for imediatamente possível, leve à geladeira, mas não congele. O congelamento do tecido resultará em danos consideráveis devido à formação de cristais de gelo.
  - Não permitir que as amostras sequem: A secagem das superfícies da amostra causará danos permanentes.
  - Se possível, devem abrir-se cavidades, órgãos ocos ou amostras com cavidades naturais devem ser abertas para permitir o acesso imediato do fixador.
  - Preste atenção ao volume do fixador: É crucial uma relação adequada entre material fixador e material fixo (pelo menos 20:1). A amostra deve ser completamente imersa numa quantidade de fixador contendo componentes suficientes para fixação, uma vez que são naturalmente exaustivos como parte da reação de fixação.
  - É preferível que a fixação inicial ocorra à temperatura ambiente (18-22° C).
  - O fixador só deve ser utilizado uma vez
1. **Abrir a tampa do GAF® certificando-se de que segura o recipiente na posição vertical.**
  2. **Remova completamente a tampa do GAF®, tomando cuidado para que o recipiente permaneça na posição vertical.**
  3. **Colocar a amostra no GAF®. Se necessário, agite suavemente a agulha ou a pinça para libertar a amostra. Verificar se a amostra está totalmente imersa no fixador**
  4. **Fechar a tampa com firmeza tampa aparafusando-a firmemente apertado.**



## TEMPO E MÉTODO DE FIXAÇÃO

O tempo e o método de fixação são semelhantes aos atualmente utilizados para a formalina neutra («NBF»):

**Para peças pequenas** (biópsias de núcleo e amostras ambulatoriais, tamanho inferior a 5 mm), o tempo de fixação é de cerca de 6 horas. O tecido é imerso no líquido presente nos frascos. São depois transferidos, à temperatura ambiente, para o laboratório de análises (Anatomia Patológica), onde são posteriormente passados em Álcool Etílico para incorporação de parafina.

**Para peças histológicas mais volumosas** (como amostras cirúrgicas), recomendam-se tempos de fixação mais longos (aprox. 24-48 horas), semelhante à prática atual para fixação de formalina. A razão volumétrica deve ser mantida adequada (pelo menos 20:1).

Ao contrário da fixação de formalina, a fixação de GAF® não endurece o tecido, mantendo a sua cor e consistência semelhantes à condição "fresca" pré-fixada.

## ALÍQUOTA

O produto também está disponível em formato a granel, projetado para permitir o gerenciamento flexível de volumes de acordo com as necessidades específicas do laboratório. O formato a granel permite a alíquota para recipientes de menor capacidade, garantindo uma distribuição precisa para usos personalizados.

## SEGURANÇA

GAF® Fixative (Glyoxal Acid Free) não é cancerígeno, não é volátil (pois tem uma pressão de vapor muito baixa; portanto, não pode evaporar em uma extensão significativa) e, conseqüentemente, tem um impacto toxicológico muito menos grave do que a formalina. No entanto, é aconselhável manusear o produto utilizando luvas de proteção, óculos de proteção e equipamentos de proteção individual exigidos pelos protocolos de segurança locais. Não é necessária a monitorização do vapor. Além disso, não existem questões de conformidade regulamentar relacionadas com a formalina (relacionadas com carcinogenicidade e exposição por inalação).

## IMUNO-HISTOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR

Em analogia com a prática atual em cortes histológicos de tecidos fixados em formalina, reações imuno-histoquímicas para antígenos de interesse diagnóstico podem ser realizadas em tecidos fixados por GAF® usando equipamentos atuais (por exemplo, Ventana, Leica, etc.) e seguindo protocolos específicos de recuperação e coloração de antígenos para os vários antígenos. Embora a maioria dos antígenos exija **os mesmos protocolos recomendados** para tecidos fixados em formalina, pequenas variações são aconselháveis em alguns casos. Em [www.addaxbio.com](http://www.addaxbio.com), em 'Protocolos de validação de produto/IHC', você pode encontrar protocolos ideais recomendados para os antígenos mais comumente investigados estão disponíveis.

Os ácidos nucleicos (ADN e ARN) são preservados em tecidos fixados em GAF® e podem ser extraídos e analisados de acordo com métodos e procedimentos atualmente utilizados em tecidos fixados em formalina tamponada (cf. Bussolati et al., Plos One 12:e0182965; 2017, disponível para download em [www.addaxbio.com](http://www.addaxbio.com)).

A qualidade dos ácidos nucleicos obtidos dos tecidos fixos do GAF® é melhor do que os atualmente obtidos do FFPE (cf. Berrino et al.; Investigação Laboratorial, 2024, disponível para download em [www.addaxbio.com](http://www.addaxbio.com))

## FISH

As reações FISH são realizadas em tecidos fixados em GAF® com o procedimento padrão.

Uma ligeira fluorescência azul de fundo detetável nos núcleos é removida por um breve tratamento (após desparafinização da lâmina) com tampão TRIS-HCl pH 8,6 (1) por um tempo variável que varia de 10 a 30 minutos..

Conforme relatado em diretrizes e publicações científicas, (5)(6) (7) (8) em tecidos tamponados fixados em formol, o momento da fixação tem uma influência significativa na qualidade da hibridização in situ, recomendando tempos de fixação variáveis (6h - 72h) e indicando 24h como o tempo ideal. Estas recomendações também podem ser aplicadas para tecidos fixados em GAF®.

ATENÇÃO: Se o tratamento com tampão alcalino não for suficiente para remover completamente a fluorescência de fundo, um tempo de digestão mais curto com a enzima peptidase (como sugerido por algumas empresas de sonda (2) pode ser usado.

*Bussolati G, Annaratone L, Berrino E, Miglio U, Panero M, Cupo M, Gugliotta P, Venesio T, Sapino A, Marchiò C. Glioxal isento de ácido como substituto da formalina para preservação estrutural e molecular em amostras de tecido. PLoS Um. 10 de agosto de 2017; 12(8):e0182965. DOI: 10.1371/journal.pone.0182965. PMID: 28796828; PMCID: PMC5552132 (scaricabile sul sito [www.addaxbio.com](http://www.addaxbio.com))*

(1) *Implementação de tecidos ZytoLight FISH ([https://www.zytovision.com/downloads\\_products/manuals/it/z-2028-ce-ivd-it.pdf](https://www.zytovision.com/downloads_products/manuals/it/z-2028-ce-ivd-it.pdf))*

(3) *Broude NE, Budowsky EI. A reação do glioxal com componentes de ácido nucleico. 3. Cinética da reação com monómeros. Biochim Biophys Ata. 1971 30 dez; 254(3):380-8. DOI: 10.1016/0005-2787(71)90868-9. PMID: 5137601.*

(4) *Nakaya K, Takenaka O, Horinishi H, Shibata K. Reações de glioxal com ácidos nucleicos. Nucleótidos e suas bases componentes. Biochim Biophys Ata. 18 de junho de 1968; 161(1):23-31. DOI: 10.1016/0005-2787(68)90290-6. PMID: 5690799.*

(5) *Kondo J, Yoshino S, Iida M, Takeda S, Nakashima C, Watanabe Y, Nishiyama M, Tokumitsu Y, Shindo Y, Nishimura T, Suzuki N, Hoshii Y, Itoh H, Nagano H. Efeitos da Fixação Prolongada na Avaliação do Estado do HER2 do Cancro Gástrico Avançado Usando IHC e FISH. Anticancer Res. 2024 fev; 44(2):621-630. DOI: 10.21873/anticancer.16851. PMID: 38307565.*

(6) *Selvarajan S, Baía B-H, Choo A, et al. Efeito do Período de Fixação na Amplificação do Gene HER2/neu Detetado por Hibridização In Situ por Fluorescência em Carcinoma Invasivo da Mama. Revista de Histoquímica & Citoquímica. 2002; 50(12):1693-1696. DOI:10.1177/002215540205001215*

(7) [https://sigu.net/wp-content/uploads/2020/11/raccomandazioni\\_per\\_lanalisi\\_fish\\_interfasica\\_su\\_sezioni\\_istologiche\\_in\\_ambito\\_oncologico.pdf](https://sigu.net/wp-content/uploads/2020/11/raccomandazioni_per_lanalisi_fish_interfasica_su_sezioni_istologiche_in_ambito_oncologico.pdf)

(8) <https://documents.cap.org/documents/cap-14-formalin-fixation-time-2019.pdf>

## ELIMINAÇÃO DE RESÍDUOS

GAF® (Glyoxal Acid-Free) Fixative não contém quaisquer substâncias perigosas e não tem características que o qualifiquem como ambientalmente perigoso. Contém etanol, mas como solução não inflamável.

O produto deve ser eliminado como substância química de acordo com os regulamentos em vigor. Após a utilização (contacto com tecidos) deve ser eliminado como resíduo biológico hospitalar de acordo com os regulamentos em vigor.

## CONSELHOS DE PRECAUÇÃO (GHS)

P261 Evitar respirar poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossós.

P272 O vestuário de trabalho contaminado não deve ser usado fora do local de trabalho.

P280 Usar luvas de proteção.

P302+P352 SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: Lave com água abundante.

P333+P313 SE ocorrer irritação cutânea ou erupção cutânea: Consulte um médico.

P501 Elimine o conteúdo/recipiente de acordo com os regulamentos locais.

## ADVERTÊNCIAS DE PERIGO (GHS)

H317: Pode causar reação alérgica cutânea.

## ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

Substituto geral do formalino: não utilização para outros fins que não a fixação histológica.

O produto destina-se a ser utilizado por pessoal técnico especializado.

Manter o recipiente bem fechado.

Não utilize o produto se o recipiente for danificado.

Armazene o produto corretamente.

Não reutilizar.

Não utilize o produto se este tiver uma cor amarelada (e é, portanto, acidificada).

O utilizador deve comunicar qualquer incidente grave que ocorra relacionado com o dispositivo à Addax Biosciences e à autoridade competente.

## COMPOSIÇÃO

Quantidade	Designação	número de identificação	classificação	Número de registo
≥1-<2,5%	Glioxal	CAS:107-22-2 CE:203-474-9 Índice:605-016-00-7	Muta. 2º, H341; Tox agudo. 4, H332; Olho Irrit. 2º, H319; Pele Irrit. 2º, H315; Skin Sens. 1, H317	01-2119461733-37-XXXX

## LENDAS



Marcação CE



Dispositivo médico para diagnóstico in vitro



Fabricante



Condições de armazenamento: Conservar entre 2°C e 8°C



Número do lote



Data de expiração - expressa em AAAA/MM



Consulte as instruções de utilização

## TAMANHOS DISPONÍVEIS

REF	Type	name	description	Reg. progressive nº	CND
<b>GAF000010P40</b>	PREFILLED	GAF® fixative 10 ml	PP container with screw cap pre-filled with 10ml GAF on a total volume of <b>20ml</b>	2565131/R	W01030705
<b>GAF000025P40</b>	PREFILLED	GAF® fixative 25 ml	PP container with screw cap pre-filled with 25ml GAF on a total volume of <b>60ml</b>	2565144/R	W01030705
<b>GAF000090P12</b>	PREFILLED	GAF® fixative 90 ml	PP container with screw cap pre-filled with 90ml GAF on a total volume of <b>160ml</b>	2565215/R	W01030705
<b>GAF000090P24</b>	PREFILLED	GAF® fixative 90 ml	PP container with screw cap pre-filled with 90ml GAF on a total volume of <b>160ml</b>	2565217/R	W01030705
<b>GAF000125P24</b>	PREFILLED	GAF® fixative 125 ml	PP container with screw cap pre-filled with 125ml GAF on a total volume of <b>250ml</b>	2565224/R	W01030705
<b>GAF000250P12</b>	PREFILLED	GAF® fixative 250 ml	PP container with screw cap pre-filled with 250ml GAF on a total volume of <b>500ml</b>	2565226/R	W01030705
<b>GAF000250B8</b>	BULK	GAF® fixative 250 ml	250ml bottle - PET	2565228/R	W01030705
<b>GAF001000B1</b>	BULK	GAF® fixative 1000 ml	1 litre bottle -PET	2565230/R	W01030705
<b>GAF003000B1</b>	BULK	GAF® fixative 3 l	3 litre jerry can - HDPE	2565231/R	W01030705
<b>GAF005000B1</b>	BULK	GAF® fixative 5 l	5 litre jerry can - HDPE	2565234/R	W01030705
<b>GAF010000B1</b>	BULK	GAF® fixative 10 l	10 litre jerry can - HDPE	2565236/R	W01030705



[www.addaxbio.com](http://www.addaxbio.com)

