

*Escherichia coli* patogênica aviária (APEC) é o microrganismo responsável pela colibacilose em frangos, doença que causa grandes prejuízos na avicultura. A cepa APEC MT78 apresenta grande capacidade de invasão em fibroblastos (*in vitro*) e causa infecção sistêmica quando inoculada pela traqueia em frangos de 5 semanas de idade (*in vivo*). A cepa também é capaz de ativar caspase 3/7 em macrófagos aviários, o que pode ser um fator importante para que a bactéria consiga escapar da destruição pelo sistema imunológico do hospedeiro. A técnica de mutagênese marcada com assinatura (STM), que 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, é utilizada para melhor entender e descobrir novos fatores de virulência de microrganismos. Este trabalho propõe a execução da técnica de STM para a cepa MT78 e a seleção dos mutantes atenuados *in vitro*. Os plasmídeos (n=90) contendo *tags* foram inseridos na cepa S17λpir através de eletroporação. As S17λpir com as diferentes *tags* foram conjugadas à MT78, e 20 colônias foram selecionadas em cada conjugação, totalizando 1800 mutantes (20 *pools* com 90 *tags* cada). Ensaios de invasão em fibroblastos aviários serão realizados 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 devem ter sua virulência atenuada. Será feito ensaio de competitividade entre os mutantes atenuados e a cepa MT78 selvagem, posterior sequenciamento da região genômica interrompida pela *tag* e análise bioinformática.