

*Escherichia coli* patogênica aviária (APEC) é o microrganismo responsável pela colibacilose em frangos, doença que causa grandes prejuízos na avicultura. A cepa APEC MT78 causa infecção sistêmica quando inoculada pela traqueia em frangos de 5 semanas de idade (*in vivo*) e é a única, entre nove cepas APEC testadas, que apresenta capacidade de invasão a células não-fagocitárias *in vitro*. A fim de entender o mecanismo pelo qual a cepa MT78 invade células não-fagocitárias, propomos a utilização da técnica de mutagênese marcada com assinatura (STM) para produzir mutantes atenuados na capacidade invasiva. Essa técnica consiste na indução de mutação não-direcionada através da inserção de plasmídeos marcados com transposons (*tags*) que podem inserir-se aleatoriamente no genoma da bactéria, e é utilizada para melhor entender e descobrir novos fatores de virulência de microrganismos. Foi construída uma biblioteca de 1800 mutantes criados através da técnica de STM. Os plasmídeos (n = 90) contendo *tags* foram inseridos na cepa S17-1  $\lambda$  pir através de eletroporação. As S17-1  $\lambda$  pir com as diferentes *tags* foram conjugadas à MT78, e 20 colônias foram selecionadas em cada conjugação, totalizando 1800 mutantes (90 *tags* x 20 *pools*). A etapa de seleção consistirá de ensaios de invasão a fibroblastos aviários (modelo de células não-fagocitárias) com cada um dos *pools* de mutantes. O DNA do *pool* de infecção e do *pool* de recuperação será extraído e as *tags* amplificadas. Utilizando as *tags* como sondas, será feito *dot blot* com cada um dos *pools*. Aqueles mutantes que aparecerem no *pool* de infecção, mas estiverem ausentes no *pool* de recuperação, terão tido a capacidade invasiva atenuada. Será feito ensaio de competitividade entre os mutantes selecionados e a cepa MT78 selvagem, posterior sequenciamento da região genômica interrompida pela *tag* e análise bioinformática.