



AKADEMIA KALISKA

im. Prezydenta Stanisława Wojciechowskiego w Kaliszu
WYDZIAŁ NAUK O ZDROWIU

Kalisz, dn. 6.12.2022r.

Recenzja rozprawy doktorskiej magistra Mulugety Aseratie Wondim

Tytuł rozprawy: „Detection and Molecular characterization of *Babesia spp.* and Tick-Borne Encephalitis Virus in ticks from Poland and Ethiopia”

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Anna Moniuszko-Malinowska

Promotor: Dr hab. n. med. Justyna Dunaj-Małyszko, prof. UM

Kierownik Katedry: Prof. dr hab. n. med. Sławomir Pancewicz

Uwagi wstępne

Przedstawiona praca doktorska pt. „Detection and Molecular characterization of *Babesia spp.* and Tick-Borne Encephalitis Virus in ticks from Poland and Ethiopia” została przygotowana przez magistra Mulugete Aseratie Wondim pod opieką naukową prof. dr hab. n. med. Anny Moniuszko-Malinowskiej oraz dr hab. n. med. Justyny Dunaj-Małyszko, prof. UMB z Kliniki Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji.

Rozprawa doktorska została sfinansowana w ramach środków z programu badań i innowacji Horizon 2020 Unii Europejskiej w ramach umowy o dofinansowanie „Maria Skłodowska-Curie” nr 754432 oraz Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego Rzeczypospolitej Polskiej, ze środków finansowych na naukę w latach 2018-2023 przyznanych za realizację międzynarodowego projektu współfinansowanego. Uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku w nr/APK.002.296.2020 na pobranie i wykorzystanie kleszczy jako źródła próbek do badań z dwóch krajów - Polski i Etiopii.

Wieloletnie badania i obserwacje w sposób bezsporny wskazują na endemiczne występowanie w Polsce i na Świecie niektórych chorób przenoszonych przez kleszcze. Choroby te stanowią poważny problem epidemiologiczny, szczególnie w środowisku eksploatacji lasu, gdzie często mają charakter chorób zawodowych pracowników leśnictwa. Zwłaszcza borelioza i kleszczowe zapalenie mózgu u pracowników leśnictwa są często chorobami zawodowymi. Kolejnym niebezpiecznym czynnikiem przenoszonym przez kleszcze jest wirus kleszczowego zapalenia mózgu (KZM), z angielskiego *tick-borne encephalitis*- TBE. Choroba, którą wywołuje wirus kleszczowego zapalenia mózgu (TBEV) należący do rodziny *Flaviviridae* jest zakażeniem ośrodkowego układu nerwowego o przebiegu dwufazowym. W pierwszej fazie dominują takie objawy jak wysoka temperatura, bóle głowy, bóle i sztywność karku, nudności i wymioty. Objawy te zwykle ustępują samoistnie, natomiast u części chorych następuje druga faza choroby z cięższymi objawami tj. porażenia, śpiączka. Według literatury na terenie Polski istnieją liczne ogniska endemiczne KZM. Babeszjoza jest chorobą wywoływaną przez pierwotniaki *Babesia divergens* i *Babesia microti*. Inwazje tymi pierwotniakami charakteryzują się objawami przypominającymi grypę (bóle głowy, gorączka, dreszcze) do których dołącza się hemoglobinuria (ciemny mocz), powiększenie wątroby i śledziony. W Europie notowano zakażenia głównie *B. divergens*, natomiast *B. microti* jest notowana przede wszystkim w USA, ale badania kleszczy wykazały, że *B. microti* jest również zagrożeniem dla ludzi w Europie.

Ocena formalna

Praca doktorska porusza problematykę związaną z zoonozami o etiologii kleszczowej, a w szczególności z występowaniem dwóch jednostek chorobowych, Babeszjozy i Kleszczowego Zapalenia Mózgu w Polsce i Etiopii. Zarówno babeszjoza, jak i kleszczowe zapalenie mózgu są przenoszone głównie przez ukąszenie przez kleszcza. W Polsce blisko połowa przypadków KZM odnotowano w województwie podlaskim w ciągu ostatnich 20 lat. Z kolei *Babesia spp.* w Afryce ogranicza się głównie do zwierząt, jednak istnieją przypadki kliniczne z istotnymi dowodami babeszjozy. Etiopia słynie z dużej częstości występowania malarii, której przebieg jest podobny do babeszjozy. Również ta zależność jest obszarem badawczym wyodrębnionym przez Doktoranta.

Rozprawa doktorska magistra Mulugety Aseratie Wondim oparta jest na wieloośrodkowym badaniu kleszczy w kierunku KZM i babeszjozy w Polsce i Etiopii. Należy podkreślić, że badania zostały przeprowadzone pod kierunkiem Pani Profesor Anny Moniuszko-Malinowskiej (pierwszego promotora), Pani Profesor UMB Justyny Dunaj (drugiego

promotora), w Katedrze kierowanej przez Pana Profesora Sławomira Pancewicza, zespół aktywnych i cieszących się uznaniem naukowców i klinicystów w kraju i na świecie.

Rozprawa doktorska liczy 99 stron i ma układ klasyczny dla prac doktorskich w formie monografii naukowej. Zawiera spis treści, wykaz skrótów stosowanych, wprowadzenie, cele pracy, materiał i metody wyniki, dyskusję, wnioski końcowe, opinia komisji bioetycznej Nr/. APK.002.296.2020., piśmiennictwo, streszczenie. Rozprawa doktorska została oparta na 177 pozycjach naukowych. Należy podkreślić, że cała rozprawa została napisana w języku angielskim, natomiast badanie doktoranta było częścią projektu w ramach programu Horizon2020 i środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego na projekty międzynarodowe oraz w ramach grantu Marii Skłodowskiej-Curie No 754432.

Rozprawa pod względem redakcyjnym nie budzi zastrzeżeń, a proporcje pomiędzy poszczególnymi częściami zostały zachowane.

Wprowadzenie

W części Wprowadzenie, Doktorant w spójny sposób przedstawia aktualny stan wiedzy dotyczący ekologii i biologii kleszczy oraz epidemiologii babeszjozy w Polsce, Europie i Afryce, a także Kleszczowego Zapalenia Mózgu w Polsce i Europie.

Kolejną częścią pracy doktorskiej jest Cel Pracy, który został sformułowany w sposób logiczny. Tłem badawczym dotyczącym szczegółowych celów pracy był fakt, że Babeszjoza to pojawiająca się choroba, która ma znaczenie zarówno dla ludzi, jak i dla zwierząt gospodarskich. Należy wiedzieć, że w USA i Europie u ludzi ma to większe znaczenie niż w Afryce. W związku z tym, doktorant wyodrębnia jako nadrzędny problem badawczy zbadanie podobieństw i różnic między *Babesia spp.* z Polski i Etiopii. Ponadto analizy dotyczące sekwencjonowania mają posłużyć jako dane wejściowe do dalszych badań nad tym, czy *Babesia spp.* w tych dwóch obszarach jest poważnym zagrożeniem dla zdrowia ludzi. Natomiast w Etiopii może się to stać początkiem nowej problematyki badawczej związanej z chorobami o podobnych objawach, jak malaria. Z kolei problematyka badawcza związana z KZM dotyczy ciągle aktualnego problemu dotyczącego kontrolowania tej jednostki chorobowej co niestety jest coraz trudniejsze ze względu na rosnącą liczbę przypadków. Sytuacja ta jest podyktowana faktem, pojawiających się nowych wariantów i transgranicznej migracji podtypów wirusa. W związku z powyższą problematyką badawczą Doktorant formułuje szczegółowe cele pracy, które dotyczą identyfikacji i charakterystyki *Babesia spp.* i KZM przy użyciu testów PCR w kleszczach pobranych w Polsce i Etiopii oraz zbadanie

rozpowszechnienia i zmienności szczepów *Babesia spp.* z Polski i Etiopii; a także analizę potencjalnych predyktorów (temperatura, wilgotność, stadium rozwojowe, gatunek) wykrywania patogenów przenoszonych przez kleszcze, pobranych w Polsce i Etiopii. Ten rozdział został w sposób logiczny odpowiednio przedstawiony.

Materiał i metody

Materiał i metodyka prowadzonych badań zostały przez doktoranta szczegółowo omówione w rozdziale trzecim. Kleszcze wykorzystane do badań zostały zebrane przy użyciu metody „białej flagi” z leśnego parku krajobrazowego w Knyszynie w regionie północno-wschodniej Polski. Natomiast próby kleszczy z Etiopii, pobierano z kilku stanowisk i były to okręgi Dembidollo, Gambella, Bishoftu i Boset.

Metody badawcze, które zostały użyte w pracy zostały odpowiednio merytorycznie dobrane zgodnie z aktualną wiedzą naukową z tego zakresu.

Metody statystyczne stosowane przez Doktoranta są poprawne i pozwalają na prawidłową analizę otrzymanych wyników.

Wyniki

W rozdziale czwartym w sposób rzeczowy Doktorant opisuje uzyskane wyniki. Dane tabelaryczne oraz ryciny pozwalają na prawidłowe odczytanie wyników. Tabele i ryciny rzetelnie odzwierciedlają uzyskane rezultaty.

Dyskusja

W rozdziale piątym Doktorant prowadzi dyskusję swoich wyników z danymi źródłowymi. Bardzo trafnie porusza kwestie związane z występowaniem babeszjozy i KZM w poszczególnych regionach w Polsce, Europie, czy nawet Stanach Zjednoczonych. Dyskusja jest napisana poprawnie, natomiast wyniki zostały sprawnie omówione w odniesieniu do literatury światowej, co potwierdza dobre przygotowanie doktoranta do badań naukowych. Dyskusja prowadzona jest prawidłowo na wysokim poziomie merytorycznym, co uzasadnia późniejsze wnioski z badań. Doktorant przedstawia również ograniczenia badania, co świadczy o jego dojrzałości naukowej.

Wnioski

W rozdziale szóstym Doktorant przedstawia trafnie sformułowane wnioski, które odzwierciedlają przeprowadzone badania w rozprawie doktorskiej.

Po zapoznaniu się z pracą doktorską Mulugety Aseratie Wondim należy odnotować kilka faktów i szerzej je skomentować.

Lektura pracy nasuwa pewne uwagi:

1. W części Wprowadzenie Doktorant w spójny sposób przedstawia aktualny stan wiedzy dotyczący ekologii i biologii kleszczy oraz epidemiologii babeszjozy w Polsce, Europie i Afryce, a także Kleszczowego Zapalenia Mózgu w Polsce i Europie.
Zastanawia fakt dlaczego doktorant nie naświetla stanu wiedzy na podjęty temat związany z KZM w Afryce? Czy brakuje danych na ten temat w literaturze światowej lub lokalnej?
2. Doktorant niezbyt jasno przedstawia okres kolekcjonowania prób kleszczy. Proszę o doprecyzowanie. Czy był to okres od września do listopada 2020 i maj 2021r.? Proszę o wyjaśnienie dlaczego pobierano próby również w maju 2021?
3. Próby kleszczy pobierano z kilku stanowisk w Etiopii i były to okręgi Dembidollo, Gambella, Bishoftu i Boset. Pojawia się również w tym miejscu pewna niespójność dlaczego doktorant zdecydował się na pobieranie prób kleszczy z kilku odległych od siebie regionów? Jakże to były odległości. Niestety Figura nr 14 jest niewyraźna i nie jest możliwe odczytanie skali. W przypadku polskich próbek był to jeden punkt badawczy w jednym regionie Polski. Czy nie można było wytypować również jednego punktu w Etiopii? Brakuje również informacji w jakim okresie pobierano próbki kleszczy w Etiopii, jak długo trwało zbieranie kolekcji i jakie były warunki klimatyczne? Czy podobnie jak w przypadku próbek z Polski rejestrowano temperaturę, wilgotność i opady w czasie zbiorów? Czy również metodą „białej flagi”? Brakuje również danych na temat postępowania podczas kolekcjonowania kleszczy. Czy przyjęto taką samą procedurę jak w przypadku kleszczy zbieranych w Polsce?
4. Brakuje danych na temat miejsca przeprowadzania morfologicznej identyfikacji kleszczy w Polsce i Etiopii. W jaki sposób postępowano z próbkami kleszczy pobranych w Etiopii zanim zostały dostarczone do laboratorium?
5. Brakuje odnośników źródłowych w metodzie izolacji DNA (podrozdział 3.2) i RNA (podrozdział 3.3).
6. Gdzie, w jakim laboratorium doktorant prowadził analizy przedstawione w pracy doktorskiej? Czy była to Klinika Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji, w UM w Białymstoku? Brakuje takiej informacji w pracy.

7. Zastanawia fakt dlaczego użyto do badań tak różną liczbę kleszczy z Polski (724) i Etiopii (268)? Proszę o ustosunkowanie się do tej uwagi.
8. W rozdziale piątym Doktorant prowadzi dyskusję swoich wyników z danymi źródłowymi. Bardzo trafnie porusza kwestie związane z występowaniem babeszjozy i KZM w poszczególnych regionach Polsce, Europie, czy nawet Stanach Zjednoczonych. Natomiast zbyt ubogo odnosi się Doktorant do danych źródłowych w Etiopii, czy nawet Afryce. Proszę o wyjaśnienie.

Do niewątpliwych osiągnięć Doktoranta należy podjęcie próby porównania problemu wybranych jednostek odkleszczowych w Polsce i Etiopii. Ponadto bardzo zasadnym wydaje się też być zainteresowanie Doktoranta innowacyjnym ujęciem problematyki badawczej związanej z chorobami o podobnych objawach, jak malaria.

W tym miejscu, chciałabym zapytać Doktoranta, jakie są dalsze Jego plany związane z podjętą problematyką chorób o podobnych objawach, jak malaria w Etiopii? Czy będzie to miało znaczenie w Etiopii: dla zdrowia publicznego populacji, dla lekarzy specjalistów, czy też zachowań zdrowotnych populacji.

Uwagi końcowe

W podsumowaniu chciałabym stwierdzić, że pozytywnie oceniam wartość naukową przedstawionej pracy doktorskiej pod tytułem: „Detection and Molecular characterization of *Babesia spp.* and Tick-Borne Encephalitis Virus in ticks from Poland and Ethiopia”, a wysunięte w recenzji uwagi w niczym nie umniejszają tej oceny. Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (tj. Dz. U. z 2022 r. poz. 574 z późn. zm.). Wnoszę do Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o dopuszczenie magistra Mulugety Aseratie Wondim do dalszych etapów przewodu doktorskiego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauk medycznych.

Dr hab. n. o zdr. Wioletta Żukiewicz-Sobczak, prof. Akademii Kaliskiej

Wioletta Żukiewicz-Sobczak



Calisia University - Kalisz, Poland

Faculty of Health Sciences

Kalisz, dn. 6.12.2022r.

Review of the PhD thesis of Mulugeta Aseratie Wondim, M.Sc.

PhD Thesis Title: „Detection and Molecular characterization of *Babesia spp.* and Tick-Borne Encephalitis Virus in ticks from Poland and Ethiopia”

Supervisor: Professor Anna Moniuszko-Malinowska (MD, PhD)

Supervisor: Associate Professor Justyna Dunaj-Małyszko (PhD)

Head of the Department: Professor Sławomir Pancewicz (MD, PhD)

Introductory remarks

The submitted dissertation entitled. „Detection and Molecular characterization of *Babesia spp.* and Tick-Borne Encephalitis Virus in ticks from Poland and Ethiopia” was prepared by Mulugeta Aseratie Wondim M.Sc, under the scientific supervision of Prof. Anna Moniuszko-Malinowska, M.D., and Justyna Dunaj-Malyszko, M.D., Prof. UMB, from the Department of Infectious Diseases and Neuroinfection.

The dissertation was financed by funds from the Horizon 2020 research and innovation program of the European Union under the grant agreement "Maria Skłodowska-Curie" No. 754432 and the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Poland, from the 2018-2023 science funding awarded for the implementation of the international co-funded project. Approval was obtained from the Bioethics Committee of the Medical University of Białystok

nr/APK.002.296.2020 to collect and use ticks as a source of research samples from two countries - Poland and Ethiopia.

Many years of research and observations indisputably indicate that some tick-borne diseases are endemic in Poland and the world. These diseases are a serious epidemiological problem, especially in the environment of forest operations, where they often have the character of occupational diseases of forestry workers. In particular, Lyme disease and Tick-Borne Encephalitis in forestry workers are often occupational diseases. Another dangerous agent transmitted by ticks is the Tick-Borne Encephalitis (TBE) virus. The disease, which is caused by the Tick-Borne Encephalitis Virus (TBEV) belonging to the *Flaviviridae* family, is a biphasic central nervous system infection. The first phase is dominated by symptoms such as high temperature, headache, neck pain and stiffness, nausea and vomiting. These symptoms usually resolve spontaneously, while some patients develop a second phase of the disease with more severe symptoms, i.e. paralysis, coma. According to the literature, there are numerous endemic outbreaks of TBE in Poland. Babesiosis is a disease caused by the protozoan parasites *Babesia divergens* and *Babesia microti*. Infections with these protozoa are characterized by flu-like symptoms (headache, fever, chills) accompanied by hemoglobinuria (dark urine), liver and spleen enlargement. In Europe, infections have been recorded mainly with *B. divergens*, while *B. microti* is recorded primarily in the US. However, tick studies have shown that *B. microti* is also a threat to humans in Europe.

Formal evaluation

The dissertation addresses issues related to zoonoses of tick etiology, particularly the incidence of two diseases entities, Babesiosis and Tick-Borne Encephalitis in Poland and Ethiopia. Both Babesiosis and Tick-Borne Encephalitis are transmitted mainly by a tick bite. In Poland, close to half of the cases of TBE have been reported in Podlaskie Voivodeship over the past 20 years. *Babesia spp.* in Africa, on the other hand, is mainly limited to animals, but there are clinical cases with significant evidence of Babesiosis. Ethiopia is famous for its high incidence of Malaria, the course of which is similar to Babesiosis. Also, this relationship is a research area identified by the PhD student.

Mulugeta Aseratie Wondim's master's dissertation is based on a multi-center study of ticks for TBE and Babesiosis in Poland and Ethiopia. It should be noted that the research was conducted under the guidance of Professor Anna Moniuszko-Malinowska (first supervisor), UMB Professor Justyna Dunaj-Małyszko (second supervisor), in the Department headed by Professor

Slawomir Pancewicz, a team of active and nationally and internationally recognized scientists and clinicians.

The dissertation runs to 99 pages and has a layout that is classic for doctoral dissertations in the form of a scientific monograph. Includes a table of contents, list of abbreviations used, introduction, objectives of the work, material and methods results, discussion, final conclusions, bioethics committee opinion No/. APK.002.296.2020, references and an abstract. The dissertation was based on 177 scientific references. It should be noted that the entire dissertation was written in English, while the PhD student's research was part of a project under Horizon2020 and funds from the Ministry of Science and Higher Education for international projects, as well as under Marie Skłodowska-Curie Grant No. 754432.

Editorially, the dissertation is not objectionable, and the proportions between the different parts are properly maintained.

Introduction

In the Introduction section, the PhD student coherently presents the current state of knowledge regarding tick ecology and biology and the epidemiology of Babesiosis in Poland, Europe and Africa, as well as Tick-Borne Encephalitis in Poland and Europe.

Another part of the dissertation is the Aim of the study, which was formulated in a logical manner. The research background on the specific objectives of the study was that Babesiosis is an emerging disease that is relevant to both humans and livestock. It is important to know that the incidence in humans in the U.S. and Europe is more significant than in Africa. Accordingly, the PhD student singles out as an overarching research problem the investigation of similarities and differences between *Babesia spp.* from Poland and Ethiopia. In addition, the sequencing analyses are expected to serve as input for further studies on whether *Babesia spp.* in these two areas is a serious threat to human health. In Ethiopia, on the other hand, this could be the beginning of a new research problem related to diseases with similar symptoms to Malaria. The research issue related to the TBE concerns the ever-present problem of controlling this disease entity, which is unfortunately becoming increasingly difficult due to the increasing number of cases. This situation is dictated by the fact that new variants emerge and different virus subtypes are subject to cross-border migration. In relation to the above research problem, the PhD student formulates the specific objectives of the work, which are to identify and characterize *Babesia spp.* and TBE using PCR assays in ticks collected in Poland and Ethiopia, and to investigate the prevalence and variability of *Babesia spp.* strains from Poland and Ethiopia; and to analyze

potential predictors (temperature, humidity, developmental stage, species) of detection of tick-borne pathogens collected in Poland and Ethiopia. This section is logically presented.

Material and methods

The material and methods of the research conducted were discussed in detail by the PhD student in Chapter Three. The ticks used in the study were collected using the "white flag" method from a forest scenic park in Knyszyn in the northeastern region of Poland. Ticks from Ethiopia, on the other hand, were sampled from several sites and included Dembidollo, Gambella, Bishoftu and Boset counties.

The research methods that were used in the work were appropriately selected in accordance with current scientific knowledge in the field.

The statistical methods used by the PhD student are correct and allow for the correct analysis of the results obtained.

Results

In the fourth chapter, the PhD student describes the obtained results in a factual manner. The tabular data and figures allow you to read the results correctly. The tables and figures fairly reflect the results obtained.

Discussion

In chapter five, the PhD student conducts a discussion of his results with the source data. He very pertinently addresses issues related to the incidence of Babesiosis and TBE in particular regions in Poland, Europe, or even the United States. The discussion is written correctly. The results were efficiently discussed with reference to the world literature, which confirms that the PhD student is well prepared for scientific research. The discussion is properly conducted at a high level of content, which justifies the subsequent research conclusions. The PhD student also presents the limitations of the study, which shows his scientific maturity.

Conclusion

In chapter six, the PhD student presents aptly formulated conclusions that reflect the research conducted in the dissertation.

After reviewing Mulugeta Aseratie Wondim's dissertation, it is important to note a few facts and comment on them more broadly.

Reading the PhD thesis raises some comments:

1. In the Introduction section, the PhD student coherently presents the current state of knowledge regarding tick ecology and biology and the epidemiology of Babesiosis in Poland, Europe and Africa, as well as Tick-Borne Encephalitis in Poland and Europe.

One wonders why the PhD student does not illuminate the state of knowledge on the topic of TBE in Africa? Is there a lack of data on this topic in the global or local literature?

2. The PhD student is not clear enough about the period of collecting tick samples. Please elaborate. Was it from September to November 2020 and May 2021? Please explain why samples were also taken in May 2021?
3. The ticks were sampled from several sites in Ethiopia and included Dembidollo, Gambella, Bishoftu and Boset counties. There is also some insecurity as to why the PhD student chose to sample ticks from several remote regions and what the distances were. Unfortunately, Figure No. 14 is of low resolution and it is not possible to read the scale. In the case of the Polish samples, it was one test point in one region of Poland. Couldn't one point in Ethiopia have been singled out as well? Also the information on what period of time the ticks were sampled in Ethiopia, how long did it take to collect the collection and what the climatic conditions were is missing. As with the Polish samples, were temperature, humidity and precipitation recorded at harvest time? Was the "white flag" method used as well? There is also a lack of data on the management of tick collection. Has the same procedure been adopted as for ticks collected in Poland?
4. There is a lack of data on where the morphological identification of ticks was carried out in Poland and Ethiopia. How were tick samples collected in Ethiopia handled before they were delivered to the laboratory?
5. Source references are missing in the DNA (subsection 3.2) and RNA (subsection 3.3) isolation methods.
6. Where, in what laboratory did the PhD student conduct the analyses outlined in the dissertation? Was it the Department of Infectious Diseases and Neuroinfection, at the Medical University of Białystok? Such information is missing from the work.
7. One wonders why such a different number of ticks from Poland (724) and Ethiopia (268) were used for the study? Please respond to this comment.
8. In chapter five, the PhD student conducts a discussion of his results with the source data. He very aptly addresses issues related to the incidence of Babesiosis and TBE in

particular regions of Poland, Europe, or even the United States. On the other hand, the PhD student comes short in referring to source data in Ethiopia, or even Africa as a whole. Therefore, clarification is needed.

Among the undoubted achievements of the PhD student is an attempt to compare the problem of selected tick-borne entities in Poland and Ethiopia. In addition, it also seems very legitimate that the PhD Student is interested in an innovative approach to research problems related to diseases with similar symptoms as malaria.

At this point, I would like to ask the PhD student what are his further plans related to the issue of diseases with similar symptoms as malaria in Ethiopia that he has undertaken? Will it have a significance in Ethiopia: to the public health of the population, to medical specialists, or to the health behavior of the population?

Concluding remarks

In conclusion, I would like to state that I positively evaluate the scientific value of the presented doctoral thesis under the title: "Detection and Molecular Characterization of Babesia spp. and Tick-Borne Encephalitis Virus in Ticks From Poland and Ethiopia," and the comments made in the review in no way detract from this assessment. The dissertation meets the conditions set forth in Article 187 of the Polish Law of July 20, 2018 Law on Higher Education and Science (i.e., Dz. U. 2022, item 574, as amended). I recommend to the Senate of the Medical University of Białystok to admit Mulugeta Aseratie Wondim, M.Sc., to the further stages of the doctoral proceedings in the field of medical and health sciences in discipline of medical sciences.

Associate Professor Wioletta Żukiewicz-Sobczak (HSc. PhD)

Wioletta Żukiewicz-Sobczak