

Miesmuscheln aus der Ostsee (Mytilidae) haben als Reservoir einer Hepatitis E Virus Infektion keine Relevanz

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Zahnmedizin (Dr. med. dent.)

an der

Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von

Mahtab Rastar-Tangeten

aus

Hamburg

2025

Betreuer:in / Gutachter:in der Dissertation: PD Dr. Sven Pischke

Gutachter:in der Dissertation: Prof. Dr. Holger Rohde

Vorsitz der Prüfungskommission: Prof. Dr. Holger Rohde

Mitglied der Prüfungskommission: Prof. Dr. Marylyn Addo

Mitglied der Prüfungskommission: PD Dr. Christina Weiler-Normann

Datum der mündlichen Prüfung: 09.02.2026

Inhaltsverzeichnis

1	Darstellung der Publikation	4
1.1	Einleitung	4
1.2	Material und Methoden	6
1.2.1	Vorschriften	6
1.2.2	Bewertung der Anti-HEV-IgG-Positivität in Verbindung mit Muschelkonsum ..	6
1.2.3	PCR-Tests an kommerziellen Muscheln	7
1.2.4	Experimentelle HEV-Exposition von Muscheln	7
1.2.5	Ernte, Sezierung und PCR-Tests der mit HEV exponierten Muscheln	7
1.2.6	Qualitätskontrolle und PCR-Analyse	8
1.3	Ergebnisse	10
1.4	Diskussion	12
2	Manuskript mit Letter of Acceptance	14
3	Zusammenfassung	21
4	Literaturverzeichnis	23
5	Abkürzungsverzeichnis	24
6	Abbildungsverzeichnis	24
7	Tabellenverzeichnis	26
8	Erklärung des Eigenanteils	28
9	Eidesstattliche Versicherung	29
10	Danksagung	30

1 Darstellung der Publikation

1.1 Einleitung

Das Hepatitis-E-Virus (HEV) ist ein einzelsträngiges RNA-Virus, das als Paslahepevirus balayani innerhalb der Familie der Hepeviridae (International Committee on Taxonomy of Viruses: ICTV) klassifiziert wird. In Europa ist HEV Genotyp 3 ein zoonotischer Erreger, dessen Übertragung in erster Linie über ungenügend gegartes Schweinefleisch erfolgt, wobei auch Schalentiere als mögliche Infektionsquelle in Betracht gezogen werden, ähnlich wie das Hepatitis-A-Virus (HAV). Ein HEV-Ausbruch auf einem Kreuzfahrtschiff im Jahr 2009 wurde beispielsweise mit dem Verzehr von Muscheln assoziiert (1).

Schalentiere, zu denen unter anderem Muscheln, Schnecken und Krebstiere gehören, werden häufig über kontaminierte Küstengewässer mit Viren in Kontakt gebracht. Unterschiedliche Ergebnisse zur Prävalenz von HEV in Muscheln wurden in Studien aus europäischen Küstenregionen erbracht. In einer Reihe von Studien wurde in Muscheln aus verschiedenen Regionen eine unterschiedliche Prävalenz von HEV-RNA festgestellt. So wurde beispielsweise in Muscheln aus Dänemark oder Frankreich keine HEV-RNA nachgewiesen (2, 3), während andere Studien eine hohe Prävalenzraten berichten, z. B. 85,4 % in Muscheln von der schottischen Nordseeküste und 24,4 % in spanischen Muscheln (4, 5). Darüber hinaus weisen Experimente zur Persistenz und Bioakkumulation von HEV-RNA darauf hin, dass die Virusretention bei verschiedenen Schalentierarten unterschiedlich ist. Außerhalb Europas wurde eine HEV-Kontamination auch bei Mies- und Venusmuscheln aus Japan und China festgestellt, wobei HEV des Genotyps 4 in Asien identifiziert wurde (6, 7).

Eine Studie, die an Arbeitern in der Verarbeitung von Meeresfrüchten in China durchgeführt wurde, zeigt, dass der Umgang mit rohen Meeresfrüchten ein signifikantes Expositionsrisiko darstellen kann. Die Anti-HEV-IgG-Prävalenz war in der Gruppe der Personen mit direktem Kontakt zu rohen Meeresfrüchten höher als bei Büroangestellten (8). Die Ergebnisse unterstreichen somit die potenzielle Rolle von Schalentieren als Vektor für die HEV-Übertragung.

Trotz dieser Erkenntnisse ist das Risiko einer HEV-Übertragung in Deutschland durch Miesmuscheln (Mytilidae) aus der Ostsee noch unerforscht. In Deutschland werden Ostseemuscheln als Delikatesse geschätzt, jedoch bleiben entscheidende Fragen

unbeantwortet: Wie oft findet man HEV in Miesmuscheln aus der Ostsee? Wie lange kann HEV in Muscheln aus der Ostsee überleben? Ist eine Vermehrung des Virus im Muschelgewebe möglich, und stellt dies ein Risiko für eine Infektion des Menschen dar? Um diese Lücken zu schließen, wurden kommerziell angebotene Ostseemuscheln analysiert, experimentelle HEV-Expositionsstudien durchgeführt und die Anti-HEV-Seroprävalenz bei Personen mit unterschiedlichen Muschelkonsumgewohnheiten verglichen.

1.2 Material und Methoden

1.2.1 Vorschriften

Da die Untersuchung von Krankenhausmitarbeitern anonym war und Restmaterial aus Routine-Blutproben verwendet wurde, war nach den örtlichen Vorschriften und dem Hamburger Krankenhausgesetz kein formelles Ethikvotum erforderlich. Die Studie wurde jedoch von der Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg (Genehmigungsnummer PV7049) für die menschliche Komponente, einschließlich des Fragebogens und der Tests, genehmigt. Alle Teilnehmer gaben vor dem Ausfüllen des Fragebogens ihr Einverständnis. Die Studie wurde auch von der Behörde für Inneres der Freien und Hansestadt Hamburg aus Sicherheitsgründen genehmigt (Schreiben vom 27. August 2021). Für die Verwendung von Miesmuscheln war keine formale Genehmigung einer Tierethikkommission erforderlich, da Miesmuscheln zu den wirbellosen Tieren gehören. Es herrscht die allgemeine Annahme, dass wirbellose Tiere wie Muscheln über kein Bewusstsein verfügen, weshalb für ihre Verwendung in dieser Studie keine formelle ethische Prüfung erforderlich war. Die Innenbehörde der Freien und Hansestadt Hamburg und auch die Arbeitssicherheit des UKE haben dem Experiment der experimentellen Exposition lebendiger Muscheln mit HEV zugestimmt.

1.2.2 Bewertung der Anti-HEV-IgG-Positivität in Verbindung mit Muschelkonsum

Zur Evaluierung des Zusammenhangs zwischen Muschelkonsum und Anti-HEV-IgG-Positivität wurde eine empirische Untersuchung durchgeführt, die auf einer Befragung von 447 Mitarbeitern des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf basiert. Eine kleine Untergruppe von 10 Personen beantwortete die Frage nach dem Verzehr von gekochten oder gebratenen Meeresfrüchten, rohen Schalentieren und rohem Fisch nicht und wurde daher nicht in die Analyse einbezogen, sodass 437 auswertbare Fragebögen zur Verfügung standen.

Die Probanden wurden gefragt, wie oft sie pro Jahr gekochte oder gebratene Meeresfrüchte, rohe Schalentiere (z. B. Austern) und rohen Fisch (z. B. Sushi) verzehren. Gemäß der Auswahlmöglichkeit in dem Fragebogen gab es die Kategorien für Muschelverzehr "nie", "1-5 Mal pro Jahr", "6-12 Mal pro Jahr" oder "mehr als 12 Mal pro Jahr". Die neu entwickelte Umfrage wurde anonym durchgeführt, wobei jedem Fragebogen ein eindeutiger Code zugeordnet wurde, der mit der entsprechenden Serumprobe für den Anti-HEV-IgG-Test

verknüpft war; so wurde eine Pseudonymisierung gewährleistet. Die serologische Testung auf anti HEV IgG erfolgte mit dem Wantai-ELISA-Kit (Wantai, Peking, China).

1.2.3 PCR-Tests an kommerziellen Muscheln

Im Rahmen der Studie wurden Vierzig kommerziell erhältliche Mytilidae-Muscheln erworben und innerhalb eines 48-stündigen Zeitraums nach dem Erwerb auf das Vorhandensein von HEV-RNA getestet. Der exakte Fang Ort der Muscheln war nicht bekannt, jedoch waren sie im Besitz des MSC-Zertifikats (Marine Stewardship Council). Die Proben wurden bis zum Test mit dem Cobas HEV PCR"-Kit und dem vollautomatischen System Roche Cobas 6800 (Roche, Mannheim, Deutschland) bei 4 °C gelagert. Der Test wurde gemäß den Anweisungen des Herstellers durchgeführt und anhand des ersten internationalen Standards für Hepatitis-E-Virus-RNA für auf Nukleinsäure-Amplifikationstechnik (NAT) basierende Tests kalibriert.

1.2.4 Experimentelle HEV-Exposition von Muscheln

Es wurden fünfzig lebende Mytilidae-Muscheln aus der Ostsee in ein 40-Liter-Aquarium mit 35 Litern natürlichem Ostseewasser bei Raumtemperatur gesetzt. Am dritten Tag wurde die Abwesenheit von HEV-RNA im Wasser und in den Muscheln bestätigt. Am vierten Tag wurde hochkonzentriertes HEV (Genotypen 1 und 3; umhüllte und nicht umhüllte Partikel) hinzugefügt, um eine Endkonzentration von $1,13 \times 10^2$ Kopien/ml zu erreichen (Tabelle 1). Diese Dosierung stellte sicher, dass jede Muschel innerhalb von 24 Stunden mehr als 3,5 Millionen HEV-RNA-Kopien filtrierte. Die Belüftung wurde mittels Aquarium-Luftpumpen aufrechterhalten, und die Muscheln wurden wöchentlich mit etwa 1 g Hefe gefüttert. Um eine externe Kontamination zu minimieren, wurde das Aquarium zwischen den Wasserwechseln mittels UV-Strahlung sterilisiert. Am achten Tag wurde das Wasser durch frisches Meerwasser ersetzt, und die anschließenden PCR-Tests wurden auf einen Anstieg der HEV-RNA überwacht, was auf eine virale Replikation in den Muscheln hindeuten würde.

1.2.5 Ernte, Sezierung und PCR-Tests der experimentell mit HEV exponierten Muscheln

Die Ernte der Muscheln erfolgte in fünf Phasen: Tag 10 (n=10), Tag 17 (n=6), Tag 24 (n=6), Tag 38 (n=6) und Tag 43 (n=6). Im Rahmen der Untersuchung wurden die Muscheln einer Sezierung unterzogen (vgl. Abbildung 2). Die Gewebeproben wurden mittels 2-ml-Röhrchen,

die mit Keramikkügelchen (Precellys Lysing Kit) versehen waren, und 1 ml RNA- und DNA-freiem Wasser gewonnen. Die Lysierung der Proben erfolgte mittels des Precellys 24 (Bertin, Rockville, USA) und die Analyse der RNA mittels des RealStar HEV PCR Kit 2.0 (Altona Diagnostics, Hamburg, Deutschland). Die Testung verschiedener Muschel-Gewebe (Verdauungstrakt, Keimdrüse und Muskel) erfolgte separat mittels PCR. Zusätzlich zur Altona Diagnostics PCR wurden die Proof-of-Concept-Daten bei der Etablierung der Methodik mittels des diagnostischen IVD-Assays unter Verwendung des Roche Cobas Systems gewonnen. Aufgrund einer hohen Arbeitsbelastung im Bereich der Diagnostik war dieses System für eine größere Anzahl von Muscheln und mehrere Zeitpunkte für die Folgeexperimente nicht verfügbar. Daher wurde das kommerzielle Altona Diagnostics RealStar HEV PCR Kit 2.0 (Altona Diagnostics, Hamburg, Deutschland) mit einer ähnlichen PCR-Zielregion verwendet und im Forschungslabor gemäß dem Protokoll des Herstellers durchgeführt.

1.2.6 Qualitätskontrolle und PCR-Analyse

Die Roche Cobas Omni-Channel-Chemistry verwendet eine Variante der Hawk Z05-Polymerase, die Mg²⁺ verwendet und auch den RT-Schritt durchführen kann. Dadurch wird der klassische 95°C-Aktivierungs-/Inaktivierungsschritt obsolet.

Die HEV-Konzentration der Eingangsproben wurde mittels des RealStar HEV PCR-Kits 2.0 überprüft. Die genannten Assays wurden auf den HEV-Standard der WHO kalibriert, um die Konsistenz und Genauigkeit der Testmethoden zu gewährleisten.

Aufgrund der praktischen Umsetzbarkeit stand der zuvor beschriebene Cobas 6800 nicht für alle Tests zur Verfügung, sodass diese mittels des Altona Diagnostics PCR-Kits durchgeführt wurden. Die Konzentration jeder HEV-Eingangsprobe wurde mit dem Realstar HEV PCR-Kit 2.0 (Altona Diagnostics, Hamburg, Deutschland; Extraktion durch Quiakit, Qiagen, Deutschland) gemessen.

PCR-Temperaturprofil und PCR-Cycler-Einstellungen Altona Diagnostics PCR:

	Stage	Cycle Repeats	Acquisition	Temperature [°C]	Time [min:sec]
Reverse Transcription	Hold	1	-	55	20:00
Denaturation	Hold	1	-	95	02:00
Amplification	Cycling	45	-	95	00:15
			Yes	55	00:45
			-	72	00:15

Die Verfahren für die Nukleinsäureextraktion und die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurden gemäß den Anweisungen der Hersteller durchgeführt.

1.3 Ergebnisse

Zur Bewertung des Risikos einer HEV-Übertragung durch Ostseemytiliden wurden drei Untersuchungsmethoden herangezogen.

1. Anti-HEV-IgG-Seroprävalenz bei Muschelkonsum:

Im Rahmen einer Studie wurde eine Kohorte von 447 Beschäftigten des Gesundheitswesens am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf hinsichtlich ihrer Ernährungsgewohnheiten befragt und auf Anti-HEV-IgG-Seroprävalenz untersucht. Die Frage, wie häufig sie Muscheln konsumierten, beantworteten 437 der 447 Probanden. 190 der 437 Personen (43 %) gaben an, nie gekochte Muscheln zu essen, während 247 der 437 (57 %) angaben, gelegentlich Muscheln zu verzehren. Die Anti-HEV-IgG-Seroprävalenz unterschied sich nicht signifikant zwischen Nicht-Konsumenten (7 %, 14/190) und Konsumenten (11 %, 28/247; $p = 0,323$), einschließlich der Untergruppen, die auf der Häufigkeit des Verzehrs im Vergleich zu den Nicht-Konsumenten basierten (1-5 mal/Jahr: 13 %, 19/148 vs. 7 %, 14/190; $p = 0,104$; > 5 Mal/Jahr: 9 %, 9/99 vs. 7 %, 14/190; $p = 0,677$).

Des Weiteren wurde der Verzehr von rohen Muscheln oder Austern analysiert. Von den Teilnehmern der Studie gaben 374 an, nie rohe Muscheln oder Austern zu verzehren (9 % Anti-HEV-IgG-positiv), während 63 sie gelegentlich konsumierten (13 % Anti-HEV-IgG-positiv; $p = 0,491$). Selbst bei den Personen, die regelmäßig rohe Produkte verzehrten (mindestens 6 Mal pro Jahr: 20 %, 2/10), konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang mit einer erhöhten Seroprävalenz festgestellt werden.

2. Untersuchung kommerzieller Ostseemuscheln auf HEV:

Im Rahmen einer PCR-Analyse von 40 im Handel erhältlichen Mytilidae aus der Ostsee wurde keine Muschel per PCR positiv auf HEV-RNA getestet (0 %).

3. Experimentelle HEV-Exposition in lebenden Muscheln:

Im Expositionsversuch (Abbildung 1, Tabelle 2) wurden 50 lebende Mytilidae in ein Aquarium mit HEV-kontaminiertem Wasser gesetzt. In der Wasserprobe konnte HEV-RNA eine Stunde nach der Exposition nachgewiesen werden. Sieben Tage nach der Exposition wurden zehn geerntete Muscheln im Verdauungstrakt positiv auf HEV-RNA getestet, wobei eine von zehn

zusätzlich geernteten Muscheln 14 Tage nach der Exposition positiv getestet wurde (Tabelle 2). In Keimdrüsen oder Muskelgewebe wurde zu keinem Zeitpunkt HEV-RNA nachgewiesen. Auch mittels qualitativer PCR konnte nach 14 Tagen in keinem Gewebe HEV-RNA nachgewiesen werden. Die Wasser- und Muschelproben vor der Exposition waren alle PCR-negativ.

1.4 Diskussion

Die vorliegende Studie liefert wertvolle Erkenntnisse über die mögliche Rolle der Mytilidae-Muscheln in der Ostsee bei der Übertragung des Hepatitis-E-Virus (HEV). Die Ergebnisse zeigen, dass im Handel erhältliche Muscheln negativ auf HEV-RNA getestet wurden und experimentell exponierte Muscheln das Virus vorübergehend in ihrem Verdauungstrakt, nicht aber in Muskel- oder Keimdrüsengewebe trugen. Es wurden keine Anzeichen für eine HEV-Replikation beobachtet und das Virus war nicht länger als Tag 14 nach der Exposition mit HEV im Verdauungstrakt der Muscheln nachweisbar. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass Ostseemuscheln ein minimales Risiko der HEV-Übertragung auf den Verbraucher darstellen. Zudem wurde kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Verzehr von Miesmuscheln und der Anti-HEV-IgG-Seroprävalenz festgestellt, was die geringe Wahrscheinlichkeit unterstreicht, dass Miesmuscheln zur HEV-Exposition in Deutschland beitragen.

Diese Ergebnisse sind zwar beruhigend, doch weist die Studie Einschränkungen auf, die weitere Untersuchungen rechtfertigen. Eine wesentliche Einschränkung stellt die geringe Stichprobengröße der getesteten handelsüblichen Muscheln dar. Um das Risiko einer HEV-Übertragung vollständig auszuschließen, ist ein größerer Datensatz erforderlich, der Muscheln aus verschiedenen Regionen der Ostsee und anderen kommerziellen Quellen umfasst. Darüber hinaus sind die Ökologie und Epidemiologie des HEV in der Ostsee nach wie vor nur unzureichend bekannt. Um ein umfassendes Verständnis der HEV-Risiken in dieser Region zu erlangen, sind weitere Studien zur Erforschung der HEV-Kontaminationswege, der Umweltpersistenz und der Wechselwirkungen mit der Biologie der Muscheln erforderlich.

Eine weitere Einschränkung ergibt sich aus den Versuchsbedingungen: Zwar war beim dritten Wasseraustausch im Aquarium aufgrund der Nichtverfügbarkeit von Ostseewasser salzangereichertes Leitungswasser erforderlich, doch entspricht dieses möglicherweise nicht vollständig der natürlichen Umgebung, was die Dynamik der Virusausscheidung der Muscheln beeinflussen könnte. Außerdem konnte die genaue Herkunft der im Supermarkt gekauften Muscheln nicht bestätigt werden. Dies unterstreicht die Notwendigkeit einer verbesserten Rückverfolgbarkeit von Muschelprodukten, um potenzielle regionale Schwankungen der HEV-Prävalenz entlang der deutschen Küste zu ermitteln.

Trotz dieser Einschränkungen zeigt diese Studie einen deutlichen Unterschied zwischen OstseemuscheIn und zuvor veröffentlichten Daten zu MuscheIn aus anderen Regionen wie Spanien und Schottland, wo höhere Raten von HEV-Positivität gemeldet wurden. Diese Erkenntnisse könnten in zukünftige Risikobewertungen einfließen und zur Entwicklung regionaler Risikostratifizierungssysteme für die Sicherheit von MuscheIn beitragen. Es sind jedoch weitere Forschungsarbeiten erforderlich, um die Biologie, Ökologie und Epidemiologie von HEV in MuscheIn, insbesondere in der Ostsee, besser zu verstehen, damit fundierte Schlussfolgerungen über Risiken für die öffentliche Gesundheit gezogen werden können. Hierbei sollte man auch MuscheIn aus verschiedenen Regionen mit derselben Methodik untersuchen.

2 Manuskript mit Letter of Acceptance

Der folgende Abschnitt stellt die Originalarbeit dar.

RESEARCH

Open Access



Lack of evidence for HEV infection in Baltic sea mussels (*Mytilidae*)

M. Rastar-Tangeten^{1†}, M. Mader^{1,2†}, S. Schmiedel¹, S. Weidemann³, S. Chalissery¹, J. Kempinski¹, T. Staufenberg⁴, O. Mazaheri¹, J. M. Brandner⁵, M. M. Addo^{1,2}, C. Ackermann¹, A. Wolski¹, S. Reucher⁶, J. Wenzel⁷, M. Lütgehetmann^{2,6}, M. Schemmerer⁷, J. Schulze Zur Wiesch^{1,2} and S. Pischke^{1,2*}

Abstract

Background and aims Hepatitis E virus (HEV), similar to hepatitis A virus (HAV), has been linked to cases associated with mussel consumption, and several studies have detected HEV in commercially available mussels. While extensive data exists on HEV contamination in mussels from tropical regions, the Mediterranean Sea, and the North Sea, there is a lack of information regarding the potential risk posed by common mussels (*Mytilidae*) from the Baltic Sea. Furthermore, no experimental studies have investigated the ability of Baltic Sea mussels to be infected with HEV.

Material and methods Healthcare workers ($n = 447$) from the University Medical Center Hamburg Eppendorf, Germany, were surveyed regarding their mussel consumption habits and tested for anti-HEV IgG using a commercially available assay. Commercially sourced Baltic Sea *Mytilidae*, obtained from local retailers, were tested for HEV using a validated PCR method. Additionally, 50 live *Mytilidae* were experimentally spiked with HEV, followed by dissection and separate PCR analysis of the gastrointestinal tract, gonads, and muscle tissue.

Results There was no significant difference in the likelihood of anti-HEV IgG positivity between individuals who frequently consumed mussels and those who did not. None of the 40 commercial mussel samples tested were positive for HEV. HEV RNA was detected in the gastrointestinal tract of experimentally exposed *Mytilidae* specimen but not in their gonads or muscle tissue. It was observed that HEV RNA persisted in the gastrointestinal tract for more than 14 days but not beyond 21 days.

Discussion This study provides no evidence of HEV contamination in commercially sourced Baltic Sea mussels, as all tested samples were negative for HEV RNA. Moreover, no significant association was observed between mussel consumption and anti-HEV IgG positivity among healthcare workers. Experimental exposure revealed that HEV RNA can persist in the gastrointestinal tract of Baltic Sea mussels for over 16 days but less than 24 days, while no viral presence was detected in the gonad or muscle tissue. These findings suggest a minimal risk of HEV transmission through mussels from the Baltic Sea but highlight the need for further studies to understand their role in HEV ecology.

Keywords Hepatitis E, Mussels, HEV, Shellfish, *Mytilidae*

[†]M. Rastar-Tangeten, M. Mader contributed equally and share the first authorship.

This project formed part of the thesis of M. Rastar-Tangeten.

*Correspondence:
S. Pischke
s.pischke@uke.de

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s) 2025. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

Introduction

Hepatitis E virus (HEV) is a single-stranded RNA virus classified as *Paslahepevirus balayani* within the *Hepeviridae* family (International Committee on Taxonomy of Viruses: ICTV). In Europe, HEV genotype 3 is a zoonotic pathogen, primarily transmitted via undercooked pork, though shellfish have also been implicated as a potential source of infection, akin to hepatitis A virus (HAV). For instance, a 2009 cruise ship outbreak of HEV was linked to mussel consumption [1].

Shellfish, a broad category including mussels, snails, and crustaceans, are often exposed to viruses via contaminated coastal waters. Studies from European coastal regions have yielded varying results on the prevalence of HEV in mussels. While HEV RNA was not detected in mussels from Denmark or France [2, 3], other studies reported high prevalence rates, such as 85.4% in mussels from Scotland's North Sea coast and 24.4% in Spanish mussels [4, 5]. HEV RNA persistence and bioaccumulation experiments suggest variability in virus retention among shellfish species. Beyond Europe, HEV contamination has also been observed in mussels and clams from Japan and China, with genotype 4 HEV identified in Asia [6, 7].

Handling raw seafood may also present a significant exposure risk, as demonstrated by a study of seafood processing workers in China, where anti-HEV IgG prevalence was higher in individuals with direct contact with raw seafood [8]. Together, these findings underscore the potential role of shellfish as a vector for HEV transmission.

Despite these insights, the risk of HEV transmission via common mussels (*Mytilidae*) from the Baltic Sea remains unexplored. In Germany, Baltic Sea mussels are a popular local delicacy, but critical questions remain unanswered: How long can HEV persist in mussels from the Baltic Sea? Can the virus replicate within mussel tissues? Does this pose a risk for human infection? To address these gaps, we analyzed commercially sourced Baltic Sea mussels, conducted experimental HEV exposure studies, and compared anti-HEV seroprevalence among individuals with differing mussel consumption habits.

Materials and methods

Regulations

As the testing of hospital employees was anonymous and utilized residual material from routine blood samples, no formal ethics vote was required according to local regulations and Hamburg hospital law. However, the study was approved by the Hamburg Medical Association Ethics Committee (approval number PV7049) for the human component, including the questionnaire and testing. All participants provided informed consent before completing the questionnaire.

The study was also approved for safety by the Department of the Interior of the City of Hamburg (correspondence dated 27 August 2021).

Regarding the use of mussels, formal approval from an Animal Ethics Committee was not required, as mussels are invertebrates. It is generally assumed that invertebrates, such as mussels, lack consciousness, and therefore, no formal ethical review was necessary for their use in this study.

Evaluation of anti-HEV IgG positivity associated with mussel consumption

To evaluate the association between mussel consumption and anti-HEV IgG positivity, 447 employees of the University Medical Center Hamburg-Eppendorf were surveyed. A small subgroup of 10 subjects did not reply to this question and were thus not included in the analysis, leading to 437 analyzable questionnaires. Participants were asked how often they consumed cooked or fried seafood, raw shellfish (e.g., oysters), and raw fish (e.g., sushi) per year. Responses were categorized as “never,” “1–5 times per year,” “6–12 times per year,” or “more than 12 times per year.” This newly developed survey was conducted anonymously, with each questionnaire assigned a unique code linked to the corresponding serum sample for anti-HEV IgG testing. Testing was performed using the Wantai ELISA kit (Wantai, Beijing, China). The design ensured that individual results could not be retrospectively identified.

PCR testing of commercial mussels

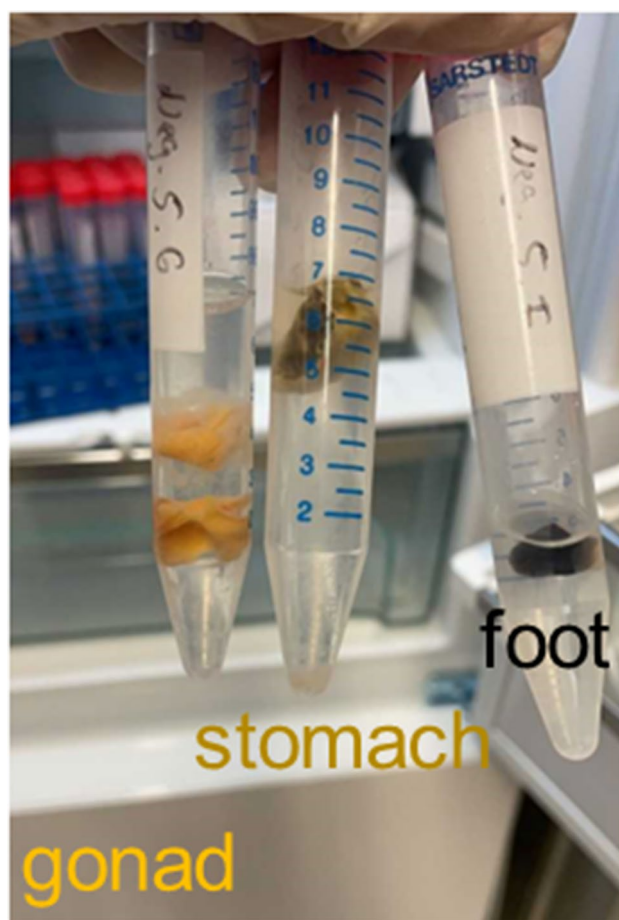
Forty commercially sold *Mytilidae* mussels were purchased and tested for HEV RNA within 48 h of purchase. While the precise catch location was unavailable, the mussels carried MSC (Marine Stewardship Council) certification. Samples were stored at 4 °C until testing using the “cobas HEV PCR” kit and the fully automated Roche Cobas 6800 system (Roche, Mannheim, Germany). The assay followed the manufacturer's instructions and was calibrated using the first International Standards for hepatitis E virus RNA for nucleic acid amplification technique (NAT)-based assays, ensuring reliable quantification and interlaboratory consistency.

Experimental HEV exposure of mussels

Fifty live *Mytilidae* mussels from the Baltic Sea were placed in a 40-liter aquarium containing 35 L of natural Baltic Sea water at room temperature. After confirming the absence of HEV RNA in water and mussels on day 3, highly concentrated HEV (genotypes 1 and 3; enveloped and non-enveloped particles) was added on day 4 (Table 1) to achieve a final concentration of 1.13×10^2 copies/mL. This dosage ensured that each mussel filtered over 3.5 million HEV RNA copies within 24 h.

Table 1 Calculation of HEV concentration in input sample volume (all samples have been added simultaneously)

HEV Source Sample No.	Origin	Input sample conc. [c/ml]	Input sample Volume [ml]	Output sample Volume [ml]	Output sample conc. [c/ml aquarium water]
1	human faeces (genotype 3)	6.1×10^5	0.500	35,000	8.8×10^0
2	Faeces from experimentally infected chimeric mice (genotype 1), proven infectivity	1.0×10^5	1.750	35,000	5.0×10^1
3	human faeces (genotype 3)	3.1×10^6	0.568	35,000	5.0×10^1
4	human plasma (genotype 3)	3.1×10^5	0.550	35,000	4.9×10^0

**Fig. 1** Dissection of mussels in stomach, gonad, and foot (muscle), before separate PCR testing

Aeration was maintained using air pumps, and mussels were fed weekly with approximately 1 g of yeast. To minimize external contamination, the aquarium was sterilized with UV irradiation between water changes. On day 8, the water was replaced with fresh seawater, and subsequent PCR testing was monitored for any increase in HEV RNA, which would indicate viral replication in the mussels.

Stage	Cycle Repeats	Acquisition	Temperature [°C]	Time [min:sec]
Reverse Transcription	Hold 1	-	55	20:00
Denaturation	Hold 1	-	95	02:00
Amplification	Cycling 45	-	95	00:15
		yes	55	00:45
		-	72	00:15

Harvesting, dissection, and PCR testing of exposed mussels

Mussels were harvested in five stages: day 10 ($n=10$), day 17 ($n=6$), day 24 ($n=6$), day 38 ($n=6$), and day 43 ($n=6$). Each mussel was dissected (Fig. 1) and all tissue samples were lysed (Precellys 24, Bertin, Rockville, US) using 2 ml tubes prefilled with ceramic beads (Precellys Lysing Kit) and 1 ml RNA and DNA free PCR grade water, and three tissues (digestive tract, gonad, and muscle) were separately tested for HEV RNA. The proof of concept data was generated by the diagnostic grade IVD assay using the Roche cobas system. Due to diagnostic work overload, this system was unavailable for a larger set of mussels and multiple time points for the follow-up experiments. Therefore the commercial Altona Diagnostics RealStar HEV PCR Kit 2.0 (Altona Diagnostics, Hamburg, Germany) using a similar PCR target region was used and performed in the research laboratory, according to the manufacturer's protocol.

Due to environmental degradation and turbidity, seawater was replaced with tap water mixed with 2.2% sea salt on day 38. The aquarium underwent UV sterilization before water replacement. On day 50, all mussels had perished, and the experiment concluded. Mussel stool samples collected from the aquarium floor were also tested for HEV RNA.

Quality control and PCR analysis

The Roche Cobas 6800 was used for initial HEV RNA testing, while the Altona Diagnostics PCR kit (Altona Diagnostics, Hamburg, Germany) was utilized for subsequent analyses. The primers and HEV-specific probe (JVHEVF 5'GGTGGTTTCTGGGGTGAC; JVHEVR 5'

AGGGGTTGGTTGGATGAA, TaqMan minor groove binding probe JVHEVPh 5'FAM-TGATTCTCAGCCC TTCGC-MGB) have been described previously [9]. The temperature profile and Utility Channel software settings for the Cobas included a predefined uracil-DNA N-glycosylase incubation step, a pre-PCR step (1 cycle: 55 °C for 120 s, 60 °C for 360 s, 65 °C for 240 s), 5 cycles of 95 °C for 5 s and 55 °C for 30 s (1st measurement at the end of each cycle) followed by 45 cycles of 91 °C for 5 s and 58 °C for 25 s (2nd measurement at the end of each cycle) and finished with a predefined cooling step.

The Roche Cobas Omni channel chemistry uses a variant of the Hawk Z05 polymerase that uses Mg²⁺ and can also perform the RT step. This eliminates the need for the classic 95°C activation/inactivation step.

The HEV concentration of input samples was verified with the RealStar HEV PCR-Kit 2.0. These assays were calibrated to the WHO HEV standard for consistency and accuracy across testing methods.

For feasibility reasons, the previously described Cobas 6800 was not available for all tests; consequently, these PCR tests were performed with the Altona Diagnostics PCR Kit. The concentration of each source HEV input sample was measured by the Realstar HEV PCR-Kit 2.0 (Altona Diagnostics, Hamburg, Germany; extraction by QuiaKit, Qiagen, Germany).

PCR Temperature Profile and Dye Acquisition, Altona Diagnostics PCR:

The procedures for nucleic acid extraction and polymerase chain reaction (PCR) were conducted per the manufacturers' instructions.

Results

To evaluate the risk of HEV transmission through Baltic Sea *Mytilidae*, three investigative approaches were employed:

1. Anti-HEV IgG seroprevalence concerning mussel consumption:

A cohort of 447 healthcare workers at the University Medical Center Hamburg-Eppendorf was assessed for anti-HEV IgG seroprevalence and surveyed about their dietary habits.

The question of whether and how often they eat mussels was answered by 437/447 probands. 190/437 individuals (43%) never ate cooked mussels, while 247/437 (57%) occasionally consumed them. The anti-HEV IgG seroprevalence did not significantly differ between non-consumers (7%, 14/190) and consumers (11%, 28/247; $p = 0.323$), including subgroups based on frequency of consumption in comparison to non-consumers (1–5 times/year:

13%, 19/148 vs. 7%, 14/190; $p = 0.104$; >5 times/year: 9%, 9/99 vs. 7%, 14/190; $p = 0.677$).

Raw mussel or oyster consumption was also examined. Among participants, 374 reported never consuming raw mussels or oysters (9% anti-HEV IgG positive), while 63 occasionally consumed them (13% anti-HEV IgG positive; $p = 0.491$). Even among those who ate raw products more frequently (≥ 6 times/year: 20%, 2/10), no statistically significant association with increased seroprevalence was observed.

2. Testing commercial Baltic Sea mussels for HEV:

PCR analysis of 40 commercially sold *Mytilidae* from the Baltic Sea detected no HEV RNA (0%).

3. Experimental HEV exposure in live mussels:

In the exposure experiFig. (Fig. 2; Table 2), 50 live *Mytilidae* were placed in an aquarium with HEV-contaminated water. HEV RNA was detected in the water sample one hour after exposure. Seven days post-exposure, 10/10 harvested mussels tested positive for HEV RNA in their digestive tracts, with one out of 10 additionally harvested mussels testing positive 14 days post-exposure (Table 2). No HEV RNA was detected in gonads or muscle tissue at any time. By qualitative PCR, no further HEV RNA was detected in any tissue beyond 14 days. Pre-exposure water and mussel samples were all PCR-negative.

These findings collectively suggest a minimal risk of HEV transmission from Baltic Sea mussels, even under experimental exposure conditions.

Discussion

This study provides valuable insights into the potential role of Baltic Sea *Mytilidae* mussels in transmitting hepatitis E virus (HEV). The findings demonstrate that commercially available mussels tested negative for HEV RNA, and experimentally exposed mussels carried the virus transiently in their digestive tract but not in muscle or gonad tissues. Importantly, no evidence of HEV replication was observed, and the virus was cleared from the mussels' digestive tract by day 24 post-exposure. These results suggest that Baltic Sea mussels pose a minimal risk of HEV transmission to consumers. Furthermore, no significant association was found between mussel consumption and anti-HEV IgG seroprevalence, underscoring the low likelihood of mussels contributing to HEV exposure in Germany.

While these findings are reassuring, the study has limitations that warrant further investigation. One significant

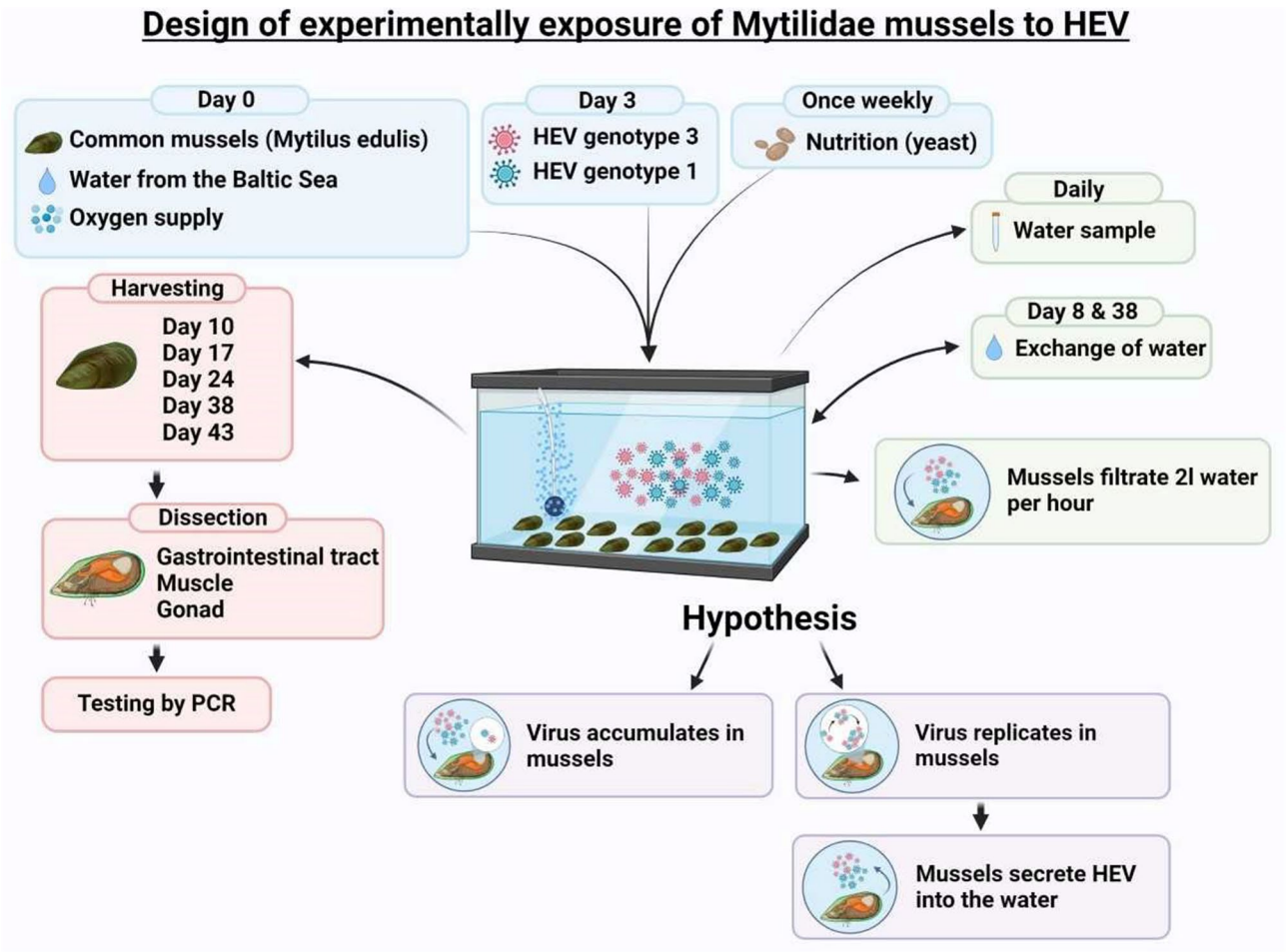


Fig. 2 Experimentally exposure of Mussels to HEV

Table 2 Results of HEV testing of mussel stomach and sequence of events

day	mussels taken	event	sample number of related harvesting									
			sample 1	sample 2	sample 3	sample 4	sample 5	sample 6	sample 7	sample 8	sample 9	sample 10
1		Start										
3	10	neg. sample	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗
3		HEV injection										
8		sea water replaced										
10	10	Harvesting 1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
17	6	Harvesting 2	✗	✗	✓	✗	✗	✗				
24	6	Harvesting 3	✗	✗	✗	✗	✗	✗				
38	6	Harvesting 4	✗	✗	✗	✗	✗	✗				
38		replaced by tap water										
43	6	Harvesting 5	✗	✗	✗	✗	✗	✗				

limitation is the small sample size of commercially available mussels tested. To entirely exclude the risk of HEV transmission, a larger dataset that includes mussels from different regions of the Baltic Sea and other commercial sources is necessary. Additionally, the ecology and epidemiology of HEV in the Baltic Sea remain poorly understood. Studies exploring HEV contamination pathways,

environmental persistence, and interactions with mussel biology would provide a more comprehensive understanding of HEV risks in this region. Another limitation relates to the experimental conditions. While salt-enriched tap water was necessary due to the unavailability of Baltic Sea water, it may not fully replicate the natural environment, potentially influencing

the mussels' viral clearance dynamics. Furthermore, the precise origins of the supermarket-purchased mussels could not be confirmed. This underscores the need for better traceability of mussel products to identify potential regional variations in HEV prevalence along the German coastline.

Despite these limitations, this study highlights a stark contrast between Baltic Sea mussels and those from other regions, such as Spain and Scotland, where higher rates of HEV positivity have been reported. These findings could inform future risk assessments and contribute to developing regional risk stratification systems for shellfish safety. However, additional research is needed to better understand the biology, ecology, and epidemiology of HEV in mussels, particularly in the context of the Baltic Sea, to ensure robust conclusions about public health risks.

Abbreviations

ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
HEV	Hepatitis-E-Virus
IgG	Immunoglobulin G
PCR	Polymerase chain reaction
qPCR	Quantitative PCR
RNA	Ribonucleic acid
UV	Ultraviolet
WHO	World Health Organization
MSC	Marine Stewardship Council

Acknowledgements

We acknowledge financial support from the Open Access Publication Fund of UKE - Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf.

Author contributions

Writing of the manuscript: S.P., M.R.T., S.C., M.M., O.M., B.B., M.M.A., A.W., J.W., M.L., M.S., J.S.Z.W. Questionnaire and serological testing of employees: S.P., M.M., J.K., A.W. PCR testing of commercial mussels: M.M., S.R., M.L., J.S.Z.W., S.P. Experiments with living mussels, including PCR testing and section: S.P., M.R.T., M.M., S.S., S.W., T.S., B.B., M.M.A., C.A., J.W., M.S., J.S.Z.W. Prepared Figs. 1 and 2: S.P., M.M. Prepared Table 1, and 2: S.P., M.R.T. All authors reviewed the manuscript.

Funding

Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL. Sven Pischke (and Marc Luetgehetmann) received funding from DZIF and Else Kroener. Julian Schulze zur Wiesch received research funding from the Deutsche Forschungsgesellschaft (DFG, German Research Foundation) CRC1648 project C4, and DZIF; Marylyn Martina Addo reported funding from the DZIFTTU 01709 and the DFG CRC1648328.

Data availability

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Declarations

Ethics approval and consent to participate

Since the testing of the employees was anonymous and residual material from a routine blood sample was used, no formal ethics vote was required

according to the local ethics committee and the Hamburg hospital law. A formal approval of his project from the Animal Ethics Committee was not required, as mussels are not vertebrates.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Author details

¹Department of Medicine, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

²German Center for Infection Research (DZIF), Hamburg-Lübeck-Borstel-Riems Partner Site, Hamburg, Germany

³Institute of Pathology, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

⁴Kieler Meeresfarm GMBH CO KG, Kiel, Germany

⁵Geschäftsbereich Sicherheit & Compliance, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

⁶Institute of Medical Microbiology, Virology and Hygiene, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

⁷National Consultant Laboratory for HAV and HEV, Institute of Clinical Microbiology and Hygiene, University Medical Center Regensburg, Regensburg, Germany

Received: 29 July 2024 / Accepted: 27 February 2025

Published online: 13 March 2025

References

1. Said B, Ijaz S, Kafatos G, Booth L, Thomas HL, Walsh A, et al. Hepatitis E outbreak on cruise ship. *Emerg Infect Dis*. 2009;15(11):1738–44.
2. Krog JS, Larsen LE, Schultz AC. Enteric Porcine viruses in farmed shellfish in Denmark. *Int J Food Microbiol*. 2014;186:105–9.
3. Grodzki M, Schaeffer J, Piquet JC, Le Saux JC, Cheve J, Ollivier J, et al. Bioaccumulation efficiency, tissue distribution, and environmental occurrence of hepatitis E virus in bivalve shellfish from France. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(14):4269–76.
4. Crossan C, Baker PJ, Craft J, Takeuchi Y, Dalton HR, Scobie L. Hepatitis E virus genotype 3 in shellfish, united Kingdom. *Emerg Infect Dis*. 2012;18(12):2085–7.
5. Mesquita JR, Oliveira D, Rivadulla E, Abreu-Silva J, Varela MF, Romalde JL, et al. Hepatitis E virus genotype 3 in mussels (*Mytilus galloprovincialis*), Spain. *Food Microbiol*. 2016;58:13–5.
6. Li TC, Miyamura T, Takeda N. Detection of hepatitis E virus RNA from the bivalve Yamato-Shijimi (*Corbicula japonica*) in Japan. *Am J Trop Med Hyg*. 2007;76(1):170–2.
7. Gao S, Li D, Zha E, Zhou T, Wang S, Yue X. Surveillance of hepatitis E virus contamination in shellfish in China. *Int J Environ Res Public Health*. 2015;12(2):2026–36.
8. Cui W, Sun Y, Xu A, Gao R, Gong L, Zhang L, et al. Hepatitis E Seroprevalence and related risk factors among seafood processing workers: a cross-sectional survey in Shandong Province, China. *Int J Infect Dis*. 2016;49:62–6.
9. Allweiss L, Gass S, Giersch K, Groth A, Kah J, Volz T, et al. Human liver chimeric mice as a new model of chronic hepatitis E virus infection and preclinical drug evaluation. *J Hepatol*. 2016;64(5):1033–40.

Publisher's note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

3 Zusammenfassung

Hintergrund und Ziele

Das Hepatitis-E-Virus (HEV), sowie Hepatitis-A-Virus (HAV), wurde mit Fällen assoziiert, die mit dem Verzehr von Miesmuscheln in Verbindung gebracht wurden. In mehreren Studien wurde HEV in handelsüblichen Muscheln nachgewiesen. Obwohl umfangreiche Daten über die HEV-Kontamination von Miesmuscheln aus tropischen Regionen, dem Mittelmeer und der Nordsee vorliegen, mangelt es an Informationen über das potenzielle Risiko, das von Miesmuscheln (Mytilidae) aus der Ostsee ausgeht. Darüber hinaus gibt es keine experimentellen Studien, in denen die Fähigkeit von Ostseemuscheln, sich mit HEV zu infizieren, untersucht wurde.

Material und Methoden

Im Rahmen einer empirischen Untersuchung wurden Mitarbeiter (n=447) des Universitätsklinikums Hamburg Eppendorf, Deutschland, zu ihren Muschelkonsumgewohnheiten befragt und mit einem handelsüblichen Assay auf Anti-HEV-IgG getestet. Im Handel erhältliche Ostseemuscheln (Mytilidae), die von lokalen Einzelhändlern bezogen wurden, wurden mit einer validierten PCR-Methode auf HEV getestet. Zusätzlich wurden 50 lebende Mytilidae versuchsweise mit HEV versetzt, anschließend seziert und der Gastrointestinaltrakt, die Gonaden und das Muskelgewebe separat mittels PCR analysiert.

Ergebnisse

Es gab keinen signifikanten Unterschied in der Wahrscheinlichkeit einer Anti-HEV-IgG-Positivität zwischen Personen, die häufig Muscheln verzehrten, und solchen, die dies nicht taten. Keiner der 40 untersuchten Muschelproben war positiv auf HEV. HEV-RNA wurde im Magen-Darm-Trakt von experimentell exponierten Mytilidae-Proben nachgewiesen, nicht jedoch in deren Gonaden oder Muskelgewebe. Es wurde beobachtet, dass die HEV-RNA im Gastrointestinaltrakt bis zu 14 Tage, aber nicht länger als 21 Tage persistierte.

Diskussion

Die vorliegende Studie erbringt keinen Nachweis für eine HEV-Kontamination von kommerziell erworbenen Ostseemuscheln, da sämtliche untersuchten Proben negativ auf HEV-RNA waren. Darüber hinaus wurde kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Verzehr von Miesmuscheln und einer Anti-HEV-IgG-Positivität bei Beschäftigten im Gesundheitswesen festgestellt. Die experimentelle Exposition ergab, dass HEV-RNA im Magen-Darm-Trakt von Ostseemuscheln bis zu 14Tage überdauern kann, während in den Keimdrüsen oder im Muskelgewebe kein Virus nachgewiesen wurde. Diese Ergebnisse weisen auf ein minimales Risiko einer HEV-Übertragung durch Ostseemuscheln hin, machen jedoch deutlich, dass weitere Studien erforderlich sind, um ihre Rolle in der HEV-Ökologie zu verstehen.

4 Literaturverzeichnis

1. Said B, Ijaz S, Kafatos G, Booth L, Thomas HL, Walsh A, et al. Hepatitis E outbreak on cruise ship. *Emerg Infect Dis*. 2009;15(11):1738-44.
2. Krog JS, Larsen LE, Schultz AC. Enteric porcine viruses in farmed shellfish in Denmark. *Int J Food Microbiol*. 2014;186:105-9.
3. Grodzki M, Schaeffer J, Piquet JC, Le Saux JC, Cheve J, Ollivier J, et al. Bioaccumulation efficiency, tissue distribution, and environmental occurrence of hepatitis E virus in bivalve shellfish from France. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80(14):4269-76.
4. Crossan C, Baker PJ, Craft J, Takeuchi Y, Dalton HR, Scobie L. Hepatitis E virus genotype 3 in shellfish, United Kingdom. *Emerg Infect Dis*. 2012;18(12):2085-7.
5. Mesquita JR, Oliveira D, Rivadulla E, Abreu-Silva J, Varela MF, Romalde JL, et al. Hepatitis E virus genotype 3 in mussels (*Mytilus galloprovincialis*), Spain. *Food Microbiol*. 2016;58:13-5.
6. Li TC, Miyamura T, Takeda N. Detection of hepatitis E virus RNA from the bivalve Yamato-Shijimi (*Corbicula japonica*) in Japan. *Am J Trop Med Hyg*. 2007;76(1):170-2.
7. Gao S, Li D, Zha E, Zhou T, Wang S, Yue X. Surveillance of hepatitis E virus contamination in shellfish in China. *Int J Environ Res Public Health*. 2015;12(2):2026-36.
8. Cui W, Sun Y, Xu A, Gao R, Gong L, Zhang L, et al. Hepatitis E seroprevalence and related risk factors among seafood processing workers: a cross-sectional survey in Shandong Province, China. *Int J Infect Dis*. 2016;49:62-6.
9. Allweiss L, Gass S, Giersch K, Groth A, Kah J, Volz T, et al. Human liver chimeric mice as a new model of chronic hepatitis E virus infection and preclinical drug evaluation. *J Hepatol*. 2016;64(5):1033-40.

5 Abkürzungsverzeichnis

ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
HEV	Hepatitis-E-Virus
IgG	Immunoglobulin G
PCR	polymerase chain reaction
qPCR	quantitative PCR
RNA	Ribonucleic acid
UV	Ultraviolet
WHO	World Health Organization
MSC	Marine Stewardship Council

6 Abbildungsverzeichnis

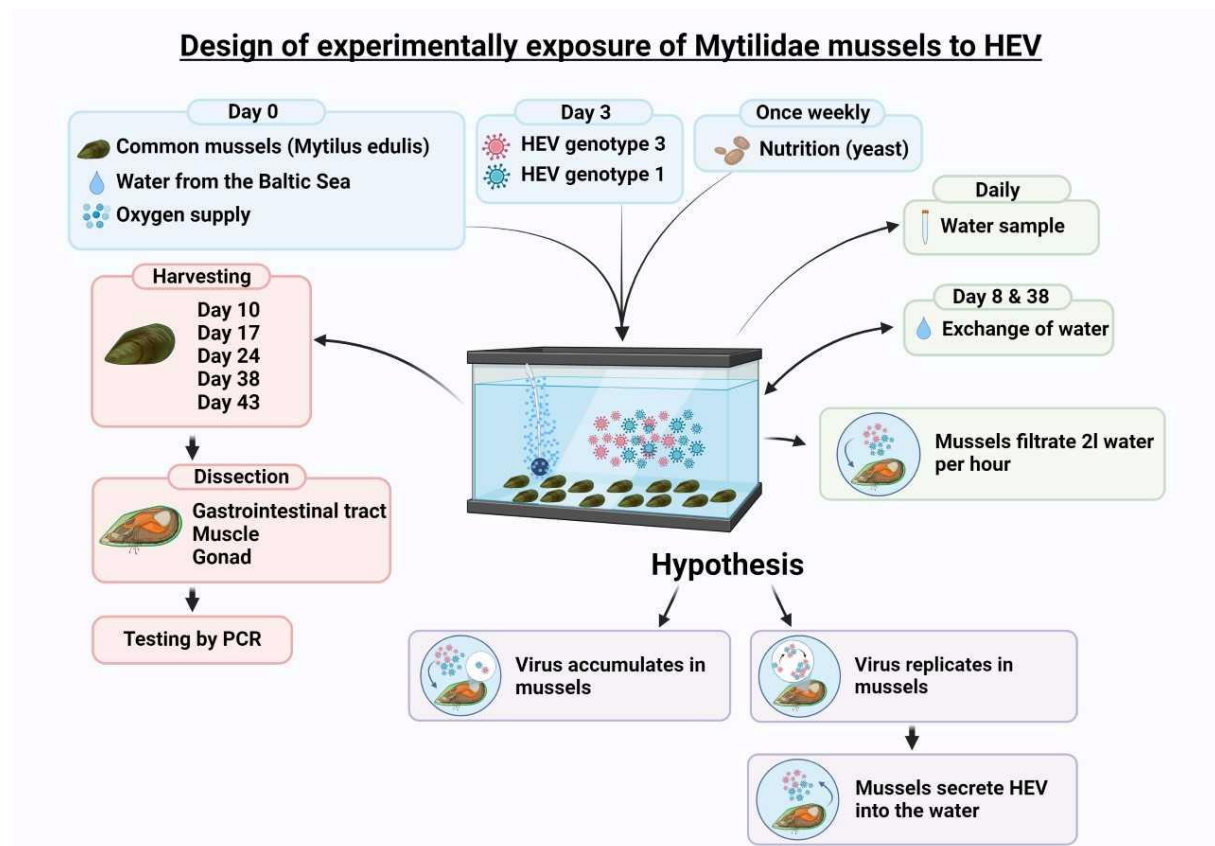


Abbildung 1: Experimentelle Exposition von Muscheln gegenüber HEV



Abbildung 2: Sektion von Muscheln in Keimdrüse Magen, und Fuß (Muskel) vor dem separaten PCR-Test

7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 - Berechnung der HEV-Konzentration im Eingangsprobenvolumen (alle Proben wurden gleichzeitig zugegeben)

HEV-Quelle, Probenr.	Herkunft	Eingangsprobenkonzentration [c/ml]	Eingangsprobe Volumen [ml]	Ausgabeprobe Volumen [ml]	Ausgangsprobenkonzentration [c/ml Aquarienwasser]
1	menschlicher Kot (genotype 3)	6.1×10^5	0.500	35000	8.8×10^0
2	Kot von experimentell infizierten chimären Mäusen (Genotyp 1), nachgewiesene Infektiosität	1.0×10^5	1.750	35000	5.0×10^1
3	menschlicher Kot (genotype 3)	3.1×10^6	0.568	35000	5.0×10^1
4	menschliches Plasma (genotype 3)	3.1×10^5	0.550	35000	4.9×10^0

Tabelle 2 - Ergebnisse der HEV-Untersuchung von Muschelmägen und Ablauf der Ereignisse

day	mussels taken	event	sample number of related harvesting									
			sample 1	sample 2	sample 3	sample 4	sample 5	sample 6	sample 7	sample 8	sample 9	sample 10
1		Start										
3	10	neg. sample	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗
3		HEV injection										
8		sea water replaced										
10	10	Harvesting 1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
17	6	Harvesting 2	✗	✗	✓	✗	✗	✗				
24	6	Harvesting 3	✗	✗	✗	✗	✗	✗				
38	6	Harvesting 4	✗	✗	✗	✗	✗	✗				
38		replaced by tap water										
43	6	Harvesting 5	✗	✗	✗	✗	✗	✗				

8 Erklärung des Eigenanteils

- Zusammenstellen der Kohorten
- Untersuchung der Teilnehmer und Datenerhebung
- Probenentnahme
- Literaturrecherche
- Erstellung einer ersten Version des Manuskriptes mit Tabellen und Abbildungen, sowie weitere Bearbeitungen und Ergänzungen
- Erstellung einer deutschsprachigen Zusammenfassung der Publikation

9 Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe, insbesondere ohne entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- und Beratungsdiensten, verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe. Das gilt insbesondere auch für alle Informationen aus Internetquellen.

Soweit beim Verfassen der Dissertation KI-basierte Tools („Chatbots“) verwendet wurden, versichere ich ausdrücklich, den daraus generierten Anteil deutlich kenntlich gemacht zu haben. Die „Stellungnahme des Präsidiums der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) zum Einfluss generativer Modelle für die Text- und Bilderstellung auf die Wissenschaften und das Förderhandeln der DFG“ aus September 2023 wurde dabei beachtet.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich damit einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Datum

Unterschrift

10 Danksagung

Mein tiefster Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Sven Pischke, für seine wertvolle Unterstützung, seine fachliche Expertise und seine unermüdliche Begleitung auf meinem wissenschaftlichen Weg. Seine inspirierenden Anregungen, sein Vertrauen in meine Arbeit und seine motivierende Art haben diese Dissertation maßgeblich geprägt. Ohne seine konstruktiven Ratschläge und sein stetiges Engagement wäre dieser Weg weitaus steiniger gewesen.

Ebenso möchte ich meinem geliebten Ehemann Mathias Tangeten, von Herzen danken. Seine unerschütterliche Geduld, seine aufmunternden Worte und sein beständiger Glaube an mich haben mir die Kraft gegeben, auch in schwierigen Momenten nicht aufzugeben. Er war mein größter Unterstützer und mein stetiger Antrieb. Ohne ihn wäre diese Reise nicht dieselbe gewesen.

Diese Dissertation ist nicht nur das Ergebnis meiner eigenen Arbeit, sondern auch ein Spiegel der Unterstützung, die ich von so vielen wunderbaren Menschen erfahren durfte. Ihnen allen gilt mein tiefster Dank.