

# GAF<sup>®</sup> Fixative - Glyoxal Acid Free

## Fiche technique et mode d'emploi

Le fixateur GAF<sup>®</sup> (Glyoxal Acid Free) est une alternative fixatrice histologique au formol à base d'une solution aqueuse tamponnée de Glyoxal.

Les acides contenus dans la solution commerciale de Glyoxal ont été éliminés grâce à un procédé de privation breveté et le pH est maintenu autour de 7,1 à 7,8, comme en témoigne la couleur rose (indicateur de pH).

Le fixateur GAF<sup>®</sup> est protégé par un brevet international et est produit par ADDAX Biosciences S.r.l.

Le GAF<sup>®</sup> agit avec un mécanisme de réaction aldéhydique. Par conséquent, la méthode de réaction et de fixation des tissus est analogue à celle du formaldéhyde. Cependant, étant non volatil, le GAF<sup>®</sup> est exempt des caractéristiques toxiques, allergènes et cancérigènes associées aux vapeurs de formaldéhyde.

Le fixateur GAF<sup>®</sup> est stable pendant vingt-quatre mois s'il est conservé au réfrigérateur entre 2 °C et 8 °C. Il peut être conservé à température ambiante (5 °C - 25 °C) pendant au moins trois mois. Dans tous les cas, il peut toujours être utilisé si la couleur est rose. Si la couleur devient jaune, il est recommandé de ne pas utiliser le réactif.

### UTILISATION PRÉVUE

Le fixateur GAF<sup>®</sup> (sans acide glyoxal) est un dispositif de diagnostic in vitro utilisé comme alternative histologique au formol.

### DESCRIPTION DE L'APPAREIL

GAF<sup>®</sup> Fixative (Glyoxal Acid Free) est une solution aqueuse à base de glyoxal sans acide, dans une solution tamponnée au phosphate, avec un pH de 7,1-7,8.

Le dispositif de diagnostic in vitro est destiné exclusivement à la fixation histologique.

### STABILITÉ – INSTRUCTIONS DE STOCKAGE

Le fixateur GAF<sup>®</sup> (sans acide Glyoxal) est stable (couleur rosée, pH  $\geq 7$ ) pendant 24 (vingt-quatre) mois lorsqu'il est stocké entre 2°C et 8°C.

Avant utilisation, **conservez le produit à température ambiante** pour permettre la dissolution des cristaux formés en raison de températures excessivement basses, et effectuez la fixation avec le produit à température ambiante.

L'appareil peut être conservé à température ambiante (5 °C - 25 °C) pendant au moins 90 (quatre-vingt-dix) jours.

Ne pas l'utiliser en cas d'acidification (changement de couleur en jaune).

**Le fixateur GAF® (sans acide glyoxal) doit être utilisé conformément aux instructions d'utilisation ci-dessous**

Selon Formalin, les règles générales et les normes de bonnes pratiques suivantes s'appliquent au traitement des tissus histologiques :

- Corrigez le plus tôt possible : n'oubliez pas que la dégénérescence commence dès que les cellules sont privées d'un apport sanguin.
- Si la fixation n'est pas immédiatement possible, réfrigérer mais ne pas congeler. Le la congélation du tissu entraînera Dommages considérables dus à la formation de cristaux de glace.
- Ne laissez pas les échantillons sécher : Le séchage des surfaces des échantillons causera des dommages permanents.
- Les cavités doivent être ouvertes si possible, organes creux ou échantillons avec des cavités naturelles doivent être ouvertes pour permettre l'accès immédiat au fixateur.
- Faites attention au volume de fixateur: Un rapport adéquat entre le matériel fixateur et le matériau fixe (au moins 20:1) est crucial. L'échantillon doit être complètement immergé dans une quantité de fixateur contenant des composants essentiels pour la fixation, car ils s'épuisent naturellement dans le cadre de la réaction de fixation.
- Il est préférable que la fixation initiale se déroule à température ambiante (18-22° C).
- Le fixateur ne doit être utilisé qu'une seule fois

1. Ouvrir le couvercle de GAF® en s'assurant de maintenir le récipient en position verticale.



2. Retirez complètement le couvercle GAF® en veillant à ce que le récipient reste en position verticale.



3 . Placez l'échantillon dans le GAF®. Si nécessaire, secouez doucement l'aiguille ou la pince pour libérer l'échantillon. Vérifiez que l'échantillon est complètement immergé dans le fixateur



4 . Fermer le couvercle fermement en le vissant serré.



### MOMENT ET PROCÉDÉ DE FIXATION

Le moment et la méthode de fixation sont similaires à ceux actuellement utilisés pour le formol synthétique (« NBF ») :

**Pour les petits pièces** (biopsies par forage et échantillons ambulatoires, taille inférieure à 5 mm), le temps de fixation est d'environ 6 heures. Le tissu est immergé dans le liquide présent dans les flacons. Ils sont ensuite transférés, à température ambiante, au laboratoire d'analyse (Anatomie Pathologique), où ils sont ensuite passés dans de l'alcool éthylique pour l'enrobage en paraffine.

**Pour les pièces histologiques plus volumineuses** (telles que les échantillons chirurgicaux), des temps de fixation plus longs (environ 24 à 48 heures) sont recommandés, similaires à la pratique actuelle pour la fixation au formol. Le rapport volumétrique doit être maintenu adéquat (au moins 20:1).

Contrairement à la fixation au formol, la fixation du GAF® ne durcit pas le tissu, ce qui permet de conserver sa couleur et sa consistance similaires à l'état « frais » préfixé.

### ALIQUEUTE

Le produit est également disponible en vrac, conçu pour permettre une gestion flexible des volumes en fonction des besoins spécifiques du laboratoire. Le format en vrac permet l'aliquote sur des conteneurs de plus petite capacité, assurant une distribution précise pour des utilisations personnalisées.

### SÉCURITÉ

Le fixateur GAF® (Glyoxal Acid-Free) n'est pas cancérigène, n'est pas volatil (car il a une très faible pression de vapeur ; par conséquent, il ne peut pas s'évaporer dans une mesure significative) et, par conséquent, a un impact toxicologique beaucoup moins grave que le formol.

Cependant, il est conseillé de manipuler le produit à l'aide de gants de protection, de lunettes de protection et d'équipements de protection individuelle requis par les protocoles de sécurité locaux.

La surveillance de la vapeur n'est pas requise.

De plus, il n'existe pas de problèmes de conformité réglementaire liés au formol (liés à la cancérogénicité et à l'exposition par inhalation).

### IMMUNOHISTOCHEMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Par analogie avec la pratique actuelle sur les coupes histologiques de tissus fixés au formol, des réactions immunohistochimiques pour les antigènes d'intérêt diagnostique peuvent être effectuées sur des tissus fixés au GAF® à l'aide d'équipements actuels (par exemple Ventana, Leica, etc.) et en suivant des protocoles spécifiques de récupération et de coloration des antigènes pour les différents antigènes. Bien que la plupart des antigènes nécessitent **les mêmes protocoles que ceux recommandés pour les tissus fixés au formol**, de légères variations sont recommandées dans certains cas.

À [www.addaxbio.com](http://www.addaxbio.com), sous la rubrique « Protocoles de validation des produits/IHC », vous trouverez des protocoles optimaux recommandés pour les antigènes les plus couramment étudiés.

Les acides nucléiques (ADN et ARN) sont conservés dans les tissus fixés dans le GAF®, et peuvent être extraits et analysés selon les méthodes et procédures actuellement utilisées dans les tissus fixés dans du formol tamponné (cf. Bussolati et al.; Plos One 12:e0182965; 2017, téléchargeable sur [www.addaxbio.com](http://www.addaxbio.com)).

La qualité des acides nucléiques obtenus à partir de tissus fixés par GAF® est meilleure que celle actuellement obtenue à partir de FFPE (cf. Berrino et al.; Laboratory Investigation, 2024, téléchargeable à l'adresse [www.addaxbio.com](http://www.addaxbio.com))

## POISSON

Les réactions FISH sont réalisées sur des tissus fixés en GAF® selon la procédure standard.

Une légère fluorescence bleue de fond détectable dans les noyaux est éliminée par un traitement bref (après déparaffinisation de la lame) avec le tampon TRIS-HCl pH 8,6 (1) pendant un temps variable allant de 10 à 30 minutes.

Comme indiqué dans les lignes directrices et les publications scientifiques, (5)(6) (7) (8) dans les tissus fixés au formol tamponnés, le moment de la fixation a une influence significative sur la qualité de l'hybridation in situ en recommandant des temps de fixation variables (6h - 72h) et en indiquant 24h comme le temps optimal. Ces recommandations peuvent également être appliquées pour les tissus fixés en GAF®.

VEUILLEZ NOTER : Si le traitement avec un tampon alcalin n'est pas suffisant pour éliminer complètement la fluorescence de fond, un temps de digestion plus court avec l'enzyme peptidase (comme suggéré par certaines sociétés de sondes (2)) peut être utilisé.

- (1) Bussolati G, Annaratone L, Berrino E, Miglio U, Panero M, Cupo M, Gugliotta P, Venesio T, Sapino A, Marchiò C. Acid-free glyoxal as a substitute of formalin for structural and molecular preservation in tissue samples. *PLoS One*. 2017 Aug 10;12(8):e0182965. doi: 10.1371/journal.pone.0182965. PMID: 28796828; PMCID: PMC5552132 (scaricabile sul sito [www.addaxbio.com](http://www.addaxbio.com))
- (2) ZytoLight FISH tissue implementation ([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. The reaction of glyoxal with nucleic acid components. 3. Kinetics of the reaction with monomers. *Biochim Biophys Acta*. 1971 Dec 30;254(3):380-8. doi: 10.1016/0005-2787(71)90868-9. PMID: 5137601.
- (4) Nakaya K, Takenaka O, Horinishi H, Shibata K. Reactions of glyoxal with nucleic acids. Nucleotides and their component bases. *Biochim Biophys Acta*. 1968 Jun 18;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. Effects of Extended Fixation on Advanced Gastric Cancer HER2 Status Assessment Using IHC and FISH. *Anticancer Res*. 2024 Feb;44(2):621-630. doi: 10.21873/anticancer.16851. PMID: 38307565.
- (6) Selvarajan S, Bay B-H, Choo A, et al. Effect of Fixation Period on HER2/neu Gene Amplification Detected by Fluorescence In Situ Hybridization in Invasive Breast Carcinoma. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 2002;50(12):1693-1696. doi:10.1177/002215540205001215
- (7) [https://siqu.net/wp-content/uploads/2020/11/raccomandazioni\\_per\\_lanalisi\\_fish\\_interfasica\\_su\\_sezioni\\_istologiche\\_in\\_ambito\\_oncologico.pdf](https://siqu.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>

### ÉLIMINATION DES DÉCHETS

Le fixateur GAF® (Glyoxal Acid-Free) ne contient aucune substance dangereuse et ne présente aucune caractéristique qui le qualifie de dangereux pour l'environnement. Il contient de l'éthanol, mais sous forme de solution ininflammable.

Le produit doit être éliminé en tant que substance chimique conformément à la réglementation en vigueur. Après utilisation (contact avec les tissus), il doit être éliminé avec les déchets biologiques hospitaliers conformément à la réglementation en vigueur.

### CONSEILS DE PRUDENCE (SGH)

P261 Évitez de respirer la poussière/les fumées/les gaz/les brouillards/les vapeurs/les aérosols.

P272 Les vêtements de travail contaminés ne doivent pas être portés à l'extérieur du lieu de travail.

P280 Porter des gants de protection.

P302+P352 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : Laver abondamment à l'eau.

P333+P313 En cas d'irritation cutanée ou d'éruption cutanée : Consulter un médecin.

P501 Éliminer le contenu/réceptacle conformément aux réglementations locales.

### COMPOSITION

quantité	nom	Numéro d'identification	classification	Numéro d'enregistrement
≥1 à <2,5 %	Glyoxal	CAS :107-22-2 EC :203-474-9 Indice :605-016-00-7	Muta. 2, H341 ; Tox. aiguë. 4, H332 ; Irritation oculaire. 2, H319 ; Peau Irriter. 2, H315 ; Sens de la peau 1, H317	Référence 01-2119461733-37-XXXX

### AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Substitut général au formol : ne pas Utiliser à des fins autres que la fixation histologique.

Le produit est destiné à être utilisé par personnel technique spécialisé.

Gardez le récipient bien fermé.

N'utilisez pas le produit si le contenant est endommagé.

Stockez correctement le produit.

Ne pas réutiliser.

N'utilisez pas le produit s'il a un couleur jaunâtre (et est donc acidifié).

L'utilisateur doit signaler tout incident grave survenant en relation avec l'appareil à Addax Biosciences et à l'autorité compétente.

### DISPOSITIONS PARTICULIÈRES :

EUH208 Contient du glyoxal. Il peut provoquer une réaction allergique.

## TAILLES DISPONIBLES

REF	Type	name	description	Reg. progressive n°	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

## LÉGENDE



Marquage



Dispositif médical de diagnostic in vitro



Fabricant



Conditions de conservation : Conserver entre 2°C et 8°C



Numéro de lot



Date d'expiration - exprimée en AAAA/MM



Consulter le mode d'emploi



Conserver à l'abri de la lumière directe du soleil



Ne pas réutiliser