

*Pneumocystis jirovecii* jest jednokomórkowym, oportunistycznym grzybem występującym na powierzchni nabłonka płuc człowieka, którego infekcja u osób podatnych, zwłaszcza tych z immunosupresją, może prowadzić do rozwoju pneumocystozowego zapalenia płuc. Powszechne stosowanie profilaktyki stanowi ryzyko pojawiania się mutacji w genomie patogenu, co potencjalnie może prowadzić do rozwoju jego oporności na preparaty stosowane w ramach prewencji, a tym samym podatności pacjenta na zarażenie pomimo stosowania środków zapobiegawczych. Ze względu na brak dostępnych metod badań *in vitro* w tym zakresie, wymagany jest dostęp do rozwiązań umożliwiających nie tylko szybką, czułą i specyficzną diagnostykę *P. jirovecii*, ale także identyfikację mutacji potencjalnie związanych z jego opornością.

Celem projektu jest zatem opracowanie narzędzi opartych na dwóch nowatorskich metodach: kroplek digital PCR (ddPCR) oraz biosensorach wolnych od PCR (PCR-free biosensors). Techniki te spełniają powyższe kryteria, umożliwiłyby zatem diagnostykę *P. jirovecii* poprzez wykrycie DNA w materiałach z dróg oddechowych pobranych od pacjentów z grup ryzyka, a także jakościową i ilościową charakterystykę mutacji w genach kodujących cele dla najczęściej stosowanych preparatów w profilaktyce lub leczeniu *Pneumocystis*. Ten międzynarodowy projekt jest realizowany we współpracy trzech ośrodków: Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (Polska – Koordynatorzy Projektu), University Hospital Virgen del Rocío– Instituto de Biomedicina de Sevilla (Hiszpania) oraz University of Brest – University of Western Brittany (Francja). Do badań planujemy włączyć łącznie około 4300-4500 pacjentów niezakażonych wirusem HIV z grup ryzyka zarażenia *Pneumocystis* (chorzy na mukowiscydozę, pacjenci wymagający mechanicznej wentylacji, biorcy przeszczepów, pacjenci z chorobami hematologicznymi, noworodki i niemowlęta). Próbkę z dróg oddechowych będą pobierane od pacjentów znajdujących się pod opieką szpitali współpracujących z wszystkimi trzema ośrodkami wchodzącymi w skład konsorcjum. W projekcie będą analizowane polimorfizmy pojedynczego nukleotydu (SNPs) w czterech genach *Pneumocystis* z wykorzystaniem dwóch nowych, czułych i powtarzalnych narzędzi (ddPCR, PCR-free biosensors). Wyniki zostaną porównane z analizami przeprowadzonymi za pomocą konwencjonalnych metod stosowanych dotychczas w diagnostyce *Pneumocystis* i jego charakterystyce molekularnej (Real-Time PCR, sekwencjonowanie DNA).

W efekcie, zostaną zaproponowane nowe precyzyjne metody molekularne i/lub wysokoprzepustowe testy do szczegółowej analizy oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe u *Pneumocystis*. Ponadto, zostanie stworzona baza danych wykrytych mutacji przypuszczalnie związanych z opornością patogenu, w korelacji z danymi badanych pacjentów. Umożliwi to na określenie potencjalnych konsekwencji stosowania specyficznych terapii u pacjentów z grup ryzyka, a także możliwego wpływu tych mutacji na skuteczność profilaktyki/leczenia przeciw *Pneumocystis* u osoby zarażonej.