



Innovative Bioanalysis, Inc.  
3188 Airway Ave Suite D  
Costa Mesa, CA 92626  
www.InnovativeBioanalysis.com  
이메일: Albert.Brockman@innovativebioanalysis.com

**SARS-CoV-2 USA-CA1/2020**

클라이언트: NOVAERUS  
프로젝트: 실내 에어로졸  
제품: NV1050

CAP LIC 번호: 886029801  
CLIA LIC 번호: O5D0955926  
상태 ID: CLF 00324630

**공격 바이러스: SARS-CoV-2 USA-CA1/2020**

# INNOVATIVE BIOANALYSIS

creating solutions | getting results

## 개요: 에어로졸 형태의 SARS-CoV-2에 대한 NOVAERUS NV1050™ 장치의 효험

**배경:** 이 체외 연구는 NV1050™ 유닛의 효험을 증명하기 위한 연구입니다. 이 제품은 상업적인 목적으로 구매가 가능하며 NOVAERUS/WELLAIR에서 제조한 의료 목적의 재순환 공기 청정기입니다. NV1050™ 유닛은 실내에 세워두며 작동 시 공기 중에 밀집되는 미생물의 수를 줄여줍니다. 이 연구를 목적으로 COVID-19의 원인으로 알려진 SARS-CoV-2 USA-CA1/2020 병원균을 사용했습니다. 코로나바이러스는 공기를 통해 또는 오염된 표면에 접촉하여 감염됩니다. 따라서 바이러스 감염과 확산 위험을 줄이기 위해 공기 중의 감염성 병원균을 줄여주는 공기 정화 장치의 수요가 있습니다. NOVAERUS에서 테스트 목적으로 사전에 포장된 독립형 NV1050™ 유닛을 제공해주었습니다. 테스트 절차는 에어로졸 형태의 바이러스 병원균 공격 및 정화를 위한 내부 SOP를 따랐습니다. 모든 내부 SOP와 프로세스는 GCLP 가이드라인과 추천 사항을 준수합니다.

### 제공받은 장비:

제조사: NOVAERUS

모델: NV1050™

일련번호: NV1050-US20073100137



### NV1050™ 장비:

장비는 제조사에서 미리 포장하여 실험실로 배송했으며 도착 시 손상 유무를 확인했습니다. 실험을 시작하기 전에 유닛이 제대로 작동하는지 확인하기 위해 NV1050™ 유닛을 밀폐된 부유세균실에서 3시간 이상 시운전했습니다. 부유세균실은 바이러스 실험에 사용되는 동일한 BSL3 챔버입니다.



### 바이러스 실험 챔버:

테스트 챔버는 BSL 3 표준을 충족하는 금속 벽과 에폭시 바닥으로 구성된 커다란 밀폐형 공기량 테스트 챔버입니다. 챔버는 테스트하는 병원균이 대기중으로 새어나가는 것을 방지하기 위해 외부 환경을 완벽하게 차단하도록 설계되었습니다. 테스트 챔버에는 4개의 밀폐된 관찰용 창문이 있으며 잠글 수 있는 출입용 문이 있습니다. 테스트 챔버의 전체 크기는 대략 8'x8'x20'이며 부피는 1280입방피트입니다. 챔버의 입방피트를 기준으로 계산했을 때 챔버의 공기량은 36,245.56리터입니다.

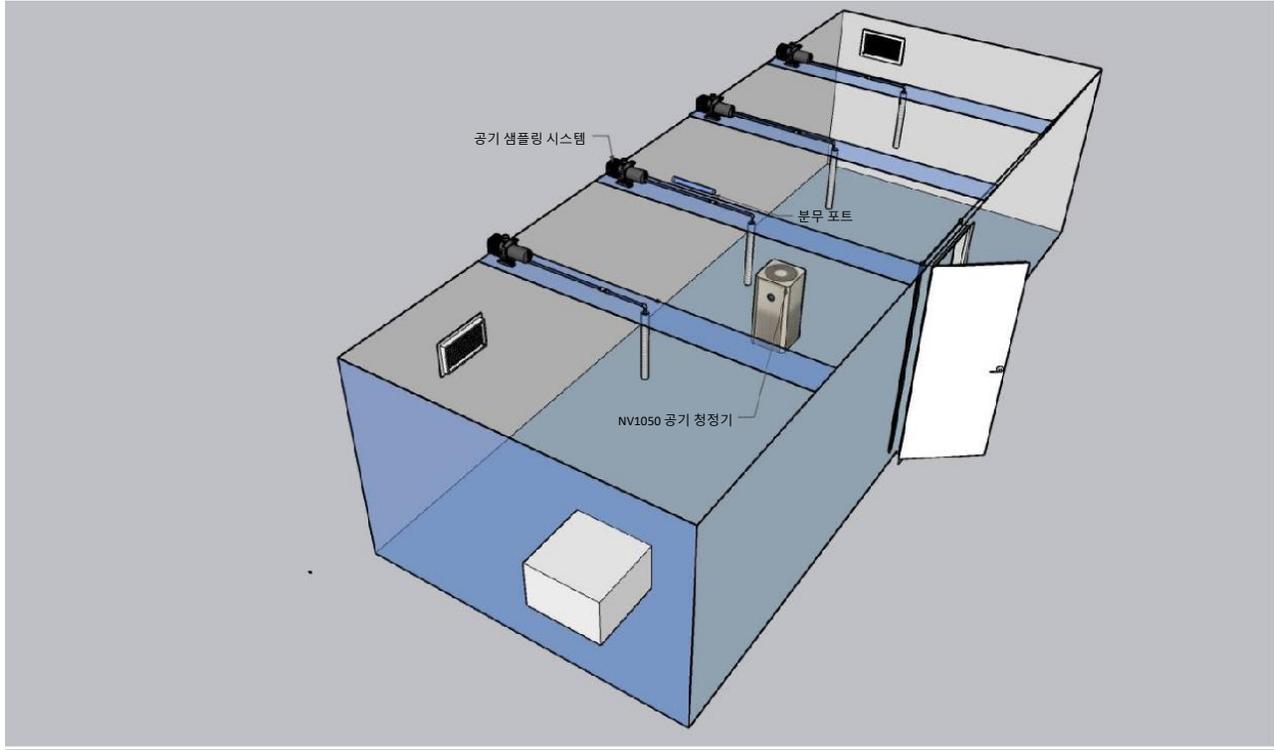
테스트 챔버에는 HEPA 필터 주입구 및 배출구가 있으며 모든 통풍관에는 활성 UV-C 시스템이 설치되어 있습니다. 습도와 온도는 챔버 내부에서 보정된 무선 장치를 통해 모니터링하였습니다. 챔버에는 중앙을 가로지르며 천장에서 24"정도 아래로 돌출된 4개의 공기 샘플 테스트용 프로브가 있습니다. 각 프로브 튜브는 프로그램이 가능한 Gilian 10i 시스템에 연결되어 있으며 이 시스템은 Sensidyne에서 제조한 샘플링 카세트(lot 번호 19766부터)를 사용합니다. 출입문 반대편 벽 중앙 높이 20'에 부유세균 분무 포트가 하나 있습니다. 공급 포트는 벽에서 24" 돌출되어 있으며 프로그램이 가능한 압축 분무 시스템과 연결되어 있습니다.

테스트를 진행하기 전에 챔버의 누출 여부를 확인하기 위해 압력 테스트를 진행했으며 유색 연무 장치를 사용해 시각적으로 확인했습니다. 챔버의 모든 밀봉을 확인했으며 사용한 모든 장치는 사전에 작동 상태를 점검했습니다. 보정 장치의 경우 작동 상태를 확인하기 위해 보정 기록을 확인했습니다.

# INNOVATIVE BIOANALYSIS

creating solutions | getting results

## 테스트 환경:



## 실험 요약:

- 초기 제어 테스트와 이어지는 각 시험을 진행하기 전에 테스트 영역에서 오염을 제거하고 내부 절차에 따라 준비했습니다.
- 모든 테스트가 진행되는 동안의 온도는 73F +/- 2F 또는 22.8C였으며 상대습도는 51%였습니다.
- 모든 테스트가 진행되는 동안 챔버의 두 곳에서 상대 습도와 온도를 측정해 각 면의 오차 범위가 3% 이내임을 확인했습니다.
- 각 바이러스 테스트에서 NV1050™을 방 한가운데 놓았습니다.
- 공기 샘플은 2020년 9월 3일에 제조사에서 보정하였으며 분당 5.02리터의 표준 흐름으로 설정했습니다. 보정 기록에 의한 공차는 0.20%입니다.
- 모든 샘플 수집 부피는 30분 동안의 공기 흡입이었습니다.
- 분무화 전에 풍량이 적은 혼합 팬을 작동시켜 테스트 챔버 내의 공기가 균일하게 섞이도록 했습니다.

# INNOVATIVE BIOANALYSIS

creating solutions | getting results

- 혼합 팬을 45도 각도로 고정한 채로 계속 작동시켜 부유세균이 바닥에 가라앉지 않도록 하는 동시에 자연적으로 발생하는 입자 침전을 감소시켰습니다.
- 바이러스 테스트를 제어하기 위한 분무화 역시 같은 방법으로 실행했습니다.
- 샘플 카세트는 수집 시스템에서 직접 회수했으며 지정한 시간마다 저장하고 새로운 카세트에 교체했습니다.
- 지정한 시간에 카세트를 회수할 때 카세트 세트를 근처에 있는 생물학적으로 안전한 캐비닛으로 가져가 보관했습니다.
- 같은 방법으로 2번의 제어와 3번의 바이러스 테스트를 완료했습니다.

## 부유세균 생성:

제어와 바이러스 실험을 위해 분무화 장치에 같은 양(밀리리터당  $4.02 \times 10^6$  TCID<sub>50</sub>)의 바이러스를 채우고 25분 동안 분당 1밀리리터의 유량으로 분무화했습니다. 처리하지 않은 인근 공기로 분무화 장치를 운영했습니다. 실험이 끝날 때마다 분무화 장치에 남은 바이러스의 무게를 측정해 같은 양의 바이러스가 분무되었는지 확인했습니다.

## 부유세균 샘플링:

공기 샘플링을 위해 프로그램 가능한 4개의 Gillian 10i 진공 장치를 사용했습니다. 모든 샘플링 장치는 2020년 9월에 제조사에 의해 보정되었으며 사용하기 전에 인증서를 검사했습니다. 공기 샘플 컬렉션은 사용하기 전에 Gilian Gilibrator 2 SN- 200700-12와 고유량 기포발생기인 SN-2009012-H를 사용하여 확인했습니다. 공기 샘플링 장치는 제거 가능한 밀봉 카세트와 함께 사용했으며 카세트는 지정한 샘플링 시간이 끝날 때마다 직접 제거되었습니다. 카세트 내부에 있는 복잡한 내부 필터링 디스크가 바이러스 샘플을 수집했습니다. 각 공기 샘플링 장치는 지정한 시간마다 대략 25리터의 공기를 수집했습니다.

## **바이러스 균주 배경:**

다음 시약은 질병 통제 예방센터에 저장되었으며 BEI 리소스, BIAID, NIH SARS 관련 코로나바이러스 2, 격리 USA-CA1/2020 및 NR- 52382를 통해 얻었습니다.



### 오염제거 후:

각 바이러스 연구 테스트가 끝난 후 테스트 챔버 내부의 UV 시스템을 30분 동안 작동시켰습니다. 자외선에 30분 동안 노출된 챔버에 30분 동안 과산화수소 가스 혼합물을 채워 정화했습니다. 모든 테스트 장치는 매일 일과가 끝난 후 70% 알코올 용액으로 세척했습니다. 수집 라인에 표백 용액에 30분 담갔다 탈이온화수로 반복하여 세척했습니다. 분무화 장치와 진공 수집 펌프는 과산화수소 혼합물로 오염을 제거했습니다.

### TCID50 절차:

#### 재료 및 장치:

- 생화학적으로 안전함이 인증된 캐비닛
- 마이크로피펫 및 살균된 일회용 항에어로졸 팁 – 20 $\mu$ L, 200 $\mu$ L, 1000 $\mu$ L
- 도립현미경
- 희석용 튜브
- 커버슬립이 있는 혈구계
- 감염을 위한 매체 세포
- 셀 라인에 적합한 배양용 매체
- 0.4% 트리판블루 용액
- 70% 이소프로필 알코올에 적신 보푸라기 없는 천
- 37°C, 34°C 또는 기타 지정한 온도에 맞춘 CO<sub>2</sub> 배양기

#### 절차:

1. 감염 하루 전에 DMEM과 7.5% 소태아혈청, 4mM 글루타민과 항생제가 담긴 96개의 웰 접시에 Vero E6 세포를 뿌려 준비합니다.
2. 감염 당일에 바이러스 샘플을 PBS에 담가 희석합니다.
3. 원래 바이러스 샘플과 1:10의 비율로 연속해서 희석합니다. 첫 튜브에는 2.0mL의 PBS를 담고 나머지 튜브에는 1.8mL의 PBS를 담습니다.
4. Vortex Viral 샘플 20 $\mu$ L을 첫 번째 튜브와 보텍스, 폐기 팁으로 옮깁니다.
5. 새로운 팁으로 나머지 샘플을 희석해 200 $\mu$ L을 옮깁니다.



### 세포에 바이러스 희석액 추가:

1. 96개의 오목 접시 뚜껑에 그리드를 그려 4배를 표시하고 바이러스 샘플에 해당하는 숫자를 기입한 후 희석액을 입힐 플레이트 줄에 라벨을 붙입니다.
2. 감염시키지 않을 각 플레이트에 4개의 음성 웰을 포함시킵니다.
3. 진공흡인을 통해 각 웰에서 0.1mL의 매체만 남기고 모두 제거합니다.
4. 가장 많이 희석된 샘플부터 시작하여 해당 희석의 각 4배 웰에 0.1mL의 바이러스 희석을 추가합니다.
5. 희석당 뒤에서부터 4개의 웰을 감염시킵니다.
6. 바이러스가 37°C에서 2시간 동안 세포를 흡수하도록 합니다.
7. 흡수가 끝나면 바이러스접종원을 제거합니다. 가장 많이 희석된 웰부터 시작하여 작업합니다.
8. 피펫으로 웰을 건드리지 않도록 주의하면서 각 웰에 0.5mL의 감염 매체를 추가합니다.
9. 플레이트를 온도가 37°C인 환경에 놓고 도립현미경을 사용해 1주에서 4주 동안 CPE를 모니터링합니다.
10. 양성 및 음성 웰의 수를 기록합니다.

### 제어:

테스트 챔버에서 NV1050™ 유닛 없이 두 번의 제어 테스트를 진행했습니다. 바이러스 연구 시험에서와 마찬가지로 분무화가 끝나고 30분 후에 제어 샘플을 꺼냈습니다. 바이러스 매체의 분무화 및 수집 방법은 바이러스 연구의 제어와 동일합니다. 연구 실험에서 총 감소 계산이 가능하도록 NV1050™ 장치가 작동했을 때의 바이러스 감소를 평가하기 위한 비교 기준으로 사용되었습니다. 제어 테스트 동안 테스트 챔버의 각 구석에서 네 개의 저유량 팬을 작동시켜 공기가 균일하게 섞이도록 했습니다. 제어 동안 온도와 상대 습도를 모니터링했습니다. 바이러스 연구를 진행하기 전에 온도와 습도가 제어 +/-5%와 상대적인 범위에 있는지 확인했습니다.



### 바이러스 연구:

NV1050™ 장치의 효험을 시험하기 위해 공격 병원균 SARS-CoV-2 USA-CA1/2020을 사용했습니다. 시험 연구 동안 시험 챔버의 기압을 모니터링해 챔버의 어느 곳에서도 누출이 없는지 확인했습니다. 부유세균 효험 시험은 기본 데이터를 생성하기 위한 활성 병원균을 사용하여 세 번에 걸쳐 완료했습니다. 각 바이러스 시험에서 NV1050™ 장치를 같은 장소에 놓고 같은 방식으로 작동시켰습니다. 제어 테스트와 바이러스 병원균 테스트 전체에서 네 개의 저유량 혼합 팬을 사용했습니다. 샘플 시간은 분무화가 완료된 후 30분이었습니다. 샘플 채취를 위해 각 수집에서 동시에 작동하는 4개의 자동 유량 샘플러를 사용했습니다. 샘플 채취기는 수집이 시작되고 30분이 지나면 자동으로 꺼지도록 미리 설정되었습니다. 수집은 병원균 급기 및 안정성을 최대한 유지하기 위해 바이러스 매체로 코팅된 필터를 활용하는 장치를 통해 이루어졌습니다. 수집 샘플은 지정된 수집 시간이 끝나면 실험실 직원에게 전달해 저장했습니다.

# INNOVATIVE BIOANALYSIS

creating solutions | getting results

**바이러스:** SARS-CoV-2 USA-CA1/2020 (BEI NR-52382)

테스트	사양	결과
Vero 6 세포에서의 전염력 확인	세포 라운딩 및 분리	세포 라운딩 및 분리
Illumina® iSeq™ 100 플랫폼을 사용한 완전한 게놈의 차세대 시퀀싱(NGS)  (약 940개의 뉴클레오티드)	≥ 98% 아이덴티티(SARS- CoV 2, 격리 USA- CA1/2020) GenBank: MN994467.1  ≥ 98% 아이덴티티(SARS- CoV 2, 스트레인 FDAARGOS_983 격리 USA-CA1/2020) GenBank: MT246667.1	≥ 98% 아이덴티티(SARS- CoV 2, 격리 USA- CA1/2020 GenBank: MN994467.1)  100% 아이덴티티(SARS- CoV 2, 스트레인 FDAARGOS_983 격리 USA-CA1/2020 GenBank: MT246667.1)
Vero E6 세포의 TCID50에 의한 역가 세포 변성 효과	결과 보고	mL당 2.8 X 10 <sup>4</sup> TCID50 37°C에서 5일 및 5% CO <sub>2</sub>
멸균(21일 배양) 하르포스 HTYE 배지, 호기성 트립티케이스 소이 배지, 호기성 사부라드 배지, 호기성 면양혈액 배양액, 호기성 면양혈액 배양액, 혐기성 타이오글라이콜산염 배지, 혐기성 DMEM(10% FBS)	증식 없음 증식 없음 증식 없음 증식 없음 증식 없음 증식 없음 증식 없음	증식 없음 증식 없음 증식 없음 증식 없음 증식 없음 증식 없음 증식 없음
멸균 (21일 배양) 하르포스 HTYE 배지, 호기성 트립티케이스 소이 배지, 호기성 사부라드 배지, 호기성 면양혈액 배양액, 호기성 면양혈액 배양액, 혐기성 타이오글라이콜산염 배지, 혐기성 DMEM(10% FBS)	증식 없음 증식 없음 증식 없음 증식 없음 증식 없음 증식 없음 증식 없음	증식 없음 증식 없음 증식 없음 증식 없음 증식 없음 증식 없음 증식 없음
마이코플라스마 오염 배양액 및 배지 배양 추출한 PCR에 의한 DNA 탐지 테스트 아티클 핵산	발견되지 않음 발견되지 않음	발견되지 않음 발견되지 않음

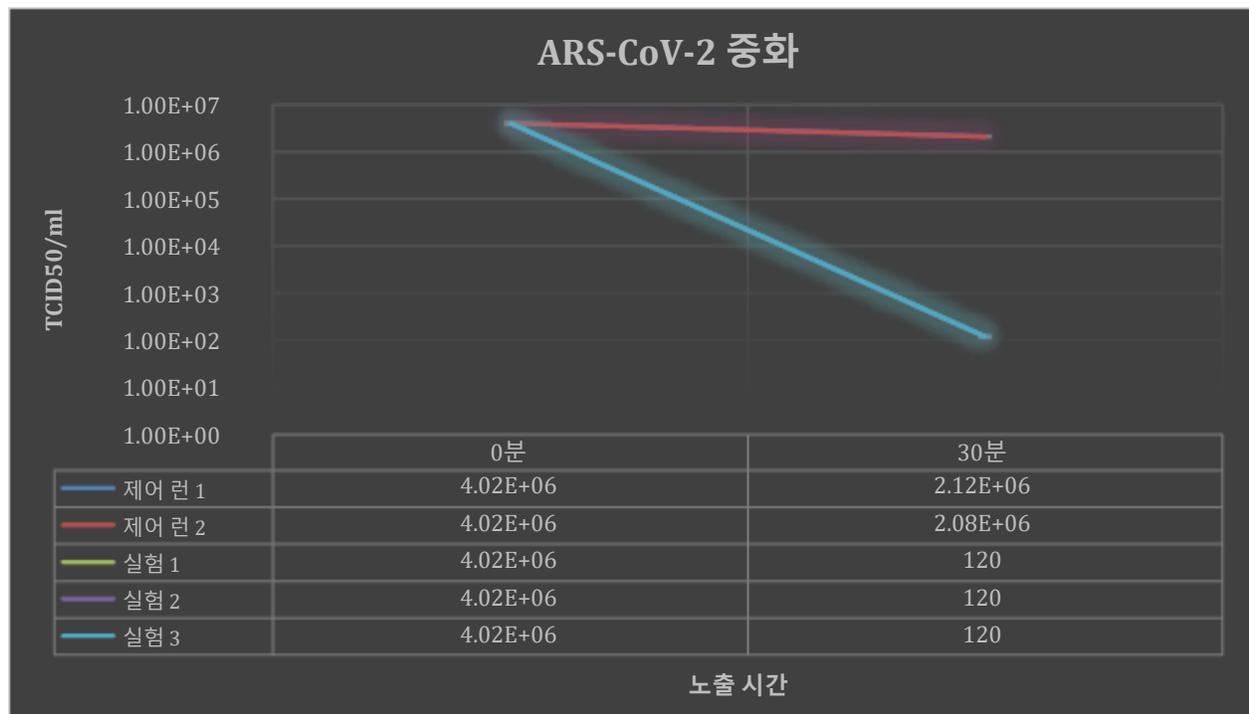
# INNOVATIVE BIOANALYSIS

creating solutions | getting results

## 바이러스 매체의 에어로졸화:

제어 샘플은 바이러스 테스트와 같은 방식으로 지정된 시간에 지정된 수집율로 진행되었습니다. 이 실험을 위해 SARS-CoV-2 USA-CA1/2020 바이러스( $4.02 \times 10^6$  TCID50/mL 농축액)를 사용했습니다.

## 결과:



**30분에 Log10 감소: 4.53**

**30분에 백분율 감소: 99.997%**

# INNOVATIVE BIOANALYSIS

creating solutions | getting results

## 결론:

NV1050™ 장치는 제조사의 사양대로 작동했으며 에어로졸 형태의 바이러스에 30분 노출된 후 바이러스를 극적으로 감소시켰습니다. 30분 후에 활성 SARS-CoV-2 바이러스는 탐지되지 않았습니다(정량 제한인 120 TCID50/ml 이하 수준).

챔버의 환경이 최대한 실제 환경과 비슷하도록 노력했으며 생물안전도 3급 병원균으로 작업할 때 필요한 특별한 주의를 고려했습니다. 활성 SARS-CoV-2 바이러스의 집중 시작, 에어로졸화된 부피 및 접종 부피를 고려하면 실생활에서 이 정도의 병원균이 침투할 확률은 거의 없다고 할 수 있습니다.

병원균을 에어로졸화하고 해당 병원균을 수집할 때 병원균 배치, 수집 부피, 수집 장소, 감소율, 표면 포화, 수집 시 파괴되는 바이러스, 분무화 시 파괴되는 바이러스 등 모든 변수를 고려할 수는 없습니다. 시험의 설계와 실행을 통해 이러한 제약을 해결하려고 노력했으며 이러한 노력은 제어 테스트에서 유의미한 바이러스 회수로 반영되었습니다.

이러한 변수를 감안하여 첫 30분 동안 NV1050™ 장치를 통해 대량의 바이러스를 제거했습니다. 공기 감소가 상당했으며 제조사의 주장대로 일정했습니다. 전반적으로 NV1050™ 장치는 호흡 가능한 공기 중의 SARS-CoV-2 USA-CA1/2020를 제거하는 데 상당한 효험이 있음을 보였습니다.

## 면책

Innovative BioAnalysis, Inc.(이하 "Innovative Bioanalysis") 연구실은 미국 환경보호국의 승인을 받지 않았으며 오존, 활성 산소, 휘발성 유기화합물 또는 NV1050™ 장치의 부산물과 관련된 장비 배출을 주장하지 않습니다. Innovative Bioanalysis는 NV1050™의 전반적인 효험을 주장하지 않습니다. 실험 결과는 시험에서 쓰인 장비(일련번호: NV1050-US20073100137)로만 얻었습니다. 결과는 이 보고서에서 기술한 실험 설계만을 대표합니다. Innovative Bioanalysis는

동일한 테스트 환경, 바이러스 스트레인, 수집 방법, 접종, 분무화, 바이러스 매체, 세포 유형 및 배양 절차가 동일하더라도 이 실험 결과와 동일한 실험을 재연할 수 있다고 보장하지 않습니다. Innovative BioAnalysis는 제삼자를 대상으로 무엇도 주장하지 않으며 제삼자에 의해 진행된 실험의 결과를 사용하여 또는 이와 관련하여 발생하는 어떠한 결과에도 책임을 지지 않습니다.

# INNOVATIVE BIOANALYSIS

creating solutions | getting results

DocuSigned by:  
*Dana Yee*  
7D5A69A0907947B...

2021년 4월 6일

**Dr. Dana Yee M.D**  
임상병리의 및 의사장

날짜

DocuSigned by:  
*Sam Kabbani*  
8B4B282DF4B34A3...

2021년 4월 5일

**Sam Kabbani, MS, BS, MT(ASCP), CLS**  
Innovative Bioanalysis 리드 과학 담당자

날짜

DocuSigned by:  
*Albert Brockman*  
06DF5C77A0D2400...

2021년 4월 5일

**Albert Brockman**  
Innovative Bioanalysis 생물학적 안전성 담당자

날짜

DocuSigned by:  
*Kevin Noble*  
5DF2797BAA78421...

2021년 4월 5일

**Kevin Noble**  
Innovative Bioanalysis 최고 업무 담당자

날짜