



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

SARS-CoV-2 USA-CA1/2020

KUNDE: NOVAERUS

PROJEKT: AEROSOLE IM RAUM

PRODUKT: NV1050

CAP LIZENZNR.: 886029801

CLIA LIZENZNR.: O5D0955926

STATE ID: CLF 00324630

ZU TESTENDES VIRUS: SARS-CoV-2 USA-CA1/2020

INNOVATIVE BIOANALYSIS

creating solutions | getting results

ABSTRACT: WIRKSAMKEIT DES NOVAERUS-GERÄTES NV1050™ GEGEN AEROSOLISIERTES SARS-CoV-2

Hintergrund: Mit dieser In-vitro-Studie sollte die Wirksamkeit des Gerätes NV1050™ untersucht werden. Bei dem Produkt handelt es sich um einen auf dem Markt erhältlichen medizinischen Umluftreiniger, der von NOVAERUS/WELLAIR hergestellt wird. Der NV1050™ wurde für die freistehende Aufstellung in einem Raum konzipiert, um während des Betriebs die Konzentration von Krankheitserregern in der Luft zu verringern. Dieser Test wurde mit dem Krankheitserreger SARS-CoV-2 USA-CA1/2020 durchgeführt, der COVID-19 auslöst. Das Coronavirus kann sich über die Luft und durch das Berühren von Oberflächen ausbreiten. Es besteht ein Bedarf für Luftreinigungsgeräte, die nachweislich in der Lage sind, infektiöse Krankheitserreger in der Luft zu verringern und somit das Risiko zu reduzieren, dass sich Menschen infizieren und das Virus übertragen. NOVAERUS lieferte für den Test einen einsatzbereiten, freistehenden NV1050™. Die Testverfahren wurden gemäß den internen Standardarbeitsanweisungen für Tests mit viralen Krankheitserregern in Aerosolen und die anschließende Dekontamination durchgeführt. Alle internen Standardarbeitsanweisungen und Prozesse folgen den GCLP-Richtlinien und -Empfehlungen für gute klinische Laborpraxis.

ZUR VERFÜGUNG GESTELLTES GERÄT:

HERSTELLER: NOVAERUS

MODELL: NV1050™

SERIENNR. NV1050-US20073100137



GERÄT NV1050™:

Das Gerät wurde vom Hersteller einsatzbereit an das Labor geliefert und bei Ankunft auf Schäden überprüft. Vor Beginn des Tests wurde mit dem NV1050™ ein mehr als dreistündiger Probelauf in einer abgedichteten Bioaerosolkammer durchgeführt, um eine ordnungsgemäße Funktion des Geräts sicherzustellen. Bei der Bioaerosolkammer handelte es sich um dieselbe BSL3-Kammer, die auch für den Test mit dem Virus verwendet wurde.



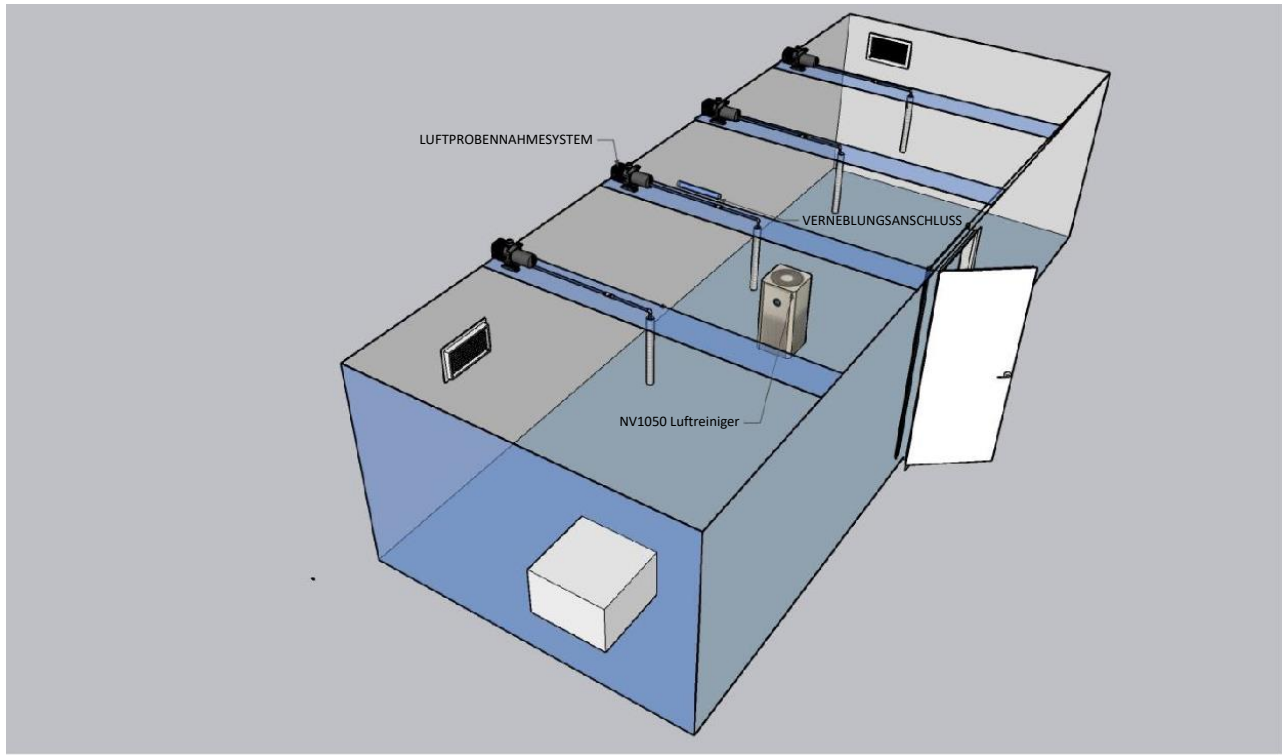
PRÜFKAMMER FÜR DEN VIRUSTEST:

Bei der Prüfkammer handelte es sich um eine große, abgedichtete Luftvolumenprüfkammer der biologischen Schutzstufe BSL3 mit Metallwänden und einem Epoxyboden. Die Kammer war so konzipiert, dass sie vollständig von der äußeren Umgebung abgedichtet war, um eine potenzielle Freisetzung von Prüfmitteln in die Atmosphäre zu verhindern. Die Prüfkammer war mit 4 abgedichteten Sichtfenstern und einer verschließbaren Kammertür für den Ein- und Austritt ausgestattet. Die Gesamtabmessungen der Prüfkammer betragen etwa 8 x 8 x 20 Fuß (2,44 x 2,44 x 6,10 m) mit einem Gesamtverdrängungsvolumen von 1.280 Kubikfuß (36,24 m³). Basierend auf dem Kubikfußvolumen enthielt die Kammer 36.245,56 Liter Luft.

Die Prüfkammer war mit HEPA-gefilterten Einlässen und Auslässen ausgestattet, gepaart mit einem aktiven UV-C-System in allen Leitungen. Die Luftfeuchtigkeit und Temperatur in der Kammer wurden mithilfe eines kalibrierten, drahtlosen Geräts überwacht. Für die Probennahme war die Kammer entlang der Mittellinie des Raums mit 4 Sonden ausgestattet, die 24 Zoll (60,96 cm) von der Decke herunterragten. Jedes Sondenrohr war mit einem programmierbaren Gilian 10i-System mit Probennahmekassetten der Chargennummer 19766 von Sensidyne verbunden. In der Mitte der 20 Fuß (6,10 m) langen Wand gegenüber von den Eintrittstüren befand sich ein einzelner Bioaerosolverneblungsanschluss. Die Verteilungsöffnung ragte 24 Zoll (60,96 cm) aus der Wand heraus und war an ein programmierbares Kompressorverneblersystem angeschlossen.

Vor dem Test wurde die Kammer unter Druck auf undichte Stellen geprüft, und es wurden Sichtkontrollen mit einem Farbrauchgerät durchgeführt. Zur Bestätigung der Arbeitsbedingungen wurde verifiziert, dass alle Kammerdichtungen funktionieren, und es wurden alle Geräte einer Funktionsprüfung unterzogen. Bei kalibrierten Geräten wurden zur Bestätigung des Betriebszustands die Kalibrationsberichte überprüft.

TESTUMGEBUNG:



ZUSAMMENFASSUNG DES VERSUCHS:

- Vor dem ersten Kontrolltest und nach jedem Probelauf wurde der Testbereich nach den internen Verfahren dekontaminiert und vorbereitet.
- Alle Tests fanden bei einer Temperatur von circa 73 °F +/- 2 °F bzw. 22,8 °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 51 % statt.
- Die relative Luftfeuchtigkeit und die Temperatur wurden während aller Tests in zwei Abschnitten der Kammer gemessen, um zu verifizieren, dass an beiden Seiten keine Abweichungen von mehr als 3 % vorlagen.
- Der NV1050™ wurde für jeden Virentest in der Mitte des Raums aufgestellt.
- Die Luftprobennehmer wurden am 3. September 2020 vom Hersteller kalibriert und auf eine Standardströmung von 5,02 l/min eingestellt. In den Kalibrierungsprotokollen ist eine Toleranz von 0,20 % angegeben.
- Für alle Probennahmeverolumina wurden 30-minütige Luftentnahmen eingestellt.
- Vor der Verneblung wurden kleinvolumige Mischventilatoren eingeschaltet, um für homogene Konzentrationen in der Prüfkammer zu sorgen.



- Die Mischventilatoren blieben eingeschaltet und waren in einem 45-Grad-Winkel positioniert, um die Bioaerosol-Suspension zu fördern und die natürliche Sinkgeschwindigkeit der Partikel zu reduzieren.
- Die Verneblung wurde bei den Kontroll- und Virentests in gleicher Weise durchgeführt.
- Die Probenkassetten wurden nach jedem Zeitpunkt manuell aus dem Sammelsystem entnommen, gelagert und durch neue Kassetten ersetzt.
- Nach der Entnahme der Kassetten zu jedem Zeitpunkt wurden die Kassettensätze in eine angrenzende Bio-Sicherheitswerkbank gebracht und gepoolt.
- Es wurden 2 Kontrollen und 3 Virentests nach dem gleichen Verfahren durchgeführt.

ERZEUGUNG VON BIOAEROLEN:

Für die Kontrolle und die viralen Tests wurde der Vernebler jeweils mit der gleichen Menge an Virenmaterial ($4,02 \times 10^6$ TCID₅₀ je ml) gefüllt und mit einer Strömungsrate von 1 ml/min für 25 Minuten vernebelt. Der Vernebler wurde mit unbehandelter Luft aus der Umgebung vor Ort betrieben. Nach Abschluss jedes Tests wurde das verbleibende Virenvolumen des Verneblers gewogen, um zu bestätigen, dass die gleiche Menge an Virusmaterial vernebelt wurde.

BIOAEROSOLPROBENNAHME:

Zur Luftprobenahme wurden 4 verschiedene programmierbare Gillian 10i Vakuumeräte verwendet. Die Luftprobennehmer wurden im September 2020 vom Hersteller kalibriert und die Nachweise vor der Verwendung überprüft. Die Luftprobennahmen wurden vor der Verwendung mit einem Gilian Gilibrators 2 SN- 200700-12 und einem High-Flow-Blasengenerator SN-2009012-H verifiziert. Die Luftprobennehmer wurden zusammen mit herausnehmbaren versiegelten Kassetten betrieben, die nach jedem Probenahmezeitpunkt entnommen wurden. In den Kassetten befand sich eine empfindliche Filterscheibe zur Virusprobenahme. Mit jedem Luftnehmer wurden etwa 25 Liter Luft je Zeitpunkt entnommen.

HINTERGRUND ZUM VIRENSTAMM:

Das folgende Reagenz wurde von den Centers for Disease Control and Prevention, einer Behörde des US-amerikanischen Gesundheitsministeriums, hinterlegt und über BEI Ressourcen, BIAID, NIH bezogen: SARS-Related Coronaviurs 2, Isolat USA-CA1/2020, NR- 52382.



NACH DER DEKONTAMINATION:

Nach Abschluss jedes Virentests wurde das UV-System in der Prüfkammer für 30 Minuten aktiviert. Nach 30 Minuten UV-Bestrahlung wurde die Kammer mit einer Wasserstoffperoxid-Gasmischung vernebelt, gefolgt von einer 30-minütigen Luftspülung. Die gesamte Testausrüstung wurde am Ende jedes Tages mit einer 70%igen Alkohollösung gereinigt. Die Probennahmeleitungen wurden 30 Minuten lang in einer Bleichbadmischung eingeweicht und dann wiederholt mit deionisiertem Wasser gespült. Vernebler und Vakuumpumpen wurden mit Wasserstoffperoxydmischungen dekontaminiert.

TCID50-VERFAHREN:

Materialien und Ausrüstung:

- Zertifizierte biologische Sicherheitswerkbank
- Mikropipette und sterile aerosolresistente Spitzen für den Einmalgebrauch – 20 µl, 200 µl, 1.000 µl.
- Inverses Mikroskop
- Verdünnungsröhrchen
- Hämozytometer mit Deckglas
- Zellmedien für die Infektion
- Für die Zelllinie geeignetes Wachstumsmedium
- 0,4%ige Trypanblau-Lösung
- Mit 70%igem Isopropylalkohol getränkte flusenfreie Tücher
- Auf 37 °C oder 34 °C oder eine andere indizierte Temperatur eingestellter CO₂ Inkubator.

Verfahren:

1. Einen Tag vor der Infektion werden Schalen mit 96 Vertiefungen durch das Beimpfen jeder Vertiefung mit Vero E6-Zellen in DMEM plus 7,5 % fötalem Kälberserum (FKS), 4mM Glutamin und Antibiotika vorbereitet.
2. Am Tag der Infektion werden die Virenproben in PBS verdünnt.
3. Es wird eine Reihe von Verdünnungen der ursprünglichen Virenprobe im Verhältnis 1:10 hergestellt, das erste Röhrchen mit 2,0 ml PBS und die folgenden mit 1,8 ml.
4. Die Virenproben werden auf einem Vortex-Mischer durchmischt und 20 µl in das erste Röhrchen überführt, dann auf dem Vortex-Mischer durchmischt und die Spitze entsorgt.
5. Mit einer neuen Spitze werden die nachfolgenden Proben seriell verdünnt und 200 µl überführt.

**Zugabe der Virusverdünnungen zu den Zellen:**

1. Die Deckel der 96-Well-Platte werden beschriftet. Hierfür wird ein Raster aufgezeichnet, in dem jeweils 4 Kavitäten zusammengefasst sind. Jedes Raster wird entsprechend der Virenprobe nummeriert und die Reihen der Platte entsprechend der zugegebenen Verdünnung gekennzeichnet.
2. Auf jeder Platte werden 4 negative Kavitäten eingeschlossen, die nicht infiziert werden.
3. Das Medium wird in jeder Kavität bis auf 0,1 ml durch Vakuumabsaugung entfernt.
4. Ausgehend von der am stärksten verdünnten Probe wird in jede der vierfachen Kavitäten 0,1 ml dieser Virusverdünnung gegeben.
5. Je Verdünnung werden 4 Kavitäten rückwärts infiziert.
6. Dann wird das Virus für 2 Stunden bei 37 °C von den Zellen absorbiert.
7. Nach der Absorption wird das Virusimpfmateriale entfernt. Beginnend mit dem am stärksten Verdünnten wird rückwärts gearbeitet.
8. In jede Kavität werden vorsichtig 0,5 ml Infektionsmedium gegeben, ohne die Kavitäten dabei mit der Pipette zu berühren.
9. Die Platten werden bei 37 °C aufgestellt und der CPE mit dem inversen Mikroskop über einen Zeitraum von 1 bis 4 Wochen überwacht.
10. Die Anzahl positiver und negativer Kavitäten wird aufgezeichnet.

KONTROLLE:

In der Kammer wurden zwei Kontrolltests ohne den NV1050™ durchgeführt. Genauso wie bei den Virentests wurden 30 Minuten nach Abschluss der Verneblung Kontrollproben genommen. Die Methoden zur Verneblung von viralen Medien und zur Probennahme waren die gleichen wie beim Virentest. Der Kontrolltest diente als Vergleichsbasis, um die Virenreduktion beim Betrieb des NV1050™ während der Tests bewerten und Berechnungen zur Nettoerduktion durchführen zu können. Während der Kontrolle wurden in jeder Ecke der Prüfkammer vier kleinvolumige Ventilatoren betrieben, um eine homogene Durchmischung der Luft zu gewährleisten. Die Temperatur und die relative Luftfeuchtigkeit wurden während der Kontrolle überwacht. Vor der Durchführung des Virentests wurde bestätigt, dass Temperatur und Luftfeuchtigkeit im relativen Bereich zur Kontrolle lagen (+/- 5 %).

VIRENTEST:

Um die Wirksamkeit des NV1050™ zu prüfen, wurde der zu testende Krankheitserreger SARS-CoV-2 USA-CA1/2020 verwendet. Während des Tests wurde der Kammerdruck überwacht, um sicherzugehen, dass die Kammer in keinem Abschnitt undicht ist. Die Bioaerosol-Wirksamkeitsprüfung wurde in drei verschiedenen Versuchen mit dem aktiven Krankheitserreger durchgeführt, um Ausgangsdaten zu generieren. Der NV1050™ wurde bei jedem Virentest an der gleichen Stelle aufgestellt und auf die gleiche Weise betrieben. Während der gesamten Kontrolle und des gesamten Virentests kamen vier kleinvolumige Mischventilatoren zum Einsatz. Die Probennahme erfolgte 30 Minuten nach Beendigung der Verneblung. Die Probennahme erfolgte mithilfe von 4 automatischen Luftprobennehmern, die bei jeder Entnahme gleichzeitig betrieben wurden. Die Probennehmer wurden so voreingestellt, dass sie automatisch 30 Minuten nach Probennahme abgeschaltet werden. Um so viele Krankheitserreger wie möglich abzufangen und für maximale Stabilität zu sorgen, wurden die Probennahmen mit Geräten durchgeführt, deren Filter mit viralen Medien beschichtet waren. Die entnommenen Proben wurden nach jedem Entnahmezeitpunkt dem Laborpersonal zum Poolen zur Verfügung gestellt.

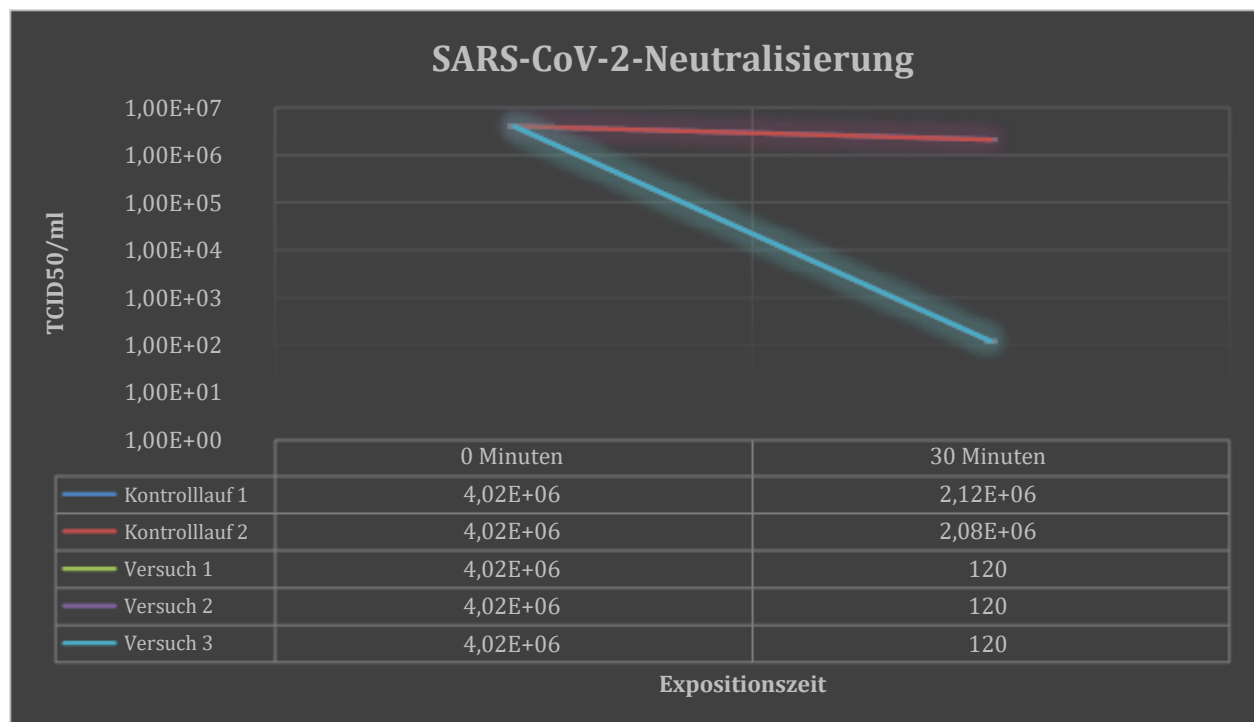
**VIRUSMATERIAL:** SARS-CoV-2 USA-CA1/2020 (BEI NR-52382)

TEST	SPEZIFIKATIONEN	ERGEBNISSE
Identifizierung durch Infektiosität in Vero 6-Zellen	Abrundung der Zellen und Loslösung	Abrundung der Zellen und Loslösung
Sequenzierung der nächsten Generation (Next Generation Sequencing, NGS) des kompletten Genoms mit der Illumina® iSeq™ 100 Plattform (etwa 940 Nukleotide)	≥ 98 % identisch mit SARS-CoV-2, Isolat USA- CA1/2020 GenBank: MN994467.1 ≥ 98 % identisch mit SARS-CoV-2, Stamm FDAARGOS_983, Isolat USA-CA1/2020 GenBank: MT246667.1	99,9 % identisch mit SARS-CoV-2, Isolat USA-CA1/2020 GenBank: MN994467.1 100 % identisch mit SARS-CoV-2, Stamm FDAARGOS_983 Isolat USA-CA1/2020 GenBank: MT246667.1
Titer mittels TCID50 in Vero E6-Zellen durch zytopathischen Effekt	Berichtsergebnisse	2,8 x 10 ⁵ TCID50 pro ml in 5 Tagen bei 37 °C und 5 % CO ₂
Sterilität (21-tägige Inkubation) Harpos HTYE Bouillon, aerob Trypticase-Soja-Bouillon, aerob Sabouraud-Bouillon, aerob Schafblutagar, aerob Schafblutagar, anaerob Thioglycolat-Bouillon, anaerob DMEM mit 10 % FKS	Kein Wachstum Kein Wachstum Kein Wachstum Kein Wachstum Kein Wachstum Kein Wachstum Kein Wachstum	Kein Wachstum Kein Wachstum Kein Wachstum Kein Wachstum Kein Wachstum Kein Wachstum Kein Wachstum
Sterilität (21-tägige Inkubation) Harpos HTYE Bouillon, aerob Trypticase-Soja-Bouillon, aerob Sabouraud-Bouillon, aerob Schafblutagar, aerob Schafblutagar, anaerob Thioglycolat-Bouillon, anaerob DMEM mit 10 % FKS	Kein Wachstum Kein Wachstum Kein Wachstum Kein Wachstum Kein Wachstum Kein Wachstum Kein Wachstum	Kein Wachstum Kein Wachstum Kein Wachstum Kein Wachstum Kein Wachstum Kein Wachstum Kein Wachstum
Mycoplasma-Kontamination Kulturen auf Agar und Bouillon DNA-Nachweis durch PCR oder extrahierte Testmittel-Nukleinsäure	Kein Nachweis Kein Nachweis	Kein Nachweis Kein Nachweis

Aerosolisierung des Virusmediums:

Die Kontrollproben wurden auf die gleiche Weise wie der Virentest zu den gleichen Zeitpunkten und mit der gleichen Entnahmerate durchgeführt. Für diesen Versuch wurde Virusmaterial von SARS-CoV-2 USA-CA1/2020 mit einer Konzentration von $4,02 \times 10^6$ TCID₅₀/ml verwendet.

ERGEBNISSE:



Log10-Reduktion nach 30 Minuten: 4,53

Reduktion in Prozent nach 30 Minuten: 99,997 %



SCHLUSSFOLGERUNGEN:

Der NV1050™ entspricht den Spezifikationen des Herstellers und zeigte eine deutliche Reduktion des aktiven Virus nach 30-minütiger Exposition gegenüber der Aerosolform. Das lebende SARS-CoV-2-Virus war nach 30 Minuten nicht mehr nachweisbar (die Werte lagen unter der Quantifizierungsgrenze von 120 TCID50/ml).

Es wurden alle Anstrengungen unternommen, um eine reale Umgebung in der Kammer zu simulieren, wobei die besonderen Vorsichtsmaßnahmen bei der Arbeit mit einem Erreger der Biosicherheitsstufe 3 berücksichtigt wurden. Unter Berücksichtigung der Ausgangskonzentration des aktiven SARS-CoV-2-Virus, des aerosolisierten Volumens und des beimpften Volumens war davon auszugehen, dass die Wahrscheinlichkeit, in eine Umgebung mit dieser Menge an Erregern zu gelangen, unter realen Bedingungen unwahrscheinlich ist.

Bei der Aerosolisierung von Krankheitserregern und der Probenahme dieser Erreger gibt es Variablen, die nicht vollständig berücksichtigt werden können, beispielsweise die Platzierung des Erregers, das Entnahmevolumen, die Entnahmepunkte, die Abnahmerate, die Oberflächensättigung, die Virusvernichtung beim Vernebeln und möglicherweise weitere. Es wurden alle Anstrengungen unternommen, um diese Einschränkungen bei der Planung und Durchführung der Versuche zu berücksichtigen. Diese Bemühungen spiegeln sich in der aussagekräftigen Wiederfindung des Virus in der Kontrolle wider.

Unter Berücksichtigung dieser Variablen wurde mit dem NV1050™ in den ersten 30 Minuten ein großer Teil der Viren entfernt. Die Reduzierung in der Luft war signifikant und entsprach den Angaben des Herstellers. Insgesamt zeigte der NV1050™ eine deutliche Wirksamkeit bei der Entfernung von SARS-CoV-2 USA-CA1/2020 aus der Atemluft.

Haftungsausschluss

Das Labor Innovative BioAnalysis, Inc. ("Innovative Bioanalysis") ist nicht von der United States Environmental Protection Agency (US-Umweltschutzbehörde) zertifiziert oder lizenziert und macht keine Angaben zu Geräteemissionen in Bezug auf Ozon, reaktive Sauerstoffspezies, flüchtige organische Verbindungen oder Nebenprodukte eines NV1050™. Innovative Bioanalysis übernimmt keine Garantie für die Gesamtwirksamkeit eines NV1050™. Die Versuchsergebnisse beziehen sich ausschließlich auf das in der Studie verwendete Gerät mit der Seriennummer: NV1050- US20073100137. Die Ergebnisse sind nur repräsentativ für den in diesem Bericht beschriebenen Versuchsaufbau. Innovative Bioanalysis übernimmt keine Garantie für die Reproduzierbarkeit der Versuchsergebnisse angesichts der möglichen Variationen der Versuchsergebnisse, selbst wenn die Testumgebung, der Virenstamm, die Entnahmemethode, Beimpfung, Verneblung, die viralen Medien, der Zelltyp und das Kulturverfahren identisch sind. Innovative BioAnalysis übernimmt keine Garantie gegenüber Dritten und übernimmt keine Verantwortung für Folgen, die sich aus der Verwendung der Versuchsergebnisse oder dem Vertrauen auf diese durch Dritte ergeben.

INNOVATIVE BIOANALYSIS

creating solutions | getting results

DocuSigned by:
Dana Yee
7D5A69A0907947B...

06.04.2021

Dr. Dana Yee M.D
Clinical Pathologist and Medical Director

Datum

DocuSigned by:
Sam Kabbani
8B4B282DF4B34A3...

05.04.2021

Sam Kabbani, MS, BS, MT(ASCP), CLS
Chief Scientific Officer, Innovative Bioanalysis

Datum

DocuSigned by:
Albert Brockman
06DF5C77A0D2400...

05.04.2021

Albert Brockman
Chief Biosafety Officer, Innovative Bioanalysis

Datum

DocuSigned by:
Kevin Noble
5DF2797BAA78421...

05.04.2021

Kevin Noble
Chief Operating Officer, Innovative Bioanalysis

Datum