

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 686 944**

51 Int. Cl.:

C12N 1/20 (2006.01)

C12R 1/00 (2006.01)

C12R 1/07 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.02.2012 PCT/US2012/025303**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.08.2012 WO12112718**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.02.2012 E 12707187 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.06.2018 EP 2675891**

54 Título: **Mitigación de olor en máquinas de limpieza y procesos de limpieza**

30 Prioridad:

15.02.2011 US 201161443055 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

22.10.2018

73 Titular/es:

**NOVOZYMES NORTH AMERICA, INC. (33.3%)
77 Perry Chapel Church Road
Franklinton, North Carolina 27525 , US;
NOVOZYMES BIOLOGICALS, INC. (33.3%) y
HENKEL AG & CO. KGAA (33.3%)**

72 Inventor/es:

**MCHATTON, SARAH C.;
WILLIAMS, I. MICHELLE;
PENALOZA-VAZQUEZ, ALEJANDRO;
O'CONNELL, TIMOTHY;
WEIDE, MIRKO y
LEDER, JONATHAN**

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 686 944 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Mitigación de olor en máquinas de limpieza y procesos de limpieza

5 Campo de la invención

[0001] La presente invención se refiere generalmente a la inhibición de mal olor en las máquinas de limpieza, procesos de limpieza y/o artículos tratados en la máquina/proceso de limpieza.

10 Antecedentes

[0002] El mal olor es un problema cada vez mayor, particularmente, en la ropa sucia, con los hábitos cambiados de lavado a temperatura más baja, las máquina de lavados de carga frontal que guardan agua pero dejan atrás agua residual entre cargas que permiten que crezcan biopelículas bacterianas, ahorrar energía con la ropa secada al aire antes de aplicando el secado y la popularidad aumentada de tejidos artificiales, tal como ropa deportiva, que parece retener el olor más de los tejidos naturales.

15

[0003] Los mayores fabricantes de detergente intentan resolver el problema con perfumes. Estas soluciones, sin embargo, no son eficaces completamente, ya que estos son a corto plazo. Hay una necesidad en la técnica de soluciones nuevas para controlar el problema del mal olor.

20

Resumen

[0004] Están previstos métodos y composición para la inhibición del mal olor en una máquina de limpieza, proceso de limpieza o artículo tratado (limpiado) en una máquina de limpieza o proceso de limpieza, que comprende el contacto de una máquina de limpieza, proceso de limpieza y/o artículo tratado en el máquina de limpieza/proceso de limpieza con al menos un microorganismo que es capaz de inhibir el mal olor provocado por un microorganismo que causa mal olor (por ejemplo; bacterias) presente en la máquina de limpieza, proceso de limpieza o artículo tratado en la máquina de limpieza o proceso de limpieza.

25

[0005] La fuente de mal olor puede ser al menos un microorganismo que causa mal olor (p. ej. bacterias) y/o al menos un microorganismo (por ejemplo, bacterias) capaz de causar mal olor.

30

[0005] Los métodos de la presente invención se pueden utilizar para tratar un problema de olor existente y/o como un tratamiento preventivo para prevenir un problema de olor potencial.

35

La presente invención puede ser utilizada, por ejemplo, para inhibir el mal olor en las máquinas/procesos de lavado, máquinas/procesos de limpieza en seco, máquinas/procesos de limpieza de vapor, máquinas/procesos de limpieza de alfombras, máquinas/procesos de lavavajillas y otras máquinas/procesos de limpieza.

En un aspecto particular, la presente invención proporciona métodos para control del olor en la ropa sucia poniendo en contacto una máquina para lavar la ropa, proceso de lavado de ropa, tejido sucio y/o lavado con al menos un microorganismo que es capaz de inhibir la producción del mal olor en la ropa sucia.

40

El contacto puede producir antes, durante o después del proceso de lavado de la ropa sucia.

Una forma de realización también proporciona composiciones para usar en la inhibición del mal olor en las máquinas de limpieza y procesos de limpieza.

Las composiciones pueden comprender y al menos un microorganismo capaz de inhibir el mal olor como un ingrediente de una composición sólida, semi-sólida, en gel, líquida, aerosol, emulsión o en polvo.

45

En un aspecto, la composición se adapta para la aplicación en el interior de una máquina de limpieza (máquinas de lavar la ropa, máquinas de limpieza en seco, máquinas de limpieza con vapor, máquinas de limpieza de alfombras, máquinas de lavavajillas y otras máquinas de limpieza para limpieza), y comprende un portador y al menos un microorganismo capaz de inhibir el mal olor en la máquina de limpieza.

50

En otro aspecto, la composición se adapta a la aplicación directamente a un artículo limpiado en la máquina de limpieza o proceso de limpieza, tal como, a un tejido (ropa limpia o sucia) u otro artículo lavado en la máquina de limpieza o proceso de limpieza.

En una forma de realización particular, las composiciones del presente invención se pueden incluir como un componente de un detergente, un suavizante u otra composición de limpieza.

55

[0006] Una forma de realización también proporciona un equipo con las composiciones para usar en el control del mal olor.

El equipo se puede adaptar para administrar una dosificación eficaz de al menos un microorganismo que es capaz de inhibir el mal olor en el interior de una máquina de lavado o tejido para un periodo de uso definido.

60

Descripción detallada de la invención

[0007] Como se utiliza en este caso, "inhibición" o "inhibir" significa la prevención, reducción y/o eliminación sustancialmente del mal olor provocado por microorganismos que causan olor (por ejemplo, bacterias).

65

Evitar, reducir y/o eliminar sustancialmente el olor se puede producir por uno o más efectos asociados a al menos un microorganismo (por ejemplo, cepa bacteriana) de la invención.

Estos efectos incluyen, pero de forma no limitativa, la inhibición del crecimiento de los microorganismos que causan olor (por ejemplo, especies bacterianas que causan el mal olor), inhibición de la producción o secreción de sustancias volátiles olorosas por microorganismos que causan olor (por ejemplo; bacterias), inhibición de la conversión de un precursor químico en una sustancia olorosa, consumo por al menos unos microorganismos de los volátiles de olor como una fuente alimenticia, consumo por al menos un microorganismo del precursor químico de la sustancia olorosa como una fuente alimenticia y/o por modificación de la sustancia olorosa, cada una tras contactar con al menos un microorganismo o una sustancia derivada de esta.

Los ejemplos de realización particulares se dirigen a la inhibición del mal olor provocados por bacterias que causan olor en una máquina para lavar la ropa, proceso de lavado y/o tejidos lavados tratando una máquina para lavar la ropa, proceso de lavado y/o tejidos lavados con al menos una bacteria que es capaz de inhibir el mal olor.

[0008] El mal olor se puede generar a partir de un número de fuentes bacterianas (incluyendo compuestos derivados o producidos de ellas).

Las fuentes de bacterias que causan mal olor incluyen especies de bacterias seleccionadas del grupo que consiste en *Bacillus amyloliquefaciens*, *Acinetobacter junii*, *Bacillus subtilis*, *Janibacter melois*, *Sfingobium ummariense*, *Sfingomonas panni*, *Sfingomonadaceae*, *Actinobacter tandoii*, *Junibacter melonis*, *Curtobacterium flaccumfaciens* subesp. *Flaccumfaciens*, *Flavobacterium denitrificans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, adacarboxilata de Leclercia, *Enterobacter sp.*, *Cronobacter sakazakii*, *Bacillus megaterium*, *Sfingobacterium faecium*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas veronii*, *Microbacterium luteolum*, *Morganella morganii*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas sp.*, *Pseudomonas marginalis*, *Citrobacter sp.*, cepa de *Escherichia coli* JCLys5, *Roseomonas*, acuático *Pseudomonas panipatensis*, *BreviBacillus subtilis subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus pumilus*, *Ralstonia eutropha*, *Caulobacter fusiformis*, *Stenotrofomonas maltophilia*, *Rhodococcus opacus*, *Breviundimonas intermedia*, *Agrobacterium tumefaciens* y/o una combinación de las mismas y/o sustancias derivadas de estas.

[0009] Cualquier microorganismo que es capaz de inhibir el mal olor se puede utilizar en la presente invención. En las formas de realización particulares, el microorganismo es una bacteria.

Las combinaciones de uno o más de tales microorganismos también pueden ser usadas, tales como, mezclas de dos o más cepas, tres o más cepas, cuatro o más cepas, cinco o más cepas, etc. Un microorganismo que es capaz de inhibir el mal olor es una especie (o cepa) de un microorganismo que tiene acción contra el organismo que causa olor o contra el compuesto que causa olor (por ejemplo, sustancia volátil) producido o derivado del organismo que causa olor para reducir o eliminar el olor percibido que surge de tales organismos que causan olor o compuesto que causa olor.

La acción para reducir o eliminar el olor percibido puede incluir la degradación del compuesto que causa olor después de la secreción por el organismo que causa olor o prevención de la producción de tal compuesto que causa olor.

Una forma de realización se refiere a una sustancia derivada de un microorganismo que tiene acción contra el organismo que causa olor o contra el compuesto que causa olor (por ejemplo, sustancia volátil) producido o derivado del organismo que causa olor para reducir o eliminar el olor percibido que surge de tales organismos que causan olor o compuesto que causa olor.

Todavía otra forma de realización se refiere a una disminución del mal olor, que se puede medir al menos por los resultados de un panel y/o análisis de cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS) de compuesto(s) que causan olor (por ejemplo, sustancias volátiles), que comprenden artículos de tratamiento, artículos sometidos a una máquina de limpieza o proceso de limpieza, y/o máquinas de limpieza con al menos un microorganismo o sustancia derivada de este, que bien inhibe directa o indirectamente el mal olor, en comparación con artículos no tratados, artículos no tratados sometidos a una máquina de limpieza o proceso de limpieza y/o máquinas de limpieza no tratadas.

[0010] En una forma de realización, al menos un microorganismo es una especie de *Bacillus*, por ejemplo, al menos una especie de *Bacillus* seleccionada del grupo que consiste en *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus atrofaeus*, *Bacillus pumilus* o una combinación de los mismos.

En otra forma de realización, al menos un microorganismo es una especie de *Bacillus* seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50017, cepa de *Bacillus atrofaeus* PTA-7792; cepa de *Bacillus atrofaeus* PTA-7543; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50018; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7545; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7547; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7790; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50014; y cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50015 o una combinación de las mismas.

Al menos una cepa de *Bacillus*, en una forma de realización particular, puede ser seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa *Bacillus atrofaeus* PTA-7543; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50018; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7545; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens*

PTA-7546; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; y cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399 o una combinación de las mismas.

5 En una forma de realización particular, al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus atrofaeus* PTA-7543 cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50706; y cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136 o una combinación de las mismas.

10 [0011] En otra forma de realización, al menos un microorganismo es un microorganismo que es capaz de utilizar al menos un compuesto(s) odiferoso(s) como una fuente alimenticia.

Tal microorganismo se puede seleccionar del grupo que consiste en cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50017, cepa de *Bacillus atrofaeus* PTA-7792; cepa de *Bacillus atrofaeus* PTA-7543; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50018; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7545; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus subtilis* PTA-7547; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7790; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50014; y cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50015 o una combinación de las mismas.

15 En otra forma de realización, al menos un microorganismo capaz de utilizar al menos un compuesto(s) odiferoso como una fuente alimenticia es seleccionado del grupo que consiste en cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa de *Bacillus atrofaeus* PTA-7543; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50018; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7545; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; y cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399 o una combinación de las mismas.

20 En otra forma de realización, al menos un microorganismo capaz de utilizar al menos un compuesto(s) odiferoso como una fuente alimenticia es seleccionado del grupo consistente en cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus atrofaeus* PTA-7543 cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50706; y cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136 o una combinación de las mismas.

25 [0012] En otro aspecto, al menos un microorganismo incluye cepas que son cercanamente relacionadas con cualquiera de las cepas anteriores basándose en la identidad de secuencia de ADNr 16S.

Ver Stackebrandt E, et al., "Report of the ad hoc committee for the re-evaluation of the species definition in bacteriology," Int J Syst Evol Microbiol 52(3):1043-7 (2002) con relación a uso de la identidad de secuencia de ADNr 16S para la determinación de la relación en bacterias.

30 En una forma de realización, al menos una cepa es al menos 95% idéntica a cualquiera de las cepas anteriores basándose en la identidad de secuencia de ADNr 16S, al menos 96% de identidad con cualquiera de las cepas anteriores basándose en la identidad de secuencia de ADNr 16S, al menos 97% de identidad con cualquiera de las cepas anteriores basándose en la identidad de secuencia de ADNr 16S, al menos 98% con cualquiera de las cepas anteriores basándose en la identidad de secuencia de ADNr 16S, al menos 98.5% de identidad con cualquiera de las cepas anteriores basándose en la identidad de secuencia de ADNr 16S, al menos 99% de identidad con cualquiera de las cepas anteriores basándose en una identidad de secuencia de ADNr 16S o al menos 99.5% con cualquiera de las cepas anteriores basándose en la identidad de secuencia de ADNr 16S.

35 [0013] Los microorganismos que generan zonas de inhibición (ZOIs) contra microorganismos clave que causan mal olor de al menos 3 mm, al menos 4 mm, al menos 5 mm o al menos 6 mm y superior pueden ser posibles agentes de biocontrol y, por lo tanto, los microorganismos candidatos para reducir el mal olor conforme a la presente invención.

40 Por consiguiente, una forma de realización incluye un método de cribado para microorganismos que inhiben el posible mal olor probando la inhibición de especies (por ejemplo, usando ensayos ZOI como se describen en el ejemplo 3 de abajo) seleccionadas de los géneros que consisten en *Bacillus*, spp. *Acinetobacter* spp., *Janibacterspp.*, *Sfingobium* spp., *Sfingomonas* spp., *Actinobacter* spp., *Junibacterspp.*, *Curtobacterium*, spp. *Flavobacterium* spp., *Staphylococcus*, spp. *Escherichia*, spp. *Leclercia*, spp. *Enterobacter* sp., *Cronobacter* spp., *Sfingobacterium*, spp. *Pseudomonas* spp., *Microbacterium*, spp. *Morganella*, *Citrobacter*, spp. *Roseomonas* spp., *BreviBacillus* spp., *Micrococcus*, spp. *Ralstonia* spp., *Caulobacter* spp., *Stenotrofomonas* spp., *Rhodococcus*, spp. *Breviundimonas*, spp. *Agrobacterium* spp., o combinaciones de las mismas.

45 Una forma de realización incluye además el cribado para microorganismo de inhibición de mal olor potencial por la prueba de inhibición de especies (por ejemplo, usando ensayos ZOI como se describe en el ejemplo 3 de abajo) seleccionadas del grupo que consiste en *Bacillus amyloliquefaciens*, *Acinetobacter junii*, *Bacillus subtilis*, *Janibacter melois*, *Sfingobium ummariense*, *Sfingomonas panni*, *Sfingomonadaceae*, *Actinobacter tandooii*, *Junibacter melonis*, *Curtobacterium flaccumfaciens* subesp. *Flaccumfaciens*, *Flavobacterium denitrificans*,

Staphylococcus epidermidis, *Escherichia coli*, *Leclercia adecarboxilata*, *Enterobacter sp.*, *Cronobacter sakazakii*, *Bacillus megaterium*, *Sfingobacterium faecium*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas veronii*, *Microbacterium luteolum*, *Morganella morganii*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas sp.*, *Pseudomonas-marginalis*, *Citrobacter sp.*, cepa de *Escherichia coli* JCLys5, *Roseomonas acuáticas*, *Pseudomonas panipatensis*, *BreviBacillus subtilis subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus pumilus*, *Ralstonia eutropha*, *Caulobacter fusiformis*, *Stenotrofomonas maltophilia*, *Rhodococcus opacus*, *Breviundimonas intermedia*, *Agrobacterium tumefaciens* y/o una combinación de las mismas y/o sustancias derivadas de estas.

También, el efecto de estas cepas en la producción de los volátiles, prevención o reducción en la conversión de precursor para tales volátiles o consumo de los volátiles puede indicar utilidad en las composiciones y métodos.

Además todavía, los análisis del estudio de utilización solo de fuente de carbono son eficaces en la determinación de si microorganismos generalmente y cepas NZB NRRL B-50136, NRRL B-50014, NRRL B-50015, NRRL B-50016, NRRL B-50017, NRRL B-50141, NRRL B-50018.

PTA-7541; PTA-7792; PTA-7543; PTA-7544; PTA-7545; PTA-7546; PTA-7547; PTA-7549; PTA-7793; PTA-7790; PTA-7791, NRRL B-50706, y NRRL B-50399 más específicamente, tienen la capacidad de hacerse más fuertes y/o biodegradar compuestos olorosos asociados al mal olor en la ropa sucia.

Además todavía, estudios de olor fueron eficaces en la determinación de si microorganismos generalmente y cepas NZB NRRL B-50136, NRRL B-50014, NRRL B-50015, NRRL B-50016, NRRL B-50017, NRRL B-50141, NRRL B-50018.

PTA-7541; PTA-7792; PTA-7543; PTA-7544; PTA-7545; PTA-7546; PTA-7547; PTA-7549; PTA-7793; PTA-7790; PTA-7791, NRRL B-50706, y NRRL B-50399 más específicamente inhiben y/o previenen el mal olor de la ropa sucia.

[0014] El siguiente material biológico ha sido depositado según las condiciones del tratado de Budapest en la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC), 10801 University Blvd., Manassas, VA 20108, USA y the Microbial Genomics and Bioprocessing Research Unit (NRRL) National Center for Agricultural Utilization Research 1815 N. University Street, Peoria, IL 61604, y dado el siguiente número de acceso:

Identificación	Número de registro	Fecha de depósito
<i>Bacillus licheniformis</i>	NRRL B-50014*	14- Mar-2007
<i>Bacillus licheniformis</i>	NRRL B-50015	14- Mar-2007
<i>Bacillus pumilus</i>	NRRL B-50016	14- Mar-2007
<i>Bacillus Amiloliquifaciens</i>	NRRL B-50017	14- Mar-2007
<i>Bacillus Amiloliquifaciens</i>	NRRL B-50141	03- Jun-2008
<i>Bacillus amiloliquifaciens</i>	NRRL B-50018	14- Mar-2007
<i>Bacillus amiloliquifaciens</i>	PTA-7541**	20- Apr-2006
<i>Bacillus amiloliquifaciens</i>	PTA-7792	18- Aug-2006
<i>Bacillus amiloliquifaciens</i>	PTA-7543	20- Apr-2006
<i>Bacillus A□amiloliquifaciens</i>	PTA-7544	20- Apr-2006
<i>Bacillus amiloliquifaciens</i>	PTA-7545	20- Apr-2006
<i>Bacillus amiloliquifaciens</i>	PTA-7546	20- Apr-2006
<i>Bacillus subtilis</i> subesp. <i>Subtilis</i>	PTA-7547	20- Apr-2006
<i>Bacillus amiloliquifaciens</i>	PTA-7549	20- Apr-2006
<i>Bacillus amiloliquifaciens</i>	PTA-7793	18- Aug-2006
<i>Bacillus amiloliquifaciens</i>	PTA-7790	18- Aug-2006
<i>Bacillus amiloliquifaciens</i>	PTA-7791	18- Aug-2006
<i>Bacillus amiloliquifaciens</i>	EI NRRL B-50399	16- Jun-2010
<i>Bacillus subtilis</i> subesp. <i>Subtilis</i>	NRRL B-50136	30- May-2010
<i>Bacillus amiloliquifaciens</i>	NRRL B-50706	02- Feb-2012

*NRRL indica el depósito con the Agricultural Research Service Culture Collection, Peoria, IL
 ** PTA indica el depósito con la Colección Americana de Cultivos Tipo

[0015] La cepa(s) ha/han sido depositadas bajo condiciones que aseguran que el acceso al cultivo esté disponible durante la pendencia de esta solicitud de patente a la determinada por el Comisionado de Patentes y Marcas registradas con derecho bajo 37 C.F.R. §1.14 y 35 U.S.C. §122.

El depósito representa un cultivo puro de la cepa depositada.

El depósito está disponible según lo requieran las leyes de patentes extranjeras en los países donde se presentan homólogos de la solicitud en cuestión o su progenie.

Sin embargo, se debe entender que la disponibilidad de un almacenamiento no constituye una licencia para practicar la presente invención en la derogación de derecho de las patentes concedida por acción gubernamental.

[0016] Los métodos y composiciones se pueden aplicar a máquinas de limpieza, procesos de limpieza y artículos tratados (por ejemplo; limpiado) en las máquinas y procesos de limpieza.

Las máquinas de limpieza y procesos de limpieza que se pueden tratar incluyen, sin limitación, una máquina/proceso de limpieza de ropa sucia (por ejemplo, en el ciclo de lavado), un máquina/proceso de limpieza

en seco, un máquina/proceso de limpieza con vapor, un máquina/proceso de limpieza de alfombras o una máquina/proceso de lavavajillas.

El método y composiciones se pueden aplicar a una máquina nueva o una máquina después del uso de tal máquina.

5 El método y composiciones se pueden aplicar a uno o más pasos de proceso en el proceso de limpieza (tal como, en el ciclo de lavado de lavado de ropa sucia o máquina de lavavajillas).

[0017] Los métodos y composiciones también se pueden aplicar directamente a un artículo tratado (por ejemplo; limpiado) en la máquina de limpieza o proceso de limpieza, tal como, a una ropa sucia tratada en la máquina.

10 El artículo se puede tratar antes de la limpieza, durante el proceso de limpieza, después de los procesos de limpieza y cualquier combinación de los mismos.

Los ejemplos de tales artículos para ser tratados incluyen ropa sucia, platos, alfombras y tejidos.

15 [0018] El término "tejidos" abarca todo tipo de tejidos, textiles, fibras, prendas de ropa y tejidos usados, por ejemplo, mobiliario y coches.

El término "ropa sucia" se refiere a ropa ya usada y/o manchada/sucia con la necesidad de lavado, y es a diferencia de tejidos recién fabricados.

El lavado de ropa sucia se puede realizar en instalaciones comerciales privadas e institucionales, tales como hospitales, prisiones, compañías de servicio constante.

20 El lavado de tejidos recién fabricados principalmente se hace en la industria textil.

El tejido o ropa sucia puede estar hecho de cualquier material adecuado.

En ejemplos de realización preferidos, los tejidos y/o ropa sucia están hechos de materiales celulósicos, materiales sintéticos y/o fibras artificiales o mezclas de los mismos.

25 Los ejemplos de materiales celulósicos contemplados incluyen algodón, viscosa, rayón, ramio, lino, liocel (por ejemplo, TENCEL™, producido por fibras Courtaulds) o mezclas de las mismas, o mezclas de cualquiera de estas fibras junto con fibras sintéticas o artificiales (por ejemplo, poliéster, poliamida, nilón) u otras fibras naturales tales como lana y seda., tales como mezclas viscosa/algodón, mezclas de liocel/algodón, mezclas lyocell/lana, mezclas liocel/lana, mezclas algodón/lana; lino (lino), ramio y otros tejidos y/o ropa sucia basada en

30 fibras celulósicas, incluyendo todas las mezclas de fibras celulósicas con otras fibras tales como lana, poliamida, acrílico y fibras de poliéster, por ejemplo, mezclas de lana/algodón/poliéster, mezclas lana/algodón/poliéster, mezclas de lino/algodón etc. El tejido y/o ropa sucia también pueden ser unos materiales sintéticos, por ejemplo, que consisten en esencialmente 100% poliéster, poliamida, nilón, respectivamente.

El término "lana" significa cualquier producto de pelo animal útil comercialmente, por ejemplo, lana de oveja, camello, conejo, cabra, llama, y conocido como lana de merino, lana Shetland, lana de cachemir, lana de alpaca,

35 mohair etc. e incluye fibras de lana y pelo de animales.

El método se puede usar en la lana o material de pelo de animales en la forma de telas superiores, fibras, hilos o tejidos o tejidos de punto.

[0019] El tratamiento puede incluir el contacto del organismo(s) generador de olor o compuesto(s) generador de olor presente en la máquina de limpieza o proceso de limpieza con al menos un microorganismo.

40 Tal contacto puede incluir el contacto de una superficie de una máquina con al menos un microorganismo y/o contacto de un agua de proceso o composición de limpieza usada en la máquina de limpieza con al menos un microorganismo.

[0020] Los medios de contacto contactan el organismo que causa olor y/o compuesto que causa olor con células vivas de al menos un microorganismo.

Otro aspecto, incluye el contacto del organismo que causa olor compuesto por una o más sustancias derivadas de al menos un microorganismo que tiene la capacidad para inhibir olor como se describe en este caso.

45 Tales sustancias incluyen, pero de forma no limitativa, sobrenadantes libres de célula, lisados celulares y/o extractos.

[0021] Al menos un microorganismo se puede aplicar en cualquier forma adecuada, tal como, como una espora o como célula vegetativa.

50 La capacidad para preparar esporas y células vegetativas se considera rutina en la técnica. Ver Tzeng, Y. M., Y. K. Rao, et al. (2008). "Effect of cultivation conditions on spore production from *Bacillus amyloliquefaciens* B128 and its antagonism to *Botrytis elliptica*." *Journal of Applied Microbiology* 104(5): 1275-1282.

[0022] Las composiciones de algunos ejemplos de realización comprenden al menos un microorganismo como se describe en este caso.

60 Los microorganismos deberían estar presentes en cantidades eficaces.

Los términos "cantidad efectiva", "concentración efectiva" o "dosificación efectiva" se definen aquí como la cantidad, concentración o dosificación de una o más cepas microbianas que controlan el olor pueden inhibir el mal olor provocado por el organismo que causa olor o sustancias derivadas de los mismos en artículos, artículos sometidos a una máquina de limpieza o proceso de limpieza y/o máquinas de limpieza.

Los términos "cantidad efectiva", "concentración efectiva" o "dosificación efectiva" se definen aquí como la cantidad, concentración o dosificación de una o más cepas microbianas que controlan el olor pueden inhibir el mal olor provocado por el organismo que causa olor o sustancias derivadas de los mismos en artículos, artículos sometidos a una máquina de limpieza o proceso de limpieza y/o máquinas de limpieza.

Los términos "cantidad efectiva", "concentración efectiva" o "dosificación efectiva" se definen aquí como la cantidad, concentración o dosificación de una o más cepas microbianas que controlan el olor pueden inhibir el mal olor provocado por el organismo que causa olor o sustancias derivadas de los mismos en artículos, artículos sometidos a una máquina de limpieza o proceso de limpieza y/o máquinas de limpieza.

Los términos "cantidad efectiva", "concentración efectiva" o "dosificación efectiva" se definen aquí como la cantidad, concentración o dosificación de una o más cepas microbianas que controlan el olor pueden inhibir el mal olor provocado por el organismo que causa olor o sustancias derivadas de los mismos en artículos, artículos sometidos a una máquina de limpieza o proceso de limpieza y/o máquinas de limpieza.

Los términos "cantidad efectiva", "concentración efectiva" o "dosificación efectiva" se definen aquí como la cantidad, concentración o dosificación de una o más cepas microbianas que controlan el olor pueden inhibir el mal olor provocado por el organismo que causa olor o sustancias derivadas de los mismos en artículos, artículos sometidos a una máquina de limpieza o proceso de limpieza y/o máquinas de limpieza.

Los términos "cantidad efectiva", "concentración efectiva" o "dosificación efectiva" se definen aquí como la cantidad, concentración o dosificación de una o más cepas microbianas que controlan el olor pueden inhibir el mal olor provocado por el organismo que causa olor o sustancias derivadas de los mismos en artículos, artículos sometidos a una máquina de limpieza o proceso de limpieza y/o máquinas de limpieza.

La dosificación eficaz real en números absolutos depende de los factores con: los organismos(s) que causan olor en cuestión; si el objetivo es la prevención o reducción del mal olor; otros constituyentes presentes en la composición y también los artículos y/o máquina de limpieza en cuestión.

En una forma de realización, una dosificación eficaz de bacterias, por ejemplo, de las cepas NRRL B-50141; PTA-7549 o PTA-7543 sería introducida al detergente a una concentración final de 1×10^3 - 1×10^{11} CFU/g de detergente, con un rango preferido de 1×10^5 - 1×10^6 CFU/g de detergente.

Las cantidades eficaces se pueden determinar por un experto en la técnica usando ensayos rutinarios.

[0023] Al menos un microorganismo de la invención y/o sustancias derivadas de este se pueden usar en combinación con o como un ingrediente de un producto de lavado, tal como detergentes y/o suavizantes en particular, incluyendo pero no limitados a aerosoles, polvos, sólidos, cremas, etc., para uso, por ejemplo, en limpieza de máquinas, procesos de limpieza y/o artículos tratados en la limpieza de máquinas o procesos de limpieza, tal como, tejidos.

Las formulaciones para ser aplicadas incluirán biocontrol vivo bacteriano, por ejemplo, esporas o células vegetativas.

[0024] Un aspecto también incluye composiciones de limpieza o composiciones para usar en la limpieza de máquinas o procesos de limpieza que comprenden al menos unos microorganismos descritos aquí y un portador. La composición puede ser en forma de un sólido, gel semi-sólido, líquido, aerosol, emulsión y/o polvo.

En un aspecto, la composición comprende un portador y al menos un microorganismo o una sustancia derivada de esta.

En otro aspecto la composición comprende un portador y al menos una especie de *Bacillus* o una sustancia derivada de esta.

En otro aspecto, la composición comprende un portador y al menos un microorganismo seleccionado del grupo que consiste en *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus atrofaeus* y *Bacillus pumilus* o una combinación de las mismas.

De la forma más preferible, las especies de *Bacillus* es *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus* o una combinación de las mismas.

En otra forma de realización, la composición comprende un portador y al menos un microorganismo seleccionado del grupo que consiste en cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa *Bacillus atrofaeus* PTA-7792; cepa *Bacillus atrofaeus* PTA-7543; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50018; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7545; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus subtilis* PTA-7547; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7790; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50014; y cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50015 o una combinación de las mismas.

Más preferiblemente, al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa de *Bacillus atrofaeus* PTA-7543; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50018; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7545; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; y cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399 o una combinación de las mismas.

De la forma más preferible, al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus atrofaeus* PTA-7543 cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50706; y cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136 o una combinación de las mismas.

Las composiciones, en formas de realización particulares, pueden comprender mezclas de dos o más microorganismos, con al menos dos, al menos tres, al menos cuatro y al menos cinco de los microorganismos descritos aquí.

[0025] Las composiciones pueden tener en una forma de realización un pH en el rango de 5-10 y pueden incluir además agua y/o uno o más conservantes.

Para la conservación de composiciones que comprenden la especie *Bacillus*., por ejemplo, los conservantes siguientes pueden ser útiles: clorometilisotiazolinona/metilisotiazolinona (CMIT/MIT) (katon u otros); MIT (Neolona u otros); 1,2-benzisotiazolin-3-uno (bit) (si se permite en el cuidado personal); CMIT/MIT + EDTA; CMIT/MIT + quelador Biodegradable; MIT + EDTA; MIT + quelador Biodegradable; BIT + EDTA; BIT + quelador Biodegradable; Bronopol; 2-fenoxietanol; 2-fenoxietanol + quelador Biodegradable; sorbato de potasio (usado a un pH bajo); benzoato sódico (usado a un pH bajo); sal; glicerol; propilenglicol; aceites esenciales; alcohol de dicloro bencílico; triclosano; parabenos; y 1-fenoxi-2-propanol y 2-fenoxi-1-propanol.

En una forma de realización, el conservante es 2-fenoxietanol de 2-fenoxietanol + quelador Biodegradable; sorbato de potasio (usado a un pH bajo); benzoato sódico (usado a un pH bajo); sal; glicerol; propilenglicol; o uno de más aceites esenciales - por ejemplo, semilla de mostaza blanca, árbol de té, palisandro o algunos aceites cítricos.

En otra forma de realización, el conservante es 2-fenoxietanol; 2-fenoxietanol + quelador biodegradable; o glicerol.

Por consiguiente, una forma de realización se refiere a la composición que comprende al menos un microorganismo que es capaz de inhibir el mal olor y un conservante seleccionado del grupo que consiste en clorometilisotiazolinona/metilisotiazolinona (CMIT/MIT) (katon u otros); MIT (Neolona u otros); 1,2-benzisotiazolin-3-uno (bit) (si se permite en el cuidado personal); CMIT/MIT + EDTA; CMIT/MIT + quelador Biodegradable; MIT + EDTA; MIT + quelador Biodegradable; BIT + EDTA; BIT + quelador Biodegradable; Bronopol; 2-fenoxietanol; 2-fenoxietanol + quelador Biodegradable; sorbato de potasio (usado a un pH bajo); benzoato sódico (usado a un pH bajo); sal; glicerol; propilenglicol; aceites esenciales; alcohol de dicloro bencílico; triclosano; parabenos; y 1-fenoxi-2-propanol y 2-fenoxi-1-propanol.

En una forma de realización, el conservante es 2-fenoxietanol de 2-fenoxietanol + quelador Biodegradable; sorbato de potasio (usado a un pH bajo); benzoato sódico (usado a un pH bajo); sal; glicerol; propilenglicol; o uno de más aceites esenciales - por ejemplo, semilla de mostaza blanca, árbol de té, palisandro o algunos aceites cítricos, 2-fenoxietanol; 2-fenoxietanol + quelador Biodegradable; o glicerol y donde la composición es un líquido, sólido o composición en gel.

[0026] En un aspecto preferido, se proporciona una composición adaptada para la aplicación al interior de una máquina de limpieza (por ejemplo, máquina de lavar la ropa o máquina lavavajillas).

La composición puede ser en la forma sólida o líquida.

La composición puede ser un concentrado para ser diluido, rehidratado y/o disuelto en un solvente, con agua, antes de usar.

La composición también puede ser una composición lista para usar (en uso).

La composición puede además ser un ingrediente de base de limpieza activo para ser incorporado en otra limpieza o composiciones de lavado.

[0027] En una forma de realización, la composición se adapta para suministrar a una máquina de lavado para prevenir la contaminación por especies bacterianas capaces de causar mal olor en la ropa sucia.

En otra forma de realización, la composición es posteriormente adaptada para entregar a una máquina de lavado por aplicaciones que incluyen, pero de forma no limitativa aplicaciones sólidas, semi-sólidas, en gel, líquidas, aerosol, emulsión y/o en polvo solas y/o en combinación con detergentes líquidos, sólidos, semi-sólidos, aerosol, emulsión, y/o en gel, solos y/o en combinación con suavizantes líquidos, sólidos, semi-sólidos, aerosol, emulsión, y/o en gel, y/o solos y/o en combinación con cualquiera otros aditivos de ropa sucia y/o correspondientes al lavado.

[0028] Un aspecto proporciona una composición adaptada para la aplicación a un tejido.

La composición adaptada para suministrar a un tejido puede ser en forma de un sólido, semi-sólido, gel, líquido, aerosol, emulsión, y/o polvo, como un tratamiento para tejidos para prevenir la contaminación por especies bacterianas capaces de causar mal olor en la ropa sucia.

En otra forma de realización, la composición se adapta para suministrar a un tejido por aplicaciones que incluyen, pero de forma no limitativa, aplicaciones sólidas, semi-sólidas, en gel, líquidas, aerosol, emulsión, y/o en polvo solas y/o en combinación con detergentes líquidos, sólidos, semi-sólidos, aerosol, emulsión, y/o en gel, solas y/o en combinación con suavizantes líquidos, sólidos, semi-sólidos, aerosol, emulsión y/o en gel, y/o solo y/o en combinación con cualquier otra ropa sucia y/o aditivo correspondiente al lavado.

[0029] Cuando se usa en unas composiciones de limpieza, la composición puede comprender uno o más constituyentes de composición de limpieza adicionales, tal como, surfactantes y/o opcionalmente otros constituyentes activos, tales como enzimas.

[0030] Los surfactantes pueden ser no iónicos incluyendo semipolares y/o aniónicos y/o catiónicos y/o zwitteriónicos.

Los tensioactivo(s) deberían causar el menor daño a la actividad del cultivo de bacterias como sea posible.

Los surfactantes pueden estar presentes en la composición a un nivel de, por ejemplo, 0.01% a 60% en peso.

[0031] La composición puede contener de aproximadamente 0 a aproximadamente 40% de un tensioactivo aniónico tal como alquilbencenosulfonato lineal, alfa-olefinsulfonato, alquil sulfato (sulfato de alcohol graso), etoxisulfato alcohólico, alcanosulfonato secundario, éster metílico de ácido graso alfa-sulfo, alquil- o ácido alquenilsuccínico o jabón.

[0032] La composición contiene normalmente de aproximadamente 0 a aproximadamente 40% de un tensioactivo no iónico tal como alcohol etoxilato, nonilfenol, etoxilato, alquilpoliglicósido, óxido de alquildimetilamina, monoetanolamida de ácido graso etoxilado, monoetanolamida de ácido graso, polihidroxiálquilácido graso amida o N-alquilo de N-acilon derivados de glucosamina ("glucamidas").

[0033] Se prefieren los surfactantes aniónicos hidrosolubles.

Los ejemplos de surfactantes aniónicos hidrosolubles adecuados incluyen aquellos seleccionados del grupo que consiste en alquilsulfatos, sulfatos de alquiléter, sulfatos de alquilamidoéter, sulfatos de alquil aril poliéter,

sulfatos de alquilaril, sulfonatos de alquilaril, monoglicéridos sulfatos, sulfonatos de alquilo, sulfonatos de alquilamida, sulfonatos de alquilarilo, sulfonatos de benceno, sulfonatos de tolueno, sulfonatos de xileno, sulfonatos de cumeno, alquilbencenosulfonatos, sulfonato de alquildifeniloxideo, sulfonatos de alfa-olefina, sulfonatos de naftaleno de alquilo, sulfonatos de parafina, sulfonatos de lignina, sulfosuccinatos de alquilo, sulfosuccinatos etoxilados, sulfosuccinatos de éter de alquilo, sulfosuccinatos de alquilamida, sulfosuccinamato de alquilo, sulfoacetatos de alquilo, fosfatos de alquilo, fosfato éster, fosfatos de éter de alquilo, sarconsinatos de acilo, isetionatos de acilo, Tauratos de N-acilon, N-acil-N-alquiltauratos y carboxilatos de alquilo.

Los ejemplos de surfactantes aniónicos hidrosolubles preferidos incluyen dodecilsulfato de sodio (lauril sulfato de sodio), laureth sulfato de sodio (lauril éter sulfato de sodio), dodecil benceno sulfonato de sodio, disódico octil sulfosuccinato, butil naftaleno sulfonato de sodio, lauril sulfosuccinato de sodio etoxilado, estearato de sodio y lauroil sarcosina sódica o una mezcla de dos o más.

Los ejemplos de surfactantes aniónicos son también mencionados en la WO 2007/076337 (ver página 7, línea 8 a página 9, línea 3 - que se incorpora en la presente por referencia).

[0034] El tensioactivo no iónico puede preferiblemente ser un tensioactivo no iónico insoluble en agua o un tensioactivo no iónico hidrosoluble o mezclas derivadas.

Los ejemplos de tensioactivos no iónicos adecuados se dan abajo.

Los ejemplos de tensioactivos no iónicos insolubles de agua adecuados incluyen alquilo y arilo: éteres de glicerol, éteres de glicol, etanolamidas, sulfonilamidas, alcoholes, amidas, alcohol etoxilatos, ésteres de glicerol, ésteres de glicol, etoxilatos de éster de glicerol y ésteres de glicol, poliglicósidos de alquilo basados en azúcar, ácidos grasos polioxietilenados, condensados de alcanolamina, alcanolamidas, glicoles acetilénicos terciarios, mercaptanos polioxietilenados, ésteres de ácido carboxílico y glicoles de polioxiproileno polioxietilenado.

Incluidos también son copolímeros bloque EO/PO (EO es óxido de etileno, PO es óxido de propileno), EO polímeros y copolímeros, poliaminas y polivinilpirrolidonas.

Los tensioactivos no iónicos hidrosolubles típicamente tienen un contenido de óxido de etileno más alto en la región hidrofílica del tensioactivo en comparación con tensioactivos no iónicos insolubles en agua.

En una forma de realización, el tensioactivo no iónico hidrosoluble es un alcohol etoxilato primario lineal, secundario o ramificado con la fórmula: $RO(CH_2CH_2O)_nH$, donde R es la longitud de cadena de hidrocarburo y n es el número medio de moles de óxido de etileno.

En una forma de realización preferida R es una longitud de cadena de hidrocarburo primaria lineal, secundaria o ramificada en el rango de C9 a C16 y n varía de 6 a 13.

Preferido especialmente es el alcohol etoxilato donde R es una longitud de cadena de hidrocarburo C9-C11 lineal y n es 6.

Los ejemplos de surfactantes de alcohol etoxilato no iónico hidrosoluble disponible comercialmente incluyen NEODOL™ 91-6, TOMADOL™ 91-6 o BIO-SOFT™ N23-6.5.

Los ejemplos de surfactantes no iónicos son también mencionados en la WO 2007/076337 (ver página 9, línea 5 a página 12, línea 14 - que se incorpora en la presente por referencia).

[0035] Debido al coste de la preparación de composiciones multienzima eficaces, la adición de al menos un microorganismo (p. ej; bacterias) como un ingrediente de eliminación de olor activo pueden ser una alternativa buena y/o rentable para composiciones que comprende, por ejemplo, enzimas monocomponentes.

Los cultivos microbianos (por ejemplo, cultivos bacterianos, tales como cultivos bacterianos naturales o cultivos bacterianos modificados genéticamente vía mutagénesis tradicional y/o dirigida) pueden utilizarse para suministrar enzimas en el cultivo y producir enzimas, incluyendo la demanda en respuesta a la presencia de ciertos compuestos.

Uno o más cultivos microbianos pueden, entre otras cosas, producir una o más enzimas para producir un efecto de limpieza, para completamente degradar un compuesto y/o usar los componentes y energía de la acción enzimática para producir más bacterias.

Un cultivo bacteriano puede también ventajosamente ser usado para al menos enzimas sustitutas parcialmente en el lavado, eliminación de olor o composiciones de limpieza.

En una forma de realización, la composición comprende de 0.1-90 % en peso del cultivo, preferiblemente 0.5-50 % en peso de cultivo, especialmente de 1-10 % en peso de cultivo.

[0036] Una o más enzimas pueden estar presentes en una composición.

Enzimas contempladas especialmente incluyen proteasas, alfa-amilasas, celulasas, lipasas, fosfolipasas, peroxidasa/oxidasa, pectato liasas y mananasas, o mezclas derivadas.

[0037] Las proteasas adecuadas incluyen aquellas de origen animal, vegetal o microbiano.

El origen microbiano es preferido.

Los mutantes químicamente modificados o creados genéticamente de proteína son incluidos.

La proteasa puede ser una proteasa serínica o una metalo proteasa, preferiblemente, una proteasa microbiana alcalina o una proteasa de tipo tripsina.

Los ejemplos de proteasas alcalinas son subtilisin, especialmente aquellos derivados de *Bacillus*, por ejemplo, subtilisina Novo, subtilisina Carlsberg, subtilisina 309, subtilisina 147 y subtilisina 168 (descrita en la WO 89/06279).

Los ejemplos de proteasas de tipo tripsina son tripsina (por ejemplo, de origen porcino o bovino) y la proteasa de *Fusarium* descrita en la WO 89/06270 y la WO 94/25583.

Los ejemplos de proteasas útiles son las variantes descritas en la WO 92/19729, WO 98/20115, WO 98/20116 y WO 98/34946, especialmente las variantes con sustituciones en una o más de las siguientes posiciones: 27, 36, 57, 76, 87, 97, 101, 104, 120, 123, 167, 170, 194, 206, 218, 222, 224, 235 y 274.

Las enzimas proteásicas disponibles comercialmente preferidas incluyen ALCALASE™, SAVINASE™, PRIMASE™, DURALASE™, DYRAZYM™, ESPERASE™, EVERLASE™, POLARZYME™ y KANNASE™, LIQUANASE™ (Novozymes A/S), MAXATASE™, MAXACALT™, PROPERASE™ de MAXAPEM™, PURAFECT™, OXP™ PURAFECT, FN2™ y FN3™ (Genencor internacional Inc.).

[0038] Las lipasas adecuadas incluyen aquellas de origen bacteriano o fúngico.

Los mutantes químicamente modificados o creados genéticamente de proteína están incluidos.

Los ejemplos de lipasas útiles incluyen lipasas de *Humicola* (sinónimo *Thermomyces*), por ejemplo, de *H. lanuginosa* (*T. lanuginosus*) como se describe en la EP 258 068 y EP 305 216 o de *H. insolens* como se describe en la WO 96/13580, una *Pseudomonas lipasa*, por ejemplo, de *P. Genes alcalinos* o *P. Pseudoalcaligenes* (EP 218 272), *P. Cepacia* (EP 331 376), *P. Stutzeri* (GB 1,372,034), *P. Fluorescens*, *Pseudomonas sp.* Cepa SD 705 (WO 95/06720 y WO 96/27002), *P. Wisconsinensis* (WO 96/12012), una *Bacillus lipasa*, por ejemplo, de *B. Subtilis* (Dartois et al., 1993, Biochemica et Biophysica Acta 1131: 253-360), *B. Stearothermophilus* (JP 64/744992) o *B. Pumilus* (WO 91/16422).

Otros ejemplos son variantes de lipasa tales como los descritos en la WO 92/05249, WO 94/01541, EP 407 225, EP 260 105, WO 95/35381, WO 96/00292, WO 95/30744, WO 94/25578, WO 95/14783, WO 95/22615, WO 97/04079 y WO 97/07202.

Las enzimas de lipasa disponibles comercialmente preferidas incluyen LIPOLASE™ y LIPOLASE ULTRA™, LIPOZYME™ y LIPEX™ (Novozymes A/S).

[0039] Las cutinasas clasificadas en EC 3.1.1.74 también pueden ser usadas.

Las cutinasas son enzimas que son capaces de degradar cutina.

La cutinasa puede ser de cualquier origen.

Preferiblemente, las cutinasas son de origen microbiano, en particular, de origen bacteriano, fúngico o de levadura.

En una forma de realización preferida, la cutinasa se deriva de una cepa de *Aspergillus*, en particular *Aspergillus oryzae*, una cepa de *Alternaria*, en particular *Alternaria brassiciola*, una cepa de *Fusarium*, en particular *Fusarium solani*, *Fusarium solani pisi*, *Fusarium roseum culmorum* o *Fusarium roseum sambucium*, una cepa de *Helminthosporium*, en particular *Helminthosporium sativum*, una cepa de *Humicola*, en particular *Humicola insolens*, una cepa de *Pseudomonas*, en particular *Pseudomonas mendocina* o *Pseudomonas putida*, una cepa de *Rizoctonia*, en particular *Rizoctonia solani*, una cepa de *Streptomyces*, en particular *Streptomyces scabies* o una cepa de *Ulocladium*, en particular *Ulocladium consortiale*.

En una forma de realización más preferida, la cutinasa se deriva de una cepa de *Humicola insolens*, en particular la cepa *Humicola insolens* DSM 1800.

Cutinasa de *Humicola insolens* se describe en la WO 96/13580 que aquí se incorpora por referencia.

La cutinasa puede ser una variante, tal como una de las variantes descritas en la WO 00/34450 y WO 01/92502, que en la presente se incorporan por referencia.

Las variantes de cutinasa preferida incluyen variantes enumeradas en el ejemplo 2 de la WO 01/92502, que en la presente específicamente se incorpora por referencia. Las cutinasas comerciales preferidas incluyen NOVOZYM™ 51032 (disponibles de Novozymes A/S, Dinamarca).

[0040] Las fosfolipasas se clasifican como EC 3.1.1.4 y/o EC 3.1.1.32.

Como se utiliza en este caso, el término fosfolipasa es una enzima que tiene actividad hacia fosfolípidos.

Fosfolípidos, tal como lecitina o fosfatidilcolina, consisten en glicerol esterificado con dos ácidos grasos en una posición externa (sn-1) y la media (sn-2) y esterificados con ácido fosfórico en la tercera posición; el ácido fosfórico, sucesivamente, se puede esterificar a un aminoalcohol.

Las fosfolipasas son enzimas que participan en la hidrólisis de fosfolípidos.

Diferentes tipos de actividad fosfolipásica pueden particularizarse, con fosfolipasas A₁ y A₂ que hidrolizan un grupo acilo graso (en la posición sn-1 y sn-2, respectivamente) para formar lisofosfolípido; y lisofosfolipasa (o fosfolipasa B) que puede hidrolizar el grupo acilo graso restante en el lisofosfolípido.

La fosfolipasa C y (fosfodiesterasas) fosfolipasa D liberan diacil glicerol o ácido fosfatídico respectivamente.

La término fosfolipasa incluye enzimas con actividad fosfolipásica, por ejemplo, fosfolipasa A (A₁ o A₂), actividad fosfolipásica B, actividad de fosfolipasa C o actividad de fosfolipasa D.

El término "fosfolipasa A" usado aquí en relación con una enzima se destina a cubrir una enzima con fosfolipasa A₁ y/o actividad fosfolipásica A₂.

La actividad fosfolipásica puede estar prevista por enzimas que tienen otras actividades también, tal como, por ejemplo, una lipasa con actividad fosfolipásica.

La actividad fosfolipásica puede ser, por ejemplo, a partir de una lipasa con actividad fosfolipásica lateral.

En otros ejemplos de realización, la actividad enzimática de fosfolipasa se proporciona por una enzima con esencialmente solo actividad fosfolipásica y donde la actividad enzimática de fosfolipasa no es una actividad secundaria.

[0041] La fosfolipasa puede ser de cualquier origen, por ejemplo, de origen animal (tal como, por ejemplo, mamífero), por ejemplo, de páncreas (por ejemplo, bovino o páncreas porcino), o veneno de serpiente o veneno de abeja.

5 Preferiblemente, la fosfolipasa puede ser de origen microbiano, por ejemplo, de hongos filamentosos, levadura o bacterias, tal como el género o especies *Aspergillus*, por ejemplo, *A. Niger*; *Dictyostelium*, por ejemplo, *D. Discoideum*; *Mucor*, por ejemplo, *M. Javanicus*, *M. Mucedo*, *M. Subtilissimus*; *Neurospora*, por ejemplo, *N. Crassa*; *Rhizomucor*, por ejemplo, *R. Pusillus*; *Rhizopus*, por ejemplo, *R. Arrhizus*, *R. japonicus* *R. Stolonifer*, *Sclerotinia*, por ejemplo, *S. Libertiana*; *Trichophyton*, por ejemplo, *T. Rubrum*; *Whetzelinia*, por ejemplo, *W.*

10 *Sclerotiorum*; *Bacillus*, por ejemplo, *B. Megaterium*, *B. Subtilis*; *Citrobacter*, por ejemplo, *C. Freundii*; *Enterobacter*, por ejemplo, *E. Aerogenes*, *E. Cloacae*; *Edwardsiella*, *E. Tarda*; *Erwinia*, por ejemplo, *E. Herbicola*; *Escherichia*, por ejemplo, *E. Coli*; *Klebsiella*, por ejemplo, *K. Pneumoniae*; *Proteus*, por ejemplo, *P. Vulgaris*; *Providencia*, por ejemplo, *P. Stuartii*; *Salmonella*, por ejemplo, *S. Typhimurium*; *Serratia*, por ejemplo, *S. Liquefasciens*, *S. Marcescens*; *Shigella*, por ejemplo, *S. Flexneri*; *Streptomyces*, por ejemplo, *S. Violeceoruber*, *Yersinia*, por ejemplo, *Y. Enterocolitica*.

15 Así, la fosfolipasa puede ser fúngica, por ejemplo, desde la clase *Pyrenomycetes*, tal como el género *Fusarium*, tal como una cepa de *F. Culmorum*, *F. Heterosporum*, *F. Solani* o una cepa de *F. Oxysporum*.

La fosfolipasa también puede ser a partir de una cepa de hongo filamentosos en el género *Aspergillus*, tal como una cepa de *Aspergillus awamori*, *Aspergillus foetidus*, *Aspergillus japonicus*, *Aspergillus niger* o *Aspergillus oryzae*.

20 Las fosfolipasas preferidas se derivan a partir de una cepa de *Humicola*, especialmente *Humicola lanuginosa*.

La fosfolipasa puede ser una variante, tal como una de las variantes descritas en la WO 00/32758, que en la presente se incorporan aquí por referencia.

25 Las variantes de fosfolipasa preferidas incluyen variantes enumeradas en el ejemplo 5 de la WO 00/32758, que en la presente específicamente se incorporan por referencia.

En otra forma de realización preferida, la fosfolipasa es una descrita en la WO 04/111216, especialmente las variantes enumeradas en la tabla en el ejemplo 1.

En otra forma de realización preferida, la fosfolipasa se deriva de una cepa de *Fusarium*, especialmente *Fusarium oxysporum*.

30 La fosfolipasa puede ser la afectada en la WO 98/026057 visualizada en la SEQ ID N.º: 2 derivada de *Fusarium oxysporum* DSM 2672 o variantes de las mismas.

En una forma de realización preferida, la fosfolipasa es una fosfolipasa A1 (EC. 3.1.1.32).

En otra forma de realización preferida, la fosfolipasa es una fosfolipasa A2 (EC.3.1.1.4.). Ejemplos de fosfolipasas comerciales incluyen LECITASE™ y LECITASE™ ULTRA, YIELSMAX o LIPOPAN F (disponible de

35 Novozymes A/S, Dinamarca).

[0042] Las amilasas adecuadas (alfa y/o beta) incluyen aquellas de origen bacteriano o fúngico.

Se incluyen los mutantes químicamente modificados o creados genéticamente de proteína.

40 Las amilasas incluyen, por ejemplo, alfa-amilasas obtenidas de *Bacillus*, por ejemplo, una cepa especial de *B. Licheniformis*, descrita con más detalle en GB 1,296,839 o las cepas de la especie *Bacillus* descritas en la WO 95/026397 o WO 00/060060.

Los ejemplos de amilasas útiles son las variantes descritas en la WO 94/02597, WO 94/18314, WO 96/23873, WO 97/43424, WO 01/066712, WO 02/010355, WO 02/031124 y WO 2006/002643 (cuyas referencias están todas incorporadas por referencia).

45 Las amilasas disponibles comercialmente son DURAMYL™, TERMAMYL™, ULTRA™ de TERMAMYL, NATALASE™, ULTRA™ STAINZYME de STAINZYME™, FUNGAMYL™ y BAN™ (Novozymes A/S), RAPIDASE™ y PURASTAR™ (de Genencor internacional Inc.).

[0043] Las celulasas adecuadas incluyen aquellas de origen bacteriano o fúngico.

50 Los mutantes químicamente modificados o creados genéticamente de la proteína se incluyen.

Las celulasas adecuadas incluyen celulasas de los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Humicola*, *Fusarium*, *Thielavia*, *Acremonium*, por ejemplo, las celulasas fúngicas producidas de *Humicola insolens*, *Thielavia terrestris*, *Myceliophthora thermophila* y *Fusarium oxysporum* descrito en US 4,435,307, US 5,648,263, US 5,691,178, US 5,776,757, WO 89/09259, WO 96/029397 y WO 98/012307.

55 [0044] Las celulasas adecuadas especialmente son las celulasas alcalinas o neutrales que tienen beneficios de cuidado de color.

Los ejemplos de tales celulasas son celulasas descritas en la EP 0 495 257, EP 0 531 372, WO 96/11262, WO 96/29397, WO 98/08940.

60 Otros ejemplos son variantes de celulasas tales como los descritos en la WO 94/07998, EP 0 531 315, US 5,457,046, US 5,686,593, US 5,763,254, WO 95/24471, WO 98/12307 y WO 1999/001544.

[0045] Las celulasas disponibles comercialmente incluyen CELLUZYME™, CELLUCLAST™, CAREZYME™, ENDOLASE™, RENOZYME™ (Novozymes A/S), CLAZINASE™ y PURADAX HAT™, ACCELERASE™ 1000

65 (Genencor Internacional Inc.) y KAC-500(B)™ (Kao Corporation).

[0046] Las peroxidadas/oxidadas adecuadas incluyen aquellas de origen vegetal, bacteriano o fúngico.

Se incluyen los mutantes químicamente modificados o creados genéticamente de proteína.

Los ejemplos de peroxidadas útiles incluyen peroxidadas de *Coprinus*, por ejemplo, de *C. Cinereus* y variantes de las mismas como aquellas descritas en la WO 93/24618, WO 95/10602 y WO 98/15257.

5 Las peroxidadas disponibles comercialmente incluyen Guardzyme™ y Novozym™ 51004 (Novozymes A/S).

[0047] Las pectato liasas (también llamadas liasas de poligalacturonato) también pueden ser usadas.

Los ejemplos de pectato liasas incluyen pectato liasas que han sido clonadas de distintos géneros bacterianos tal como *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* y *Xanthomonas*, al igual que de *Bacillus subtilis* (Nasser et al., 1993, FEBS Letts. 335:319-326) y especie *Bacillus*. YA-14 (Kim et al., 1994, Biosci.Biotech.Biochem. 58: 947-949).

10 Purification of pectate lyases with maximum activity in the pH range of 8-10 produced by *Bacillus pumilus* (Dave and Vaughn, 1971, J.Bacteriol. 108: 166-174), *B. polymyxa* (Nagel and Vaughn, 1961, Arch.Biochem.Biophys. 93: 344-352), *B. stearothermophilus* (Karbassi and Vaughn, 1980, Can.J. Microbiol. 26: 377-384), *Bacillus* sp.

(Hasegawa and Nagel, 1966, J.Food Sci. 31: 838-845) and *Bacillus* sp.RK9 (Kelly and Fogarty, 1978, Can.J.

15 Microbiol. 24: 1164-1172) también se han descrito.

Cualquiera de los anteriores, al igual que pectato liasas independientes de catión bivalentes y/o termoestables se pueden utilizar al poner en práctica la invención.

En ejemplos de realización preferidos, la pectato liasa comprende la secuencia de aminoácidos de una pectato liasa descrita en Heffron et al., 1995, Mol.Plant-Microbe Interact. 8: 331-334 and Herrissat et al., 1995, Plant

20 Physiol. 107: 963-976.

Pectato liasas en concreto contempladas se describen en la WO 99/27083 y WO 99/27084.

Otras pectato liasas en concreto contempladas derivadas de *Bacillus licheniformis* están descritas como la SEQ ID N.º: 2 en la patente EEUU nº 6,284,524 (cuyo documento se incorpora en la presente por referencia).

25 Las variantes de pectato liasa en concreto contempladas se describen en la WO 02/006442, especialmente las variantes descritas en los ejemplos en la WO 02/006442 (cuyo documento se incorpora en la presente por

referencia).

Los ejemplos de pectato liasas alcalinas disponibles comercialmente incluyen BIOPREP™ y SCOURZYME™ L de Novozymes A/S, Dinamarca.

30 [0048] Los ejemplos de mananasas (EC 3.2.1.78) incluyen mananasas de origen bacteriano y fúngico.

En una forma de realización específica, la mananasa se deriva de una cepa del género de hongo filamentoso *Aspergillus*, preferiblemente *Aspergillus niger* o *Aspergillus aculeatus* (WO 94/25576).

La WO 93/24622 divulga una mananasa aislada de *Trichoderma reesei*.

Las mananasas también han sido aisladas de diferentes bacterias, con organismos de *Bacillus*.

35 Por ejemplo, Talbot et al., 1990, Appl.Environ.Microbiol. 56(11): 3505-3510 describe una beta mananasa derivada de *Bacillus stearothermophilus*.Mendoza et al., 1994, World J. Microbiol.Biotech. 10(5): 551-555

describe una beta mananasa derivada de *Bacillus subtilis*. JP-A-03047076 divulga una beta mananasa derivada de la especie *Bacillus*.

JP-A-63056289 describe la producción de una beta mananasa alcalina termoestable.

40 JP-A-63036775 se refiere al microorganismo de *Bacillus* FERM P-8856 que produce beta mananasa y beta manosidasa.

JP-A-08051975 divulga beta mananasas alcalinas de la especie *Bacillus* alcalofílica AM-001.

Una mananasa purificada de *Bacillus amyloliquefaciens* se describe en la WO 97/11164.

La WO 91/18974 describe una hemicelulasa tal como una glucanasa, xilanasa o mananasa activa.

45 Se contemplan las mananasas de familia alcalina 5 y 26 derivadas de *Bacillus agaradhaerens*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus halodurans*, *Bacillus clausii*, especie *Bacillus*., y *Humicola insolens* descrita en la WO

99/64619.

Se contemplan especialmente las mananasas de la especie *Bacillus* afectada en los ejemplos en la WO

50 99/64619 cuyo documento se incorpora en la presente por referencia.

Los ejemplos de mananasas disponibles comercialmente incluyen MANNAWAY™ disponible de Novozymes A/S Dinamarca.

[0049] Las enzimas se pueden estabilizar utilizando agentes estabilizantes convencionales, por ejemplo, un poliol

55 tal como propilenglicol o glicerol, un azúcar o alcohol de azúcar, ácido láctico, ácido bórico o un derivado de ácido bórico, por ejemplo, un éster de borato aromático o un derivado de ácido borónico de fenilo tal como 4-

formilfenil ácido borónico y la composición se puede formular como se describe en por ejemplo la WO 92/19709

y WO 92/19708.

[0050] Además de surfactantes y/o enzimas, otros constituyentes contemplados que se pueden incluir en las

60 composiciones de limpieza incluyen sales, sales tampón, hidrotropos, conservantes, productos de relleno, constructores, agentes complejantes, polímeros, estabilizadores, perfumes, bioestimulantes o nutrientes, dispersantes, agentes anti-microbianos, fragancias, colorantes, y biocidas, o combinaciones de uno o más de los

mismos.

65 [0051] Las sales o sales tampón pueden ser cualquier sal inorgánica conocida, pero es preferiblemente una sal seleccionada del grupo que consiste en sales de metal alcalino de nitratos, acetatos, cloruros, bromuros,

yoduros, sulfatos, hidróxidos, carbonatos, carbonatos de hidrógeno, (llamados también bicarbonatos), fosfatos, sulfuros y sulfitos; sales amónicas de nitratos, acetatos, cloruros, bromuros, yoduros, sulfatos, hidróxidos, carbonatos, carbonatos de hidrógeno (llamados también bicarbonatos), fosfatos, sulfuros y sulfitos; sales de metal alcalinotérreo de nitratos, cloruros, bromuros, yoduros, sulfatos, sulfuros, y carbonatos de hidrógeno; manganeso, hierro, cobre, y sales de zinc de nitratos, acetatos, cloruros, bromuros, yoduros, y sulfatos; citratos y boratos.

[0052] Contemplados especialmente son carbonatos o bicarbonatos, en particular, seleccionados del grupo que consiste en carbonato de sodio y bicarbonato sódico o una mezcla de los mismos.

En una forma de realización específica, la proporción entre carbonato de sodio y bicarbonato sódico es entre 1:10 a 10:1.

[0053] La cantidad total de sales y/o sales tampón es preferiblemente entre 0.8 a 8 % en peso, preferiblemente 1-5 % en peso, más preferiblemente alrededor de 2 % en peso de la composición de limpieza en uso final.

[0054] El término "hidrótopo" significa generalmente un compuesto con la capacidad de aumentar las solubilidades, solubilidades preferiblemente acuosas, de compuestos orgánicos solubles determinados ligeramente.

Los ejemplos de hidrótopos incluyen sulfonato de xileno de sodio (SXS) y Cumeno sulfonato de sodio (SCS).

[0055] La composición puede contener un agente quelante de metal tales como carbonatos, bicarbonatos y sesquicarbonatos.

[0056] La composición puede comprender un solvente tal como agua o un solvente orgánico tal como alcohol isopropílico o un éter de glicol.

[0057] La composición también puede contener 0-65 0-65 % de un constructor o agente complejante tal como zeolita, fosfatos, tal como difosfato, trifosfato, fosfonato, carbonato, citrato, ácido nitrilotriacético, ácido etilendiaminatetraacético, ácido dietilenoetriaminopentaacético, ácido alquil- o alquenilsuccínico, silicatos, tales como silicatos solubles, metasilicatos, silicatos estratificados (por ejemplo SKS-6 de Hoechst).

[0058] La composición puede comprender uno o más polímeros.

Los ejemplos son carboximetilcelulosa, poli(vinilpirrolidona, poli (etilenglicol), alcohol poli(vinílico), poli(vinilpiridina-N-óxido), poli(vinilimidazol), policarboxilatos tales como poliacrilatos, copolímeros de ácido maléico/acrílico y copolímeros de ácido de lauril metacrilato/acrílico.

[0059] En particular, para composiciones detergentes, la composición también puede contener otros constituyentes de detergentes convencionales tales como, por ejemplo tejidos acondicionadores incluyendo arcillas, potenciadores de espuma, supresores de espuma, agentes anticorrosivos, agentes suspensores de suciedad, agentes antiredeposición de suciedad, colorantes, bactericidas, blanqueadores ópticos, hidrótopos, inhibidores de decoloración o perfumes.

En una forma de realización, la composición sólida contiene los siguientes constituyentes: hidrótopos, tensoactivos no iónicos o aniónicos, constructores, carbonatos para control de pH y quelación metálica, solventes, productos de relleno, tinte, perfume y agente de blanqueamiento fluorescente.

[0060] Los aceites esenciales también pueden estar incluidos, tal como palisandro, semilla de apio, incienso, Ylang ylang, madera de cedro, lima, naranja, Petitgrain, bergamota, limón, pomelo, mandarina, mirra, cilantro, calabaza, ciprés, hierba limón, Palmarosa, citronela, semilla de zanahoria, eucalipto, hinojo, gaulteria, enebro, cantueso, lavanda de Tasmania, Macadamia, árbol de té, cayeput, Niaouli, menta, hierbabuena, albahaca, onagra vespertina, mejorana, orégano, geranio, anís, laurel, pino, pimienta negra, pachulí, grano de albaricoque, almendra dulce, romero, salvia, salvia de amaro, sándalo, clavo de olor, tomillo, Vetiver y jengibre.

La guía adicional con relación a la selección de aceites esenciales apropiados se puede encontrar en Hammer, K.A., et al., J.Applied Microbiol., 86:985-990 (1999), incorporada aquí por referencia para su divulgación de extractos de aceites/planta esenciales y su actividad antimicrobiana.

[0061] Se describen ejemplos adicionales, al menos en parte, por los siguientes párrafos numerados:

1. Método de inhibición o que previene la producción de mal olor de la ropa sucia provocado por al menos una bacteria que causa mal olor o al menos una bacteria capaz de causar mal olor, que comprende el contacto de un tejido o una máquina de lavar la ropa con al menos un microorganismo capaz de inhibir o que previene la producción de mal olor provocado por al menos una bacteria que causa mal olor o al menos una bacteria capaz de causar mal olor.

2. Método según la reivindicación 1, donde el método comprende el contacto al menos de una bacteria que causa mal olor o al menos una bacteria capaz de causar el mal olor de la ropa sucia.

3. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde el método comprende el contacto de un compuesto generador de olor derivado de al menos una bacteria que causa mal olor o al menos una bacteria capaz de causar olor.
- 5 4. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde el contacto comprende la administración de al menos un microorganismo a una máquina de lavar la ropa sucia.
5. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde el contacto se hace durante un proceso de lavado.
- 10 6. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde el contacto se produce en una máquina de lavado nueva.
- 15 7. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, donde el contacto se produce en una máquina de lavado seguida de uno o más usos de dicha máquina de lavado.
8. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, donde al menos un microorganismo es al menos una especie de *Bacillus*.
- 20 9. Método según la reivindicación 8, donde al menos una especie de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus atrofaeus* y combinaciones de los mismos.
- 25 10. Método según cualquiera de las reivindicaciones 8-9, donde al menos una especie de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50017, cepa *Bacillus atrofaeus* PTA-7792; cepa *Bacillus atrofaeus* PTA-7543; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50018; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7545; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus subtilis* PTA-7547; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7790; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50014; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50015; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50706; y combinaciones de las mismas.
- 35 11. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde al menos una bacteria que causa mal olor o al menos una bacteria capaz de causar mal olor es al menos una especie bacteriana seleccionada del grupo que consiste en *Bacillus amyloliquefaciens*, *Acinetobacter junii*, *Bacillus subtilis*, *Janibacter melois*, *Sphingobium ummariense*, *Sphingomonas panni*, *Sphingomonadaceae sp.*, *Actinobacter tandoii*, *Junibacter melón es*, *Curtobacterium flaccumfaciens*, *Flavobacterium denitrificans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Leclercia adecarboxilata*, *Enterobacter sp.*, *Cronobacter sakazakii*, *Bacillus megaterium*, *Sphingobacterium faecium*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas veronii*, *Microbacterium luteolum*, *Morganella morgani*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas sp.*, *Pseudomonas-marginalis*, *Citrobacter sp.*, cepa de *Escherichia coli* JCLys5, *Roseomonas*, acuática *Pseudomonas panipatensis*, *Brevibacillus subtilis subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus pumilus*, *Ralstonia eutropha*, *Caulobacter fusiformis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Rhodococcus opacus*, *Breviundimonas intermedia*, *Agrobacterium tumefaciens* y combinaciones de las mismas.
- 40 12. Método de inhibición o que previene la producción del mal olor en la ropa sucia provocado por *Bacillus amyloliquefaciens* que comprende el contacto de un tejido o una máquina de lavado de lavandería con al menos una cepa de *Bacillus* es capaz de inhibir o prevenir la producción del mal olor provocado por *Bacillus amyloliquefaciens* donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa *Bacillus atrofaeus* PTA-7543; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50017; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; y combinaciones de las mismas.
- 50 13. Método según la reivindicación 12, donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en la cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50017; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; y combinaciones de las mismas.
- 60 14. Método según cualquiera de las reivindicaciones 12-13, donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en la cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus*
- 65

amyloliquefaciens NRRL B-50017; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399; y combinaciones de las mismas.

15. Método de inhibición o que previene la producción del mal olor de la ropa sucia provocado por *Acinetobacter junii* que comprende el contacto de un tejido o una máquina de lavado de ropa sucia con al menos una cepa de *Bacillus* capaz de inhibir o prevenir la producción del mal olor provocado por *Acinetobacter junii* donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399; y combinaciones de las mismas.

16. Método según la reivindicación 15, donde al menos una cepa de *Bacillus* es cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399.

17. Método de inhibición o que previene la producción del mal olor de la ropa sucia provocado por *Bacillus subtilis* que comprende el contacto de un tejido o una máquina de lavado de ropa sucia con al menos una cepa de *Bacillus* capaz de inhibir o prevenir la producción del mal olor provocado por *Bacillus subtilis* donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus atrofaeus* PTA-7543; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50017; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7545; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7790; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399; y combinaciones de las mismas.

18. Método según la reivindicación 17, donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7545; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7790; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399; y combinaciones de las mismas.

19. Método según cualquiera de las reivindicaciones 17-18, donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; y combinaciones de las mismas.

20. Método de inhibición o prevención de la producción del mal olor de la ropa sucia provocado por *Janibacter melonis* que comprende el contacto de un tejido o una máquina de lavado de ropa sucia con al menos una cepa de *Bacillus* capaz de inhibir o prevenir la producción del mal olor provocado por *Janibacter melonis* donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50014; cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50017; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus atrofaeus* PTA-7543; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7545; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus subtilis* PTA-7547; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; y combinaciones de las mismas.

21. Método según la reivindicación 20, donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50017; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; y combinaciones de las mismas.

22. Método según cualquiera de las reivindicaciones 20-21, donde al menos una cepa de *Bacillus* es cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; y combinaciones de las mismas.

23. Método de inhibición o prevención de la producción del mal olor de la ropa sucia provocado por *Sphingobium ummariense* que comprende el contacto de un tejido o una máquina de lavado de lavandería con al menos una cepa de *Bacillus* capaz de inhibir o prevenir la producción del mal olor provocado por *Sphingobium ummariense*, donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50018; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; y combinaciones de las mismas.

24. Método según la reivindicación 23, donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50018; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; y combinaciones de las mismas.

25. Método según cualquiera de las reivindicaciones 23-24, donde al menos una cepa de *Bacillus* es cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549.
- 5 26. Método de inhibición o prevención de la producción del mal olor de la ropa sucia provocado por *Sphingomonas panni* que comprende el contacto de un tejido o una máquina de lavado de ropa sucia con al menos una cepa de *Bacillus* capaz de inhibir o prevenir la producción del mal olor provocado por *Sphingomonas panni* donde al menos una cepa de *Bacillus* es cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50017; y combinaciones de las mismas.
- 10 27. Método de inhibición o prevención de la producción del mal olor de la ropa sucia provocado por bacterias de la familia *Sphingomonadaceae* que comprende el contacto de un tejido o una máquina de lavado de ropa sucia con al menos una cepa de *Bacillus* capaz de inhibir o prevenir la producción de mal olor provocado por bacterias de la familia *Sphingomonadaceae* donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50017; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50018; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; y combinaciones de las mismas.
- 15 28. Método según la reivindicación 27, donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; y combinaciones de las mismas.
- 20 29. Método según cualquiera de las reivindicaciones 27-28, donde al menos una cepa de *Bacillus* es cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541.
- 25 30. Método de inhibición o prevención de la producción del mal olor de la ropa sucia provocada por *Acinetobacter tandoii* que comprende el contacto de un tejido o una máquina de lavado de ropa sucia con al menos una cepa de *Bacillus* capaz de inhibir o prevenir la producción del mal olor provocado por *Acinetobacter tandoii* donde al menos una cepa de *Bacillus* es cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549.
- 30 31. Método de inhibición o prevención de la producción del mal olor de la ropa sucia provocado por *Curtobacterium flaccumfaciens* que comprende el contacto de un tejido o una máquina de lavado de ropa sucia con al menos una cepa de *Bacillus* capaz de inhibir o prevenir la producción del mal olor provocado por *Curtobacterium flaccumfaciens* donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus subtilis* PTA-7547; y combinaciones de las mismas.
- 35 32. Método según la reivindicación 31, donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus subtilis* PTA-7547; y combinaciones de las mismas.
- 40 33. Método según cualquiera de las reivindicaciones 31-32, donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus subtilis* PTA-7547; y combinaciones de las mismas.
- 45 34. Método de inhibición o prevención de la producción del mal olor de la ropa sucia provocado por *Flavobacterium denitrificans* que comprende el contacto de un tejido o una máquina de lavado de ropa sucia con al menos una cepa de *Bacillus* capaz de inhibir o prevenir la producción del mal olor provocado por *Flavobacterium denitrificans* donde al menos una cepa de *Bacillus* es cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136.
- 50 35. Método de inhibición o prevención de la producción del mal olor de la ropa sucia provocado por *Staphylococcus epidermidis* que comprende el contacto de un tejido o una máquina de lavado de ropa sucia con al menos una cepa de *Bacillus* capaz de inhibir o prevenir la producción del mal olor provocado por *Staphylococcus epidermidis* donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50018; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7545; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7790; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50017; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50014; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50015; y combinaciones de las mismas.
- 55 36. Método según la reivindicación 35, donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50018; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; cepa de
- 60 65

Bacillus amyloliquefaciens PTA-7545; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7790; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50015; y combinaciones de las mismas.

37. Método según cualquiera de las reivindicaciones 35-36, donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50018; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7545; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7790; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50015; y combinaciones de las mismas.

38. Método de inhibición o prevención de la producción del mal olor de la ropa sucia provocado por *Escherichia coli* que comprende el contacto de un tejido o una máquina de lavado de ropa sucia con al menos una cepa de *Bacillus* capaz de inhibir o prevenir la producción del mal olor provocado por *Escherichia coli* donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50017; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50018; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7545; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7790; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50014; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50015; y combinaciones de las mismas.

39. Método de inhibición o prevención de la producción del mal olor de la ropa sucia provocado por *Leclercia adecarboxilata* que comprende el contacto de un tejido o una máquina de lavado de ropa sucia con al menos una cepa de *Bacillus* capaz de inhibir o prevenir la producción del mal olor provocado por *Leclercia adecarboxilata* donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionado del grupo que consiste en cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50017; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50018; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7545; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7790; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50014; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50015; y combinaciones de las mismas.

40. Método de inhibición o prevención de la producción del mal olor de la ropa sucia provocado por *Enterobacter sp.* que comprende el contacto de un tejido o una máquina de lavado de ropa sucia con al menos una cepa de *Bacillus* capaz de inhibir o prevenir la producción del mal olor provocado por *Enterobacter sp.* donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50017; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50018; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7545; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7790; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50014; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50015; y combinaciones de las mismas.

41. Método de inhibición o prevención de la producción del mal olor de la ropa sucia provocado por *Cronobacter sakazakii* que comprende el contacto de un tejido o una máquina de lavado de ropa sucia con al menos una cepa de *Bacillus* capaz de inhibir o prevenir la producción del mal olor provocado por *Cronobacter sakazakii* donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50017; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50018; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7545; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7790; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50014; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50015; y combinaciones de las mismas.

62. Método de inhibición o prevención de la producción del mal olor de la ropa sucia provocado por *Breviundimonas intermedia* que comprende el contacto de un tejido o una máquina de lavado de ropa sucia con al menos una cepa de *Bacillus* capaz de inhibir o prevenir la producción del mal olor provocado por *Breviundimonas intermedia* donde al menos una cepa de es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50017; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50018; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7545; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7790; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50014; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50015; y combinaciones de las mismas.

63. Método de inhibición o prevención de la producción del mal olor de la ropa sucia provocado por *Agrobacterium tumefaciens* que comprende el contacto de un tejido o una máquina de lavado de ropa sucia con al menos una cepa de *Bacillus* capaz de inhibir o prevenir la producción del mal olor provocado por *Agrobacterium tumefaciens* donde al menos una cepa de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50017; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50018; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7545; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7790; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50014; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50015; y combinaciones de las mismas.

64. Composición adaptada para la aplicación en el interior de una máquina de lavado que comprende un portador y al menos un microorganismo.

65. Composición según la reivindicación 64, donde al menos un microorganismo es al menos una especie de *Bacillus*.

66. Composición según la reivindicación 65, donde al menos una especie de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus atrofaeus* y combinaciones de las mismas.

67. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 65-66, donde al menos una especie de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa de *Bacillus atrofaeus* PTA-7792; de *Bacillus atrofaeus* PTA-7543; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50018; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7545; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus subtilis* PTA-7547; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7790; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50014; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50015; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50706; y combinaciones de las mismas.

68. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 64-67, donde la composición es un sólido, semi-sólido, gel, líquido, aerosol, emulsión o polvo.

69. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 64-68, que comprende además un tensioactivo

70. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 64-69, que comprende además una o más enzimas.

71. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 64-70, donde la enzima es seleccionada del grupo que consiste en proteasas, alfa-amilasas, celulasas, lipasas, peroxidasa/oxidasas, pectato liasas y mananasas o mezclas derivadas.

72. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 64-71, que comprende además uno o más constituyentes seleccionados del grupo que consiste en dispersantes, estabilizadores, agentes antimicrobianos, fragancias, colorantes y biocidas.

73. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 64-72, donde la composición es sólida, semi-sólida, en gel, líquida, aerosol, emulsión o composición en polvo adaptada para la aplicación como un detergente, suavizante o cualquier otro aditivo de ropa sucia.
- 5 74. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 64-73, donde el último microorganismo es capaz de inhibir o prevenir la producción del mal olor provocado por al menos una bacteria que causa mal olor o al menos una bacteria capaz de causar mal olor.
- 10 75. Composición adaptada a la aplicación a un tejido que comprende un portador que contiene al menos un microorganismo.
76. Composición según la reivindicación 75, donde al menos un microorganismo es al menos una especie de *Bacillus* o una sustancia derivada de esta.
- 15 77. Composición según la reivindicación 76, donde al menos una especie de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus atrofaeus* y combinaciones de las mismas.
- 20 78. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 76-77, donde al menos una especie de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50017, cepa *Bacillus atrofaeus* PTA-7792; cepa *Bacillus atrofaeus* PTA-7543; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50018; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7545; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus subtilis* PTA-7547; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7790; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50014; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50015 cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50706; y combinaciones de las mismas.
- 25 79. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 75-78, donde la composición es un sólido, semi-sólido, gel, líquido, aerosol, emulsión o polvo.
- 30 80. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 75-79, que comprende además un tensioactivo
- 35 81. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 75-80, que comprende además una o más enzimas.
- 40 82. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 75-81, donde la enzima es seleccionada del grupo que consiste en proteasas, alfa-amilasas, celulasas, lipasas, peroxidasa/oxidasa, pectato liasas y mananasas o mezclas derivadas.
- 45 83. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 75-82 que comprende además uno o más constituyentes seleccionados del grupo que consiste en dispersantes, estabilizadores, agentes antimicrobianos, fragancias, colorantes y biocidas.
- 50 84. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 75-83, donde la composición es sólida, líquida, aerosol o composición en polvo adaptada a su aplicación como un detergente, suavizante o cualquier otro aditivo de ropa sucia.
- 55 85. Composición según la reivindicación 75, donde el al menos un microorganismo es capaz de inhibir o prevenir la producción del mal olor provocado por al menos una bacteria que causa mal olor o al menos una bacteria capaz de causar mal olor.
- 60 86. Método de inhibición o prevención de la producción del mal olor de la ropa sucia provocado por bacterias capaces de producir compuestos odiferosos que comprenden el sometimiento de los compuestos odiferosos a al menos un microorganismo capaz de utilizar el compuesto odiferoso como una fuente alimenticia.
- 65 87. Método según la reivindicación 86, donde al menos un microorganismo es al menos una especie de *Bacillus*.
88. Método según la reivindicación 87, donde al menos una especie de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus atrofaeus*; y combinaciones de las mismas.

89. Método según cualquiera de las reivindicaciones 86-88, donde al menos una especie de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50017, cepa de *Bacillus atrofaeus* PTA-7792; cepa de *Bacillus atrofaeus* PTA-7543; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50018; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7545; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus subtilis* PTA-7547; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7790; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50014; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50015; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50706; y combinaciones de las mismas.
90. Método según cualquiera de las reivindicaciones 86-89, donde las bacterias capaces de producir el compuesto odífero es al menos una especie bacteriana seleccionada del grupo que consiste en *Bacillus amyloliquefaciens*, *Acinetobacter junii*, *Bacillus subtilis*, *Janibacter melois*, *Sphingobium ummariense*, *Sphingomonas panni*, *Sphingomonadaceae* sp., *Actinobacter tandooi*, *Junibacter melonis*, *Curtobacterium flaccumfaciens*, *Flavobacterium denitrificans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Leclercia adecarboxilata*, *Enterobacter* sp., *Cronobacter sakazakii*, *Bacillus megaterium*, *Sphingobacterium faecium*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas veronii*, *Microbacterium luteolum*, *Morganella morganii*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas* sp., *Pseudomonas-marginalis*, *Citrobacter* sp., cepa de *Escherichia coli* JCLys5, *Roseomonas acuática*, *Pseudomonas panipatensis*, *Brevibacillus subtilis subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus pumilus*, *Ralstonia eutropha*, *Caulobacter fusiformis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Rhodococcus opacus*, *Breviundimonas intermedia*, *Agrobacterium tumefaciens* y combinaciones de las mismas.
91. Método según cualquiera de las reivindicaciones 84-88, donde el compuesto odífero es al menos un compuesto seleccionado del grupo que consiste en guayacol, butirato de etilo, cis-4-heptenal, ácido de 4-metiloctanoico, p-anisaldehído, ácido isovalérico y combinaciones de los mismos.
92. Método de inhibición o prevención de la producción del mal olor provocado por al menos un microorganismo que causa mal olor o al menos un microorganismo capaz de causar mal olor, que comprende el contacto de un tejido o una máquina de lavado con al menos un microorganismo que no causa olor capaz de inhibir o prevenir la producción del mal olor provocada por al menos un microorganismo que causa mal olor o al menos un microorganismo capaz de causar mal olor.
93. Método según la reivindicación 92, donde el método comprende el contacto de al menos un microorganismo que causa mal olor o al menos un microorganismo capaz de causar mal olor capaz de causar mal olor en la ropa sucia.
94. Método según cualquiera de las reivindicaciones 92-93, donde el método comprende el contacto de un compuesto que genera olor derivado de al menos un microorganismo que causa mal olor o al menos un microorganismo capaz de causar mal olor capaz de causar mal olor en la ropa sucia.
95. Método según cualquiera de las reivindicaciones 92-93, donde el contacto comprende administrar el al menos un microorganismo que no causa olor a una máquina de lavar la ropa.
96. Método según cualquiera de las reivindicaciones 92-95, donde el contacto se produce durante un proceso de lavado.
97. Método según cualquiera de las reivindicaciones 92-96, donde el contacto se produce en una máquina de lavado nueva.
98. Método según cualquiera de las reivindicaciones 92-96, donde el contacto se produce en una máquina de lavado después de uno o más usos de dicha máquina de lavado.
99. Método según cualquiera de las reivindicaciones 92-98, donde al menos un microorganismo que no causa olor es al menos una especie de *Bacillus*.
100. Método según la reivindicación 99, donde al menos una especie de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus atrofaeus* y combinaciones de las mismas.
101. Método según cualquiera de las reivindicaciones 99-100, donde al menos una especie de *Bacillus* es seleccionada del grupo que consiste en cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50017, cepa de *Bacillus atrofaeus* PTA-7792; cepa de *Bacillus atrofaeus* PTA-7543; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50018; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7541; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7544; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7545; cepa de

5 *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7546; cepa de *Bacillus subtilis* PTA-7547; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7549; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7793; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7790; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* PTA-7791; cepa de *Bacillus subtilis* NRRL B-50136; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50141; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50399; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50014; cepa de *Bacillus licheniformis* NRRL B-50015; cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-50706; y combinaciones de las mismas.

10 102. Método según cualquiera de las reivindicaciones 92-101, donde al menos un microorganismo que causa mal olor o al menos un microorganismo capaz de causar mal olor es al menos una especie bacteriana seleccionada del grupo que consiste en *Bacillus amyloliquefaciens*, *Acinetobacter junii*, *Bacillus subtilis*, *Janibacter melois*, *Sphingobium ummariense*, *Sphingomonas panni*, *Sphingomonadaceae* sp., *Actinobacter tandoii*, *Junibacter melonis*, *Curtobacterium flaccumfaciens*, *Flavobacterium denitrificans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Leclercia adecarboxilata*, *Enterobacter* sp., *Cronobacter sakazakii*, *Bacillus megaterium*, *Sphingobacterium faecium*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas veronii*, *Microbacterium luteolum*, *Morganella morgani*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas* sp., *Pseudomonas-marginalis*, *Citrobacter* sp.,
 15 cepa de *Escherichia coli* JCLys5, *Roseomonas acuática*, *Pseudomonas panipatensis*, *BreviBacillus subtilis subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus pumilus*, *Ralstonia eutropha*, *Caulobacter fusiformis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Rhodococcus opacus*, *Breviundimonas intermedio*, *Agrobacterium tumefaciens* y combinaciones de las mismas.

20 [0062] Los ejemplos siguientes se incluyen para uso solo ilustrativo y no se pretende que limiten el alcance de la invención.

25 **Ejemplos**

Ejemplo 1: aislamiento de organismos que crecen en las máquina de lavados domésticas sucias

[0063] Las máquina de lavados domésticas conocidas por tener problemas de mal olor se limpiaron de poblaciones bacterianas o fúngicas.

30 Las muestras fueron procesadas sumergiendo la muestra en el tampón fosfato (Weber Scientific Cat# 3127-29) y extendiendo diluciones sobre métodos estándar y agares patata dextrosa (Smith River Biologicals Cat# 11-00450 and 11-00740C) con incubaciones durante la noche a 21°C.

35 Después de sucesivas transferencias para obtener pureza, fueron obtenidos aislados ~113 bacterianos/fúngicos. Veintinueve de estos aislados fueron identificados por análisis 16s ADNR, 500bp utilizando instrumento de analizador genético de Applied Biosystems 3130 y análisis filogenético Geneious Pro 4.7.5 o contraído a través de Midi Labs (Newark, DE).

Los siguientes aislados fueron obtenidos y enumerados en la tabla 1.

Tabla 1 - cepas de microbios odorígenicos aislados de una máquina de lavado doméstica

Identificación de cepa
<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Bacillus amiloliquifaciens</i>
<i>Sfingobium ummariense</i>
<i>Sphingomonadaceae</i> desconocido
<i>Sfingomonas panni</i>
<i>Sfingomonas ursinicola</i>
<i>Acinetobacter tandoii</i>
<i>Acinetobacter junii</i>
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>
<i>Janibacter melonis</i>
<i>Pseudomonas</i> desconocido
<i>Flavobacterium denitrificans</i>
<i>Micrococcus luteus</i>
<i>Bacillus pumilus</i>
<i>Ralstonia eutropha</i>
<i>Caulobacter fusiformis</i>

<i>Stenotrofomonas maltophilia</i>
<i>Micrococcus luteus</i>
<i>Micrococcus luteus</i>
<i>Rhodococcus opacus</i>
<i>Breviundimonas intermedia</i>
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>

Ejemplo 2: aislamiento de bacterias odorígenas de tejidos sucios humanos

5 [0064] Cincuenta y cuatro voluntarios de los 10 estados en EE.UU donaron camisetas (100% algodón o 100% poliéster) y calcetines después de participar en actividades deportivas.
 Las muestras de tejido sucio (calcetines o camisetas recortadas de las axilas) fueron incubadas a 30°C en botellas estériles durante 7 días para permitir el desarrollo del mal olor.
 Un tampón fosfato (Weber Scientific Cat# 3127-29) se añadió a las botellas con las muestras y aquellas botellas fueron colocadas en la secadora y se secaron durante 30 minutos.
 10 El tampón fue transferido a tubos estériles de 50 ml y centrifugado durante 10 minutos a 5,000 r.p.m.
 El sobrenadante de la centrifugación fue descartado y el granulado fue resuspendido en un tampón fosfato de 1 ml.
 Los conteos bacterianos totales se hicieron colocando en las placas diluciones en serie en placas de agar de métodos estándar (Smith River Biologicals, Ferrum, VA Cat# 11-00450).
 15 Las placas fueron incubadas a temperatura ambiente (aprox. 26°C).
 Después de 48 hrs, las colonias fueron contadas y aquellas colonias con una morfología de colonia diferente fueron seleccionadas y reensuciadas en el medio fresco.
 Los cultivos puros de aislados individuales fueron evaluados para la producción del mal olor en placas de agar de métodos estándar por un panel sensorial (7-10 panelistas).
 20 [0065] Un total de 362 aislados bacterianos fueron recuperados de los tejidos (camisetas y calcetines) y 55 de estas cepas fueron evaluadas por panel sensorial como productores de mal olor.
 Veinticinco cepas fueron clasificadas como los peores productores de mal olor e identificadas por 16s ADNR en laboratorios MIDI.
 25 Los siguientes aislados fueron obtenidos y enumerados en la tabla 2.

Tabla 2. Lista de bacterias odorígenas aisladas de tejidos sucios de humano

Identificación de la cepa
<i>Escherichia coli</i>
<i>Leclercia adecarboxilata</i>
<i>Enterobacter sp.</i>
<i>Cronobacter sakazakii</i>
<i>Enterobacter sp.</i>
<i>Bacillus megaterium</i>
<i>Sfingobacterium faecium</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Pseudomonas veronii</i>
<i>Microbacterium luteolum</i>
<i>Morganella morganii</i>
<i>Morganella morganii</i>
<i>Morganella morganii</i>
<i>Bacillus cereus</i>
<i>Pseudomonas sp.</i>
<i>Pseudomonas sp.</i>
<i>Pseudomonas-marginalis</i>
<i>Leclercia adecarboxilata</i>
<i>Citrobacter sp.</i>
Cepa de <i>Escherichia coli</i> JCLys5
<i>Bacillus megaterium</i>
<i>Roseomonas acuática</i>
<i>Pseudomonas panipatensis</i>
<i>Brevibacillus subtilis subtilis</i>
<i>Enterobacter sp.</i>

30 **Ejemplo 3:** zona de experimento de inhibición

[0066] Los aislados odorigénicos (ver tablas 1 y 2) fueron evaluados en una zona de experimento de inhibición en placas de Petri contra los supuestos candidatos *Bacillus* spp. de biocontrol (control de olor) de la siguiente manera: candidatos *Bacillus* (NRRL B-50136, NRRL B-50015, NRRL B-50016, NRRL B-50141, NRRL B-50018; PTA-7541; PTA-7792; PTA-7543; PTA-7544; PTA-7545; PTA-7546; PTA-7547; PTA-7549; PTA-7793; PTA-7790; PTA-7791, NRRL B-50706 y NRRL B-50399) crecieron por separado en el caldo de conteo de placas (Difco DF0751-17-2, hecho según las instrucciones del fabricante) durante 18 a 24 horas dando como resultado un cultivo de aprox. 10^7 a 10^8 UFC/mL.

Los aislados odorigénicos de las tablas 1 y 2 crecieron individualmente durante 18 a 24 horas (cultivo de aprox. 10^8 a 10^{10}) en el caldo de conteo de placas y luego fueron seleccionados para formar un tamiz en la superficie de placas de agar métodos estándar (Smith River Biologicals, Ferrum, VA). Cuatro orificios de 5 mm fueron perforados en el agar con un tubo de acero inoxidable estéril. 50 µl de cada cultivo líquido de *Bacillus* fueron suministrados a los orificios (1 cepa por orificio) y la placa fue incubada durante 18 a 48 horas a 35°C, con el lado de agar hacia abajo.

El aislado odorigénico inhibido en la proximidad de un orificio fue calificado como biocontrol positivo por *Bacillus* candidate.

La zona de inhibición fue también medida en milímetros (mm) para permitir la evaluación semicuantitativa de control.

Las placas fueron luego examinadas para zonas de limpieza/inhibición.

Si no había ninguna zona observable alrededor del pocillo, entonces se registraba un espacio en blanco.

Si había una germinación de las cepas de prueba, una zona de inhibición podría no ser determinada y se registraba un "OG".

Si había una zona alrededor del pocillo, el diámetro de la zona fue registrado. "ND" significa no determinado.

[0067] Los resultados se registran en las tablas 3A, 3B, 3C y 3D donde "OG" indica fuera de crecimiento para las cepas de prueba.

Si ZOI podría no ser determinado y una introducción vacía indica resultados ZOI negativos.

[0068] Aunque los resultados pueden ser difíciles de repetir con exactitud numérica, se pueden observar tendencias generales.

Todas las condiciones deberían ser sustancialmente idénticas para obtener resultados similares con: conteo de inicio similar para tanto cepas indeseables como cepas de *Bacillus*, los tiempos de incubación tienen que ser similares para asegurar el crecimiento celular apropiado y/o producción de metabolito, dosificación y los tiempos de incubación tienen que ser casi idénticos ya que unas pocas horas pueden marcar una gran diferencia.

Tabla 3A - Resultados de ensayos de inhibición de placa de Petri de aislados de máquina de lavado

ODORIGÉNICO	CEPAS DE PRUEBA								
	NRRL B-50136	NRRL B-50014	NRRL B-50015	NRRL B-50016	NRRL B-50141	NRRL B-50018	PTA-7541	PTA-7792	PTA-7543
<i>B. AMYLOLIQUEFACIENS</i>	15.47						10.26		9.62
<i>ACINETOBACTER JUNII</i>						OG	OG	OG	OG
<i>B. SUBTILIS</i>									
<i>JANIBACTER MELONIS</i>	22.93	12.58		17.23	18.54	OG	OG	OG	OG
<i>SFINGOBIUM UMMARIENSE</i>				13.82		17.88	17.08		
<i>B. SUBTILIS</i>									
<i>SFINGOMONAS PANNI</i>					14.15	OG	OG	OG	OG
<i>SFINGOMONADACEAE</i>	OG			OG	14.23	19.1	21.66	OG	OG
<i>ACUNETOBACTER TANDOII</i>	OG				OG	OG	OG	OG	OG
<i>JANIBACTER MELONIS</i>	17.18						10.48		10.74
<i>B. AMYLOLIQUEFACIENS</i>	14.92								
<i>B. AMYLOLIQUEFACIENS</i>	16.17								
<i>CURTOBACTERIUM FLACCUMFACIENS</i>	9.44			14.96		OG	12.06	OG	OG
<i>B. SUBTILIS</i>	10.69								12
<i>B. AMYLOLIQUEFACIENS</i>	16.88								

ES 2 686 944 T3

<i>FLAVOBACTERIUM DENITRIFICANS</i>	9.42					OG	OG	OG	OG
<i>B. AMYLOLIQUEFACIENS</i>	8.63								
<i>STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS</i>	25.48	9.95		21.04	10.15	27.9	23.01		
<i>RHODOCOCCUS OPACUS</i>	8.875		9.555	12.16	15.865	ND	12.37	13.805	15.59
<i>BACILLUS PUMILUS</i>	13.25	8.07	7.71		14.09	ND	15.09	16.07	16.865
<i>AGROBACTERIUM TUMEFACIENS</i>					13.56	ND	14.055	15.65	14.495
ML5-2				12.23	17.255	ND	19.73	19.185	18.295
<i>BREVUNDIMONAS INTERMEDIA</i>	9.69	14.965	9.655	15.18	22.245	ND	21.88	21.77	21.24
<i>MICROCOCCUS LUTEUS</i>	14.255	11.285	12.185	14.73	20.24	ND	21.275	20.305	22.26
<i>MICROCOCCUS LUTEUS</i>	22.49	17.61	18	27.82	28.005	ND	27.61	27.2	29.445
<i>MICROCOCCUS LUTEUS</i>	15.04	11.11	10.1	14.885	23.1	ND	21.15	22.1	22.255
<i>RALSTONIA EUTROPHA</i>						ND			
<i>CAULIBACTER FUSIFORMIS</i>	10.545	8.82		16.15	21.555	ND	20.405	21.395	22.76

TABLA 3B - RESULTADOS DE ENSAYOS DE INHIBICIÓN DE PLACA PETRI DE AISLADOS DE MÁQUINA DE LAVADO

ODORIGÉNICO	CEPAS DE PRUEBA									
	PTA-7544	PTA-7545	PTA-7546	PTA-7547	PTA-7549	PTA-7793	PTA-7790	PTA-7791	NRRL B-50399	NRRL B-50706
<i>B. AMYLOLIQUEFACIENS</i>			10.57							ND
<i>ACINETOBACTER JUNII</i>	OG	OG	OG	OG	10.4	OG	OG	OG	13.03	ND
<i>B. SUBTILIS</i>										ND
<i>JANIBACTER MELONIS</i>	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	ND
<i>SFINGOBIUM UMMARIENSE</i>					19.57					ND
<i>B. SUBTILIS</i>	13.36	13.74	12.47		11.24	18.26	10.5			ND
<i>SFINGOMONAS PANNI</i>	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	ND
<i>SFINGOMONADACEAE</i>	20.39	OG	ND							
<i>ACINETOBACTER TANDOII</i>	OG	OG	OG	OG	9.3	OG	OG	OG	OG	ND
<i>JANIBACTER MELONIS</i>		9.06	9.32	10.59		9.79		11.28		ND
<i>B. AMYLOLIQUEFACIENS</i>								11.16		ND
<i>B. AMYLOLIQUEFACIENS</i>			6.91				OG	OG	OG	ND
<i>CURTOBACTERIUM FLACCUMFACIENS</i>	OG	OG	OG	14.96	OG	OG	OG	OG	OG	ND
<i>B. SUBTILIS</i>		11.94	10.48		11.92	12.75		21.25	13.82	ND
<i>B. AMYLOLIQUEFACIENS</i>								15.3	15.88	ND
<i>FLAVOBACTERIUM</i>	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	OG	ND

ES 2 686 944 T3

DENITRIFICANS										
B. AMYLOLIQUEFACIENS										ND
STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS	29.77	30.87	30.69		26.46	29.18	28.5	29.63	31.94	ND
RHODOCOCCUS OPACUS	7.165	14.13	15.46 5	15.42 5	17.31	14.16 5	13.29 5	13.92 5	8.51	15.41 5
BACILLUS PUMILUS	15.8	13.17 5	15.09	8.51	15.46	15.77	15.6	12.66 5	16.03 5	16.34
AGROBACTERIUM TUMEFACIENS	12.23	15.73			13.98	14.29	15.38	14.31	16.73 5	15.99 5
ML5-2	17.04 5	21.21	14.58	9.855	18.42	19.02	20.18 5	18.3	19.22 5	19.24 5
BREVUNDIMONAS INTERMEDIA	20.71	22.39	17.44 5	9.3	22.18	21.2	21.22 5	21.78 5	21.69 5	22.39 5
MICROCOCCUS LUTEUS	20.76 5	20.01	19.62	18.7	21.42 5	19.19	21.16 5	20.82	19.1	20.72
MICROCOCCUS LUTEUS	27.53 5	26.57 5	26.63 5	24.13 5	26.79	24.65 5	27.59	26.86 5	25.39	27.84 5
MICROCOCCUS LUTEUS	22.19	21.80 5	20.40 5	20.31	22.31	21.03 5	23.55	23.40 5	20.82 5	21.65
RALSTONIA EUTROPHA										
CAULIBACTER FUSIFORMIS	21.60 5	21.43 5	18.35	8.67	20.14	19.17 5	22.45	22.13	20.5	20.33 5

TABLA 3C - RESULTADOS DE ENSAYOS DE INHIBICIÓN DE PLACA PETRI DE AISLADOS DE TEXTIL

ODORIGÉNICO	CEPAS DE PRUEBA								
	NRRL B- 50136	NRRL B- 50014	NRRL B- 50015	NRRL B- 50016	NRRL B- 50141	NRRL B- 50018	PTA- 7541	PTA- 7792	PTA- 7543
BACILLUS CEREUS	9.33			8.2	11.525	ND	13.08	12.325	11.23
PSEUDOMONAS SP.	11.745			11.375	9.06	ND	9.525	9.52	9.4
ENTEROBACTER CLOACAE					28.44	ND	25.845	24.975	27.865
CITROBACTER SP.					11.47	ND	11.17	11.205	
BACILLUS MEGATERIUM	10.505	9.81	10.17	15.615	24.565	ND	24.665	24.875	26.245
ENTEROBACTER SP.					0	ND	8.595	9.46	9.23
LECLERCIA ADECARBOXILATA					13.365	ND	12.735	13.825	13.4
LECLERCIA ADECARBOXILATA					8.76	ND	9.135	10.785	10.175
PSEUDOMONAS SP.	14.265				12.55	ND			
E. COLI					8.83	ND	9.42	9.75	9.4
PSEUDOMONAS VERONII					7.36	ND			
MICROBACTERIUM LUTEOLUM		8.51	8.01		7.46	ND	7.925		
MORGANELLA MORGANII					11.255	ND	10.69	12.83	12.41
SFINGOBACTERIUM FAECIUM				13.485	19.69	ND	19.26	20.48	20.62
ENTEROBACTER SP.				9.625	11.245	ND	10.585	12.335	12.755
ROSEOMONAS ACUÁTICA				11.395	12.53	ND	13.66	16.47	12.86
CEPA DE E. COLI JCLYS5					9.975	ND	10.63	10.75	12.055

ES 2 686 944 T3

<i>PSEUDOMONAS MARGINALIS</i>					8.75	ND	8.925	9.99	8.93
<i>MORGANELLA MORGANII</i>					9.03	ND	9.605	11.12	9.89
<i>BREVIBACILLUS SUBTILIS SUBTILIS</i>	10.56					ND			
<i>CRONOBACTER SAKAZAKII</i>				4.595		ND	9.53	11.75	10.85
<i>ENTEROBACTER SP.</i>				8.845	11.87	ND	12.5	11.88	11.695
<i>MORGANELLA MORGANII</i>					9.59	ND	9.845	5.825	
<i>BACILLUS MEGATERIUM</i>	13.475	9.245	8.715	11.61	21.65	ND	20.63	23.625	18.37
<i>PSEUDOMONAS PANIPATENSIS</i>	5.18	8.425		13.725	15.3	ND	11.125		

TABLA 3D - RESULTADOS DE ENSAYOS DE INHIBICIÓN DE PLACA PETRI DE AISLADOS DE TEXTIL

ODORIGÉNICO	CEPAS DE PRUEBA									
	PTA-7544	PTA-7545	PTA-7546	PTA-7547	PTA-7549	PTA-7793	PTA-7790	PTA-7791	NRRL B-50399	NRRL B-50706
<i>BACILLUS CEREUS</i>	12.52	12.67	11.115	8.225	11.77	12.495	11.78	12.6	11.205	12.72
<i>PSEUDOMONAS SP.</i>	8.49	10.215	8.91		11.615	8.59	9.33	8.435	10.275	9.945
<i>ENTEROBACTER CLOACAE</i>	27.71	26.6	27.83	25.49	20.925	23.99	22.75	24.13	27.395	9.66
<i>CITROBACTER SP.</i>	12.18	11.98			11.145	11.635	10.32	10.405	10.545	12.58
<i>BACILLUS MEGATERIUM</i>	21.4	25.615	24.155	12.615	23.875	24.915	25.915	22.075	26.075	26.235
<i>ENTEROBACTER SP.</i>	9.065	9.235		11.69		10.025	9.21	9.43	9.635	8.995
<i>LECLERCIA ADECARBOXILATA</i>	13.515	13.775	10.64	12.875	13.335	11.805	12.175	12.15	13.71	14.405
<i>LECLERCIA ADECARBOXILATA</i>	7.915	12.16		8.44	9.97	10.145	11.055	8.345	10.495	11.425
<i>PSEUDOMONAS SP.</i>						15.125				14.9
<i>E. COLI</i>	9.825	9.89			9.445	9.63	9.515	9.29	9.21	11.04
<i>PSEUDOMONAS VERONII</i>										8.01
<i>MICROBACTERIUM LUTEOLUM</i>				8.2			8.305			
<i>MORGANELLA MORGANII</i>	11.685	12.345	9.535		11.38	9.975	11.95	12.69	11.46	10.27
<i>SFINGOBACTERIUM FAECIUM</i>	18.97	19.335	17.495	12.42	18.62	17.91	19.84	21.58	18.78	18.515
<i>ENTEROBACTER SP.</i>	12.59	11.485	9.705	9.02	11.43	10.785	11.25	12.18	9.79	10.985
<i>ROSEOMONAS ACUÁTICA</i>	13.885	18.35	15.29	10.02	16.35	16.995	17.465	13.975	18.575	16.16
CEPA DE <i>E. COLI</i> JCLYS5	11.435	10.91	9.935	8.96	11.785	11.545	12.04	10.36	11.515	9.59
<i>PSEUDOMONAS MARGINALIS</i>					8.555	8.175	10.13	8.84		9.025
<i>MORGANELLA MORGANII</i>	9.96	10.6	9.105		10.635	10.9	12.29	10.425	11.81	
<i>BREVIBACILLUS SUBTILIS SUBTILIS</i>							8.4			
<i>CRONOBACTER SAKAZAKII</i>	11.495	11.88	8.39		10.38	11.275	10.835	10.065	12.99	

ENTEROBACTER SP.	10.22	11.09 5	10.9	9.92	12.39	11.23	10.88 5	9.89	10.87 5	11.87
MORGANELLA MORGANII		9.255	9.32		9.815	9.99	10.83 5	9.21	9.765	8.505
BACILLUS MEGATERIUM	21.52 5	21.99	20.56	11.81 5	21.38 5	20.52 5	20.73	19.62	21.16	21.85
PSEUDOMONAS PANIPATENSIS	10.61		14.45	9.905	13.84	12.95	11.57 5	11.12 5	14.32	13.37 5

[0069] Como se ha reflejado en las tablas 3A, 3B, 3C, y 3D, respectivamente, cepas de prueba candidatas con el potencial de inhibir el mal olor de la ropa sucia podrían ser pre-seleccionadas por ensayos ZOI contra las especies odoríferas aisladas.

5

Ejemplo 4 - Biodegradación de moléculas de mal olor de la ropa sucia por bacterias beneficiosas

[0070] Un estudio de utilización de fuente de carbono solo fue realizado para determinar si las cepas NRRL B-50136, NRRL B-50014, NRRL B-50015, NRRL B-50016, NRRL B-50141, NRRL B-50018, PTA-7541; PTA-7792; PTA-7543; PTA-7544; PTA-7545; PTA-7546; PTA-7547; PTA-7549; PTA-7793; PTA-7790; PTA-7791, y NRRL B-50399 podían crecer o biodegradar compuestos olorosos conocidos por causar mal olor en la ropa sucia ((Munk, Signe et al., Microbial Survival and Odor in Laundry, Journal of Surfactants and Detergents. 4:4 (2001).

10

[0071] Los 6 compuestos, guayacol (Sigma Cat# W253200-Sample-K), butirato de etilo (Sigma Cat# W242705-Sample-K), cis-4-heptenal (Sigma Cat# W328901-Sample-K), ácido 4-metiloctanoico (Sigma Cat# W357502-Sample-K), p-anisaldehído (Sigma Cat# W267007-Sample) y ácido isovalérico (Aldrich Cat# 12,954-2) fueron diluidos a 2000 ppm en el agua y uno a uno 20 µl fueron suministrados a un pocillo individual de Placas de microtitulación del Sistema de Biosensor de oxígeno de Becton Dickinson (BD# 353830).

15

Los medios mínimos (MM) se hicieron de la siguiente manera: NH₄Cl (0.8 g/L), MgSO₄ (0.2 g/L), CaCl₂·2H₂O (0.01 g/L), Fe₂Na₂EDTA (0.015 g/L), KH₂PO₄ (3.06 g/L), MM oligoelementos (1ml).

20

MM oligoelementos se hicieron de la siguiente manera: FeSO₄·7H₂O (28 mg/L), ZnSO₄·7H₂O (140 mg/L), MnSO₄·H₂O (84 mg/L), CoCl₂·6H₂O (24 mg/L), CuSO₄·6H₂O (25 mg/L), NaMoO₄·2H₂O (24 mg/L).

25

Estos medios mínimos se usaron como un diluyente para las cepas de *Bacillus* NZB, añadiendo 10 µl de un cultivo de *Bacillus* crecido 18-24 hrs en caldo de cuenta de placa Difco a 170ul de MM añadido a cada pocillo de microtitulación con el compuesto de olor.

30

La placa de microtitulación fue leída en un lector de placa fluorescente Biotek FLx-800I (Cat# FLx800-I) cada 20 min. durante 99 horas con agitación a intervalos de 10 seg. antes de cada lectura, incubación a temperatura ambiente y filtros de excitación/emisión con especificaciones de 485/20 y 600/40, respectivamente.

35

La fluorescencia sobre los niveles de fondo (constatada de pocillos de control sin molécula de olor o carbono de cualquier tipo añadido) fue considerada positiva para crecimiento y biodegradación en la molécula de olor.

NRRL B-50016; PTA-7546 y PTA-7790 no utilizó cualquiera de los compuestos olorosos.

NRRL B-50015 no creció.

40

Todos los compuestos fueron utilizados por al menos 1 y como mucho 9 cepas de *Bacillus* mientras el ácido 4-metiloctanoico fue utilizado por la mayoría.

Los resultados se registran en la tabla 4.

Tabla 4 - Resultados de estudio de utilización de fuente de carbono solo

40

Prueba/cepa(s) <i>Bacillus</i>	Compuesto odorífero						
	Guayacol	Etilo butirato	Cis-4-Heptenal	ácido 4-metiloctanoico	p-anisaldehído	ácido isovalérico	#
NRRL B-50136	+	-	-	-	-	-	1
NRRL B-50014	-	-	+	-	-	-	1
NRRL B-50015	DNG	DNG	DNG	DNG	DNG	DNG	0
NRRL B-50016	-	-	-	-	-	-	0
NRRL B-50141	-	-	+	-	-	-	1
NRRL B-50018	+	-	+	-	-	-	2
PTA-7541	+	+	-	+	-	-	3
PTA-7792	+	-	+	-	+	-	3
PTA-7543	+	-	-	+	-	-	2
PTA-7544	-	-	+	-	-	-	1
PTA-7545	-	-	-	+	-	+	2
PTA-7546	-	-	-	-	-	-	0
PTA-7547	-	+	+	+	-	-	3

PTA-7549	-	-	-	+	-	+	2
PTA-7793	+	-	+	+	-	-	3
PTA-7790	-	-	-	-	-	-	0
PTA-7791	-	-	+	+	-	-	2
NRRL B-50399	-	-	+	-	-	-	1
#	6	2	9	7	1	2	

[0072] Donde "DNG" indica la cepa que no creció en la fase de inóculo.

[0073] Como se ha reflejado en la tabla 4, las cepas de prueba fueron capaces de biodegradar los compuestos odoríferos anteriores referenciados.

El guayacol fue biodegradado por 6 cepas de prueba, butirato de etilo fue biodegradado por 2 cepas de prueba, cis 4-heptenal fue biodegradado por 9 cepas, ácido 4-metiloctanoico fue biodegradado por 7 cepas, p-anisaldehído fue bio degradado por 1 cepa y ácido isovalérico fue degradado por 2 cepas.

De las cepas de prueba sometidas al estudio de utilización de fuente de carbono única, 4 cepas de prueba fueron capaces de biodegradar 3 compuestos odiferosos, 5 cepas de prueba fueron capaces de biodegradar 2 compuestos odiferosos, 5 cepas de prueba fueron capaces de biodegradar un único odiferous compuesto y 4 cepas de prueba fueron incapaces biodegradar cualquiera de los compuestos odiferosos usados en el estudio.

Ejemplo 5. Mitigación de olor en tejidos Post lavados por *Bacillus*

[0074] Cepas bacterianas y condiciones de cultivo: cepas de *Bacillus* de control de olor (NRRL B-50141; PTA-7543; PTA-7549) y las cepas odorigénicas (*Cronobacter sakazakii*; *Pseudomonas veronii*; *Pseudomonas marginalis* y *Microbacterium luteolum*) (ver tabla 2) fueron aisladas y mantenidas en placas de agar métodos estándar (Smith River Biologicals, Ferrum, VA Cat# 11-00450).

En experimentos donde los tejidos fueron inoculados, las cepas de control de olor y las cepas odorigénicas crecieron primero en el medio Luria-Bertani (LB) (Difco™ Cat# 241420) para asegurar el crecimiento bajo condiciones óptimas.

Después de observar el crecimiento óptimo en los medios LB, las cepas bacterianas de control de olor y las cepas odorigénicas crecieron en un segundo medio mínimo (es decir; Glutamato-SBL) para imitar las condiciones de una máquina de lavado.

El medio Glutamato-SBL contenía los nutrientes siguientes (l-1): 1.9 g SBL2004 (WFK Cat# 10996), 2.0 g de ácido de l-glutámico (sal monosódica), 0.5 g KH₂PO₄, 0.2 g NaCl y 0.2 g MgSO₄·7H₂O.

El pH de MG medio fue ajustado a 7.0 con 3 M NaOH antes de autoclave.

[0075] El pre-lavado de tejidos: tejidos estándar del Cleaning Technology Institute en Alemania (WFK) algodón 10A (código de orden 10000) y poliéster 30A (código de orden 30000) fueron mezclados en muestras de 2.54 cm X 2.54 cm.

Las muestras fueron prelavadas cinco veces antes de los experimentos utilizando una solución de detergente comercial según las instrucciones de la etiqueta.

[0076] El lavado de tejidos: el proceso de lavado se realizó en matraces con deflectores de 50 ml utilizando 3.2 g de muestras limpias (0.2 g solución de detergente textil/ml) con 16 ml de solución de detergente y 0.03 g de tiras SBL2004 soil ballast (WFK) y se cubrieron con papel de aluminio.

Los matraces fueron incubados a 30°C con agitación (250 r.p.m.) durante 30 minutos en un agitador de laboratorio orbital (New Brunswick Innova 2300 Shaker).

La solución de lavado fue eliminada y las muestras fueron apretadas con la mano para eliminar el exceso de solución.

Se realizó un enjuague con 16 ml de agua desionizada agitando durante 10 minutos, esto fue repetido dos veces.

Después del enjuague final, las muestras fueron apretadas con las manos y bajo condiciones estériles, para eliminar el exceso de agua y colocadas en almohadillas limpias (PIG alfombras de alta visibilidad Cat# MATT605, New PIG) para secarse a temperatura ambiente.

[0077] Preparación de inóculos bacterianos: cepas de *Bacillus* de control de olor gram positivo (NRRL B-50141; PTA-7543; PTA-7549) y las bacterias odorigénicas gram negativas siguientes aisladas de la ropa sucia (*Cronobacter sakazakii*; *Pseudomonas veronii*; *Pseudomonas marginalis* y *Microbacterium luteolum*) fueron cultivadas en el medio SMA a 30°C durante toda la noche.

Una colonia individual de cada una de las cepas *Bacillus* de control de olor (NRRL B-50141; PTA-7543; PTA-7549) y las cepas odorigénicas (*Cronobacter sakazakii*; *Pseudomonas veronii*; *Pseudomonas marginalis* y *Microbacterium luteolum*) fueron inoculadas en tubos estériles que contienen 4 ml de caldo LB y se incubaron a 30°C durante 15 horas a 250 r.p.m.

Tras la incubación, las cepas de *Bacillus* de control de olor (NRRL B-50141; PTA-7543; PTA-7549) y las cepas odorigénicas (*Cronobacter sakazakii*; *Pseudomonas veronii*; *Pseudomonas marginalis* y *Microbacterium luteolum*) fueron diluidas 1:100 (equivalente a 103 CFU por ml).

[0078] La dilución siguiente, las cepas odorígenicas (*Cronobacter sakazakii*; *Pseudomonas veronii*; *Pseudomonas marginalis* y *Microbacterium luteolum*) fueron combinadas para preparar una mezcla bacteriana odorígenica.

5 La mezcla bacteriana odorígenica fue preparada mediante la mezcla de volúmenes iguales de suspensión bacteriana de cada una de estas cepas odorígenicas en un tubo estéril.

[0079] Las suspensiones de *Bacillus* de control de olor (es decir, NRRL B-50141; PTA-7543, PTA-7549) y la mezcla bacteriana odorígenica de las cepas (*Cronobacter sakazakii*; *Pseudomonas veronii*; *Pseudomonas marginalis* y *Microbacterium luteolum*) fueron usadas para inocular los tejidos.

10

[0080] Inoculación textil: dos grupos de matraces (grupo 1 y grupo 2 respectivamente) fueron preparados. El grupo 1 fue usado para contar las poblaciones bacterianas y el grupo 2 fue usado para evaluación de olor. Cada grupo de matraces incluía tres matraces experimentales, un matraz de control negativo y un matraz de control positivo (todos los matraces con deflectores de 50 ml) para un total de cinco matraces por grupo.

15

[0081] 3.2 g de muestras prelavadas (algodón y poliéster) fueron pesadas y colocadas en cada uno de los matraces con deflectores de 50 ml con 16 ml de LB, cubiertos con hoja de aluminio y sometidas a autoclave a 121°C durante 30 minutos.

20

Los matraces y tejidos fueron enfriados dentro de la campana laminar a temperatura ambiente. Tras el enfriamiento, cada uno de los tres matraces experimentales y el matraz de control positivo para los grupos 1 y 2 respectivamente fueron inoculados.

[0082] Cada uno de los tres matraces experimentales contenía 3.2 g de muestras prelavadas (algodón y poliéster) y 160 µl de la mezcla bacteriana odorígenica (*Cronobacter sakazakii*; *Pseudomonas veronii*; *Pseudomonas marginalis* y *Microbacterium luteolum*).

25

Cada uno de aquellos tres matraces experimentales fue además inoculado con 160 µl de una suspensión de *Bacillus* de control de olor único (es decir, NRRL B-50141; PTA-7543, y PTA-7549 respectivamente).

30

[0083] El matraz de control positivo contenía solo 3.2 g de las muestras prelavadas (algodón y poliéster) y 160 µl de la mezcla bacteriana odorígenica (*Cronobacter sakazakii*; *Pseudomonas veronii*; *Pseudomonas marginalis* y *Microbacterium luteolum*).

35

[0084] El matraz de control negativo no estaba inoculado y contenía solo 3.2 g de muestras prelavadas (algodón y poliéster) y 16 ml de medios LB.

[0085] El procedimiento experimental usado arriba para inoculación textil se repitió.

El único cambio en el procedimiento fue una sustitución en la elección del medio.

Específicamente, el medio LB fue sustituido por medio glutamato SBL para imitar las condiciones ambientales de una máquina de lavado.

40

[0086] La generación del mal olor y poblaciones bacterianas.

Cada grupo de matraces experimentales y de control como se ha descrito anteriormente fueron incubados a 30°C durante toda la noche a 87 r.p.m.

45

Los medios fueron retirados bajo condiciones estériles y enjuagados con agua esterilizada durante un minuto.

[0087] Para comparar las poblaciones de *Bacillus* de control de olor y bacterias odorígenicas antes del lavado, después del lavado y 7-días después del lavado, el procedimiento siguiente fue realizado utilizando los matraces del grupo 1 de arriba.

50

Las poblaciones bacterianas (es decir, cepas de *Bacillus* de control de olor (NRRL B-50141; PTA-7543; PTA-7549) y las cepas odorígenicas (*Cronobacter sakazakii*; *Pseudomonas veronii*; *Pseudomonas marginalis* y *Microbacterium luteolum*)) fueron comparadas y contadas utilizando las muestras del grupo 1.

Específicamente, las muestras del matraz fueron transferidas a tubos centrifugadores Falcon de 50 ml.

Los tubos se llenaron con 35 ml de tampón fosfato (Weber Scientific Cat# 3127-29) y se colocaron en una secadora durante 30 minutos.

55

Las muestras fueron retiradas y los tubos fueron centrifugados a 5,000 r.p.m. durante 10 minutos.

El sobrenadante fue descartado y el granulado fue resuspendido en un tampón fosfato de 1ml.

Se hicieron diluciones en serie de diez veces y colocado en placas en medios SMA y MacConkey (seleccionados para poblaciones bacterianas gram negativas).

60

Las placas fueron incubadas a 30°C durante toda la noche y los CFU fueron contados y proporcionados en CFU por cm² de textil.

Para determinar la población de *Bacillus* de control de olor, el número de CFU presente en los medios MacConkey (seleccionados solo para las bacterias odorígenicas gram negativas (es decir, *Cronobacter sakazakii*; *Pseudomonas veronii*; *Pseudomonas marginalis* y *Microbacterium luteolum*)) fue sustraído del total CFU de los medios SMA no selectivos.

65

5 [0088] Para observar poblaciones de *Bacillus* de control de olor (NRRL B-50141; PTA-7543; PTA-7549) y bacterias odorígenicas (*Cronobacter sakazakii*; *Pseudomonas veronii*; *Pseudomonas marginalis* y *Microbacterium luteolum*) después del lavado y después de 7 días después del lavado, el resto de muestras se lavaron tal y como se describe anteriormente (ver arriba: procedimiento "Prelavado de textiles" y "Lavado de textiles") y la población de control de olor *Bacillus* se determinó inmediatamente después del lavado según el método de conteo previamente expuesto.
Las muestras lavadas fueron contadas nuevamente después de 7 días.
Los resultados previstos en las tablas 5 y 6 de abajo (resultados medidos por "control de registro").

10 [0089] El conjunto 2 fue lavado como se describe por el protocolo arriba (ver arriba: procedimientos de "Prelavado de textiles" y "Lavado de textiles").
Después del lavado, los tejidos fueron transferidos a un matraz de Erlenmeyer estéril y limpio de 250-ml y sellados con hoja de aluminio asépticamente para evaluación de olor por un panel sensorial de voluntarios.

15 Tabla 5. Las poblaciones bacterianas en tejidos lavados inoculadas con cepas diferentes utilizando el medio LB y lavadas con un detergente comercial.

Cepa	Prelavado	Después del lavado (T= 0 días)	Después del lavado (tiempo= 7 días)
mezcla odorígenica (OM) + NRRL B-50141	OM= 6.3 X10 ⁸ NRRL B-50141= 4.0 X10 ⁸	OM= 5.7 X10 ⁵ NRRL B-50141 = 8.4X10 ⁵	OM= 6.9 X10 ⁶ NRRL B-50141= 5.6 X10 ⁶
Mezcla odorígenica (OM) + PTA-7543	OM= 3.4X10 ⁸ PTA-7543 = 3.5 X10 ⁷	OM= 6.3 X10 ⁵ PTA-7543 = 4.0 X10 ⁵	OM= 8.3 X10 ⁶ PTA-7543= 4.0 X10 ⁶
Mezcla odorígenica (OM) + PTA-7549	OM= 3.4X10 ⁸ PTA-7549 = 5.5 X10 ⁸	OM= 3.4X10 ⁵ PTA-7549= 3.5 X10 ⁵	OM= 3.4X10 ⁶ PTA-7549= 5.5 X10 ⁶

20 [0090] Como se ha reflejado en la tabla 5, el número total de *Bacillus* de control de olor (NRRL B-50141; PTA-7543; PTA-7549) y bacterias odorígenicas (*Cronobacter sakazakii*; *Pseudomonas veronii*; *Pseudomonas marginalis* y *Microbacterium luteolum*) fueron reducidas inmediatamente después del lavado.
Las poblaciones de bacterias odorígenicas y bacterias de control de olor aumentaron a 7 días.

25 Tabla 6. Poblaciones bacterianas en tejidos lavados inoculados con cepas diferentes utilizando el medio glutamato SBL y lavado con un detergente comercial.

Cepa	Prelavado	Después del lavado (T= 0 días)	Después del lavado (tiempo= 7 días)
mezcla odorígenica (OM) + NRRL B-50141	OM= 7.0 X10 ⁶ NRRL B-50141= 6.7 X10 ⁶	OM= 4.2 X10 ⁴ NRRL B-50141 = 8.4X10 ⁴	OM= 6.9 X10 ⁶ NRRL B-50141= 4.6 X10 ⁶
mezcla odorígenica (OM) + PTA-7543	OM= 6.5X10 ⁶ PTA-7543 = 5.5 X10 ⁶	OM= 3.3 X10 ⁴ PTA-7543 = 4.0 X10 ⁴	OM= 6.3 X10 ⁶ PTA-7543= 4.0 X10 ⁶
mezcla odorígenica (OM) + PTA-7549	OM= 6.0X10 ⁶ PTA-7549 = 5.5 X10 ⁶	OM= 6.4X10 ⁴ PTA-7549= 3.5 X10 ⁴	OM= 5.4X10 ⁶ PTA-7549= 3.5 X10 ⁶

30 [0091] Como se refleja en la tabla 6, el número total de *Bacillus* de control de olor (NRRL B-50141; PTA-7543; PTA-7549) y la mezcla odorígenica de bacterias (*Cronobacter sakazakii*; *Pseudomonas veronii*; *Pseudomonas marginalis* y *Microbacterium luteolum*) fueron reducidos inmediatamente después del lavado.
Las poblaciones de bacterias odorígenicas y bacterias de control de olor aumentaron a 7 días.

35 [0092] La evaluación sensorial de muestras lavadas: los matraces del grupo 2 fueron evaluados de olor por un panel sensorial de voluntarios a veces 0, 24,48 y 72 horas después del lavado como se describe arriba.
El espacio de cabeza sobre las muestras húmedas fue evaluado por un panel sensorial (9-11 panelistas).
La intensidad de olor fue evaluada por la clasificación siguiente: 0 = olor no detectable; 1 = olor casi indetectable; 2 = olor difícil de detectar; 3 = olor detectable fácilmente; 4 = olor ofensivo fuerte 5 = olor repulsivo.
Las muestras fueron presentadas al panelista en orden aleatorio y las evaluaciones fueron realizadas un minuto entre cada muestra.
40 El tiempo entre cada panelista fue 20 minutos.
Los resultados en la tabla 7 previstos debajo muestran las puntuaciones medias del olor como se ha determinado por el panel de olor.

45 Tabla 7. Promedio de resultados de panel de olor para mezcla de cepas odorígenicas (OM) solas y en combinación con cepas de *Bacillus* de control de olor

Tiempo de post-lavado (horas)	control negativo	control positivo	OM + NNRL-50141	OM + PTA-7543	OM + PTA-7549
24	0.0	1.5	0.0	0.6	0.8

48	0.0	3.5	0.8	0.3	0.0
72	0.0	3.5	1.7	0.9	0.9

[0093] (OM) y cocultivado con control de olor (NRRL B-50141; PTA-7543; PTA-7549).

Donde: 0 = olor no detectable; 1 = olor casi indetectable; 2 = olor difícil de detectar; 3 = olor detectable fácilmente; 4 = olor ofensivo fuerte

5

[0094] Como se ha reflejado en la tabla 7, las puntuaciones medias que fueron las puntuaciones medias compiladas de un panel de olor de voluntarios, indicaron que el olor del control positivo, que incluye la mezcla odorigénica de cepas (*Cronobacter sakazakii*; *Pseudomonas veronii*; *Pseudomonas marginalis* y *Microbacterium luteolum*) solo, fue mitigado por la *Bacillus* de control de olor (NRRL B-50141; PTA-7543; PTA-7549) a 24, 48 y 72 horas respectivamente.

10

Ejemplo 6. Formación de biopelículas de aislado de máquina de lavado reducida y proliferación planctónica en presencia de candidatos de *Bacillus* - tubo de ensayo + Coupon Biocontrol (TTCBC)

[0095] El ejemplo siguiente fue conducido para determinar si determinadas cepas de control de olor de *Bacillus* (PTA-7543 y NRRL B-50706) son capaces de inhibir y/o reducir la formación de biopelículas por aislados de máquina de lavado odorigénicos (ML5-1 [*Agrobacterium tumefaciens*], EL1-2 [*Micrococcus luteus*] y EL4-3 [*Rhodococcus opacus*]).

15

[0096] Se añadió un recipiente de policarbonato (Biosurfaces Technology) con tres probetas de acero inoxidable (Biosurfaces Technology) y 50ml de medio Luria-Bertani (LB), (Difco DF241420) hecho según instrucciones de marcador a nueve tubos de ensayo de boca ancha individuales (gato VWR #100483-220) y se sometió a autoclave.

20

De los nueve tubos de ensayo, seis fueron tubos de ensayo experimentales y tres fueron tubos de ensayo de control.

25

La primera probeta de control contenía 400 µl de una dilución 1:20 de aislado de máquina de lavado odorigénico ML5-1.

La segunda probeta de control contenía 400 µl de una dilución 1:100 de aislado de máquina de lavado odorigénico EL1-2.

30

La tercera probeta de control contenía 400 µl de aislado de máquina de lavado odorigénico EL4-3.

Las diluciones de ML5-1, EL1-2 y EL4-3 se hicieron en base a cinética de crecimiento y cuentas bacterianas similares por tubo.

[0097] El seis tubos de ensayo experimentales fueron inoculados con un cultivo celular vegetativo durante toda la noche de un candidato de *Bacillus* de control de olor individual y un cultivo durante toda la noche de un aislado de máquina de lavado odorigénico individual (PTA-7543 y ML5-1; PTA-7543 y EL1-2; PTA-7543 y EL4-3; NRRL B-50706 y ML5-1; NRRL B-50706 y EL1-2; NRRL B-50706 y EL4-3 respectivamente).

35

Los candidatos de *Bacillus* de control de olor (PTA-7543 y NRRL B-50706) crecieron en LB durante 18 a 24 horas dando como resultado el cultivo 108 UFC/mL y aislados de máquina de lavado odorigénicos (ML5-1

40

[*Agrobacterium tumefaciens*], EL1-2 [*Micrococcus luteus*] y EL4-3 [*Rhodococcus opacus*]) crecieron en LB durante 18 a 24 horas (cultivo de aprox. 106 a 108).

Los nueve tubos de ensayo fueron preparados por duplicado para muestreo de 24 y 48 horas respectivamente.

[0098] Los tubos fueron incubados a 30°C con agitación moderada.

La dosis inicial de células de *Bacillus* de control de olor (PTA-7543 y NRRL B-50706) estaba en el rango de 3 x 10³ a 7 x 10³ UFC/mL y la dosis inicial de aislados de máquina de lavado odorigénicos (ML5-1

45

[*Agrobacterium tumefaciens*], EL1-2 [*Micrococcus luteus*] y EL4-3 [*Rhodococcus opacus*]) estaba en el rango de 3 x 10³ a 4 x 10³ UFC/mL.

Los aislados de máquina de lavado odorigénicos para las proporciones de *Bacillus* de control de olor variaban de 1:1.65 a 1:2.18.

50

[0099] En los puntos temporales 24 y 48 en la incubación, los tubos fueron probados de modo destructivo descartando cada probeta (células de biopelícula) en el suero salino tamponado con fosfato, homogenizando la suspensión, luego diluyendo y colocando en placas en agar MacConkey (Difco DF0075-17-1) para enumerar solo ML5-1 o Agar de soja tríptica (Difco DF236950) + 30µg/L de ácido nalidíxico (Sigma-Aldrich cat # N4382-5G) para enumerar solo EL1-2 y EL4-3.

55

El caldo en los tubos (células planctónicas) fue también probado, diluido y colocado en placas.

Los conteos de aislado de máquina de lavado odorigénicos en presencia de *Bacillus* spp. que controla el olor fueron comparados con controles negativos sin *Bacillus* spp. de control de olor presente y log control de aislado de máquina de lavado odorigénico para cada candidato de *Bacillus* que controla el olor fue calculado a veces 24 y 48 horas para células planctónicas y unidas.

60

Los resultados están previstos en la tabla 8 de abajo.

Tabla 8. Control log de aislados odorígenicos

	AISLADO DE MÁQUINA DE LAVADO: PROPORCIÓN DE <i>BACILLUS</i>			CONTROL LOG PLANCTÓNICO 24 HORAS			CONTROL LOG UNIDO 24 HORAS			CONTROL LOG PLANCTÓNICO 48 HORAS			CONTROL LOG UNIDO 48 HORAS		
	ML5-1: XB	EL1-2: XB	EL4-3: XB	ML5-1	EL1-2	EL4-3	ML5-1	EL1-2	EL4-3	ML5-1	EL1-2	EL4-3	ML5-1	EL1-2	EL4-3
CEPA	ML5-1: XB	EL1-2: XB	EL4-3: XB	ML5-1	EL1-2	EL4-3	ML5-1	EL1-2	EL4-3	ML5-1	EL1-2	EL4-3	ML5-1	EL1-2	EL4-3
PTA-7543	2.18	1.65	1.72	4.94	4.76	4.18	4.32	4.12	3.83	4.04	5.73	3.74	3.66	4.68	2.8
EI NRRL B-50706	1.13	1.49	1.43	3.40	3.23	3.03	4.00	2.89	3.07	4.37	4.1	1.19	3.54	4.23	1.46
CONTROL LOG= (SOLO AISLADO DE MÁQUINA DE LAVADO) - LOG(AISLADO DE MÁQUINA DE LAVADO EN PRESENCIA DE LA CEPA DE <i>BACILLUS</i>)															

5 [0100] Como se ha reflejado en la tabla 8, el crecimiento de las bacterias odorígenicas (ML5-1 [*Agrobacterium tumifaciens*], EL1-2 [*Micrococcus luteus*] y EL4-3 [*Rhodococcus opacus*]) fue inhibido 24 horas y 48 horas en presencia de células de *Bacillus* de control de olor (PTA-7543 y NRRL B-50706).

Ejemplo 7: producción de olor de aislado de lavadura reducida en la presencia de aislados de *Bacillus* - tubo de ensayo + medio (LB) Luria-Bertani de probeta de componente de máquina de lavado de acero inoxidable

10 [0101] El ejemplo siguiente se condujo para determinar si determinadas cepas de *Bacillus* de control de olor (PTA-7543 y NRRL B-50706) son capaces de inhibir, prevenir y/o reducir la causa del mal olor en máquina de lavados por bacterias odorígenicas (ML5-1 [*Agrobacterium tumifaciens*], EL1-2 [*Micrococcus luteus*] y EL4-3 [*Rhodococcus opacus*]).

15 [0102] Un recipiente de policarbonato (Biosurfaces Technology) con tres probetas de acero inoxidable (Biosurfaces Technology) y 50 ml del medio Luria-Bertani (LB), (Difco DF241420) hecho según las instrucciones de la etiqueta, se añadió a nueve tubos de ensayo de boca ancha individuales (cat VWR #100483-220) y se sometió a autoclave.

20 De los nueve tubos de ensayo, seis fueron tubos de ensayo experimentales y tres fueron tubos de ensayo de control.

La primera probeta de control contenía 400 µl de una dilución 1:20 de aislado de máquina de lavado odorígeno ML5-1.

La segunda probeta de control contenía 400 µl de una dilución 1:100 de aislado de máquina de lavado odorígeno EL1-2.

25 La tercera probeta de control contenía 400 µl de aislado de máquina de lavado odorígeno EL4-3. Las diluciones de ML5-1, EL1-2, y EL4-3 se hicieron en base en cinética de crecimiento y cuentas bacterianas similares por tubo.

30 [0103] El seis tubos de ensayo experimentales fueron inoculados con un cultivo celular vegetativo durante toda la noche de un candidato de *Bacillus* de control de olor individual y un cultivo durante toda la noche de un aislado de máquina de lavado odorígeno (PTA-7543 y ML5-1; PTA-7543 y EL1-2; PTA-7543 y EL4-3; NRRL B-50706 y ML5-1; NRRL B-50706 y EL1-2; NRRL B-50706 y EL4-3 respectivamente).

35 Los candidatos de *Bacillus* de control de olor (PTA-7543 y NRRL B-50706) crecieron en LB durante 18 a 24 horas dando como resultado 10⁸ UFC/mL de cultivo y aislados de lavavajillas odorígenicos (ML5-1 [*Agrobacterium tumefaciens*], EL1-2 [*Micrococcus luteus*] y EL4-3 [*Rhodococcus opacus*]) crecieron en LB durante 18 a 24 horas (aprox. 10⁶ a 10⁸ cultivo).

Los nueve tubos de ensayo fueron preparados por duplicado para muestreo en 24 y 48 horas respectivamente.

[0104] Los tubos fueron incubados a 30°C con agitación moderada.

40 La dosis inicial de células de *Bacillus* de control de olor estaba en el rango de 3 x 10³ a 7 x 10³ UFC/mL y la dosis inicial de aislado de máquina de lavado odorígeno estaba en el rango de 3 x 10³ a 4 x 10³ UFC/mL. Las proporciones de aislado de máquina de lavado odorígeno a *Bacillus* de control de olor oscilaban de 1:1.65 a 1:2.18.

45 En los puntos temporales 24 y 48 en la incubación, los tubos fueron probados de modo destructivo, eliminando las probetas en un tarro de vidrio (Fisher cat#02-911-773).

El mal olor en las probetas en el tarro de vidrio se aclimató durante toda la noche (aproximadamente 17 horas).

Las jarras fueron ventiladas una hora antes de que el panel de olor comenzara y luego se reconstruyó inmediatamente.

El panel de olor consistió en 5 voluntarios.

Los voluntarios abrieron cada tarro de uno a uno, olieron el contenido y estimaron el olor en una escala de 0 a 5,0 es sin olor, 1 = olor leve, 2 = olor escaso, 3 = olor moderado, 4 = olor fuerte y 5 olor =ofensivo/extremadamente fuerte.

Hubo una espera de un minuto entre cada pregunta a los voluntarios sobre la valoración de cada tarro.

- 5 Después de que los voluntarios terminaran de oler cada tarro, hubo una una hora de espera antes de que el siguiente voluntario probara las jarras.

Los resultados previstos en tablas 9-11 de abajo muestran las puntuaciones medias para el olor como se ha determinado por el panel de olor.

- 10 Tabla 9 - Resultados de Panel de olor medio para aislado de máquina de lavado odorigénico ML5-1

	Promedio de intensidad de olor*	
	24 Hora	48 Hora
ML5-1	4.2	4.6
PTA-7543	4	3.2
ML5-1 + PTA-7543	2.8	3.8
ML5-1 + NRRL B-50706	2.8	2.2
EI NRRL B-50706	1.2	1.2
Intensidad de *olor: 0=sin olor, 1=olor leve, olor 2= escaso, olor 3=moderado, olor 4=fuerte y 5= olor ofensivo		

Tabla 10 - Promedio de resultados de panel de olor para aislados de máquina de lavado odorigénicos EL1-2

	Promedio de intensidad de olor*	
	24 Horas	48 Horas
EL1-2	4	4.8
EL1-2 + PTA-7543	3.6	2.2
EL1-2 + NRRL B-50706	3.2	2
PTA-7543	2.2	3.4
NRRL B-50706	2	2.6
Intensidad de *olor: 0=sin olor, 1= olor leve, olor 2=escaso, olor 3=moderado, olor 4=fuerte y 5= olor ofensivo		

- 15

Tabla 11 - Promedio de resultados de panel de olor para aislado de máquina de lavado odorigénico EL4-3

	Promedio de intensidad de olor*	
	24 Horas	48 Horas
EL4-3 + NRRL B-50706	3.4	2
NRRL B-50706	3.4	3.8
EL4-3 + PTA-7543	3.2	3
PTA-7543	3	2.4
EL4-3	2	3.8
Intensidad de *olor: 0=sin olor, 1=olor leve, olor 2=escaso, olor 3=moderado, olor 4=fuerte y 5= olor ofensivo		

- 20 [0105] Como se ha reflejado en las tablas 9-11, las puntuaciones medias que fueron agrupadas de un panel de olor de voluntarios, indicaron que el olor de aislados de máquina de lavado odorigénicos únicos (ML5-1 [*Agrobacterium tumefaciens*], EL1-2 [*Micrococcus luteus*] y EL4-3 [*Rhodococcus opacus*] respectivamente), en presencia de candidatas de *Bacillus* de control de olor (PTA-7543 y NRRL B-50706) fue mitigado.

PTA-7543 Y NRRL B-50706 redujo el olor de ML5-1 en 24 y 48 horas, PTA-7543 y NRRL B-50706 redujo el olor de EL1-2 en 24 y 48 horas y PTA-7543 y NRRL B-50706 redujo el olor de EL1-2 en 48 horas solo.

- 25 [0106] La invención descrita y reivindicada aquí no tiene un alcance limitativo por los ejemplos de realización específicos aquí descritos, ya que estos ejemplos de realización se destinan como ilustraciones de diferentes aspectos de la invención.

Se pretende que cualquier ejemplos de realización equivalente esté dentro del alcance de esta invención.

- 30 De hecho, varias modificaciones de la invención además de aquellas mostradas y descritas aquí serán claras para los expertos en la técnica a partir de la descripción precedente.

También se pretende que tales modificaciones estén dentro del alcance de las reivindicaciones anexas.

En el caso de conflicto, la presente descripción incluyendo las definiciones servirán de control.

Varias referencias son citadas aquí, las descripciones de las cuales se incorporan por referencia en sus totalidades.

- 35

Resumen

- 40 [0107] La invención se refiere a bacterias de control de mal olor y métodos relativos y composiciones para el control y prevención del mal olor.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Método de inhibición o prevención de la producción de mal olor de la ropa sucia provocado por al menos una bacteria que causa mal olor o al menos una bacteria capaz de causar mal olor, que comprende poner en contacto un tejido o una máquina de lavado con al menos un microorganismo capaz de inhibir o prevenir la producción de mal olor provocada por al menos una bacteria que causa mal olor o al menos una bacteria capaz de causar mal olor, donde al menos un microorganismo capaz de inhibir o prevenir la producción del mal olor es la cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016.
- 10 2. Método según la reivindicación 1, donde el contacto comprende la administración de la cepa de *Bacillus pumilus* NRRL B-50016 a una máquina de lavado.
- 15 3. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde el contacto se produce durante un proceso de lavado.
4. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde el contacto se produce en una máquina de lavado nueva.
- 20 5. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde el contacto se produce en una máquina de lavado después de uno o más usos de dicha máquina de lavado.
- 25 6. Método según la reivindicación 1, donde al menos una bacteria que causa mal olor o al menos una bacteria capaz de causar mal olor es al menos una especie bacteriana seleccionada del grupo que consiste en *Bacillus amyloliquefaciens*, *Acinetobacter junii*, *Bacillus subtilis*, *Janibacter melois*, *Sphingobium ummariense*, *Sphingomonas panni*, *Sphingomonadaceae sp.*, *Actinobacter tandoii*, *Junibacter melonis*, *Curtobacterium flaccumfaciens*, *Flavobacterium denitrificans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Leclercia adecarboxilata*, *Enterobacter sp.*, *Cronobacter sakazakii*, *Bacillus megaterium*, *Sphingobacterium faecium*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas veronii*, *Microbacterium luteolum*, *Morganella morganii*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas sp.*, *Pseudomonas-marginalis*, *Citrobacter sp.*, cepa de *Escherichia coli* JCLys5, *Roseomonas acuática*, *Pseudomonas panipatensis*, *BreviBacillus subtilis subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus pumilus*, *Ralstonia eutropha*, *Caulobacter fusiformis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Rhodococcus opacus*, *Breviundimonas intermedia*, *Agrobacterium tumefaciens* y combinaciones de las mismas.
- 30