



Relación inversa entre el número de extracciones sanguíneas y la fragilidad osmótica eritrocitaria en carneros

Inverse relationship between the number of blood draws and the osmotic fragility of sheep erythrocytes

Águila-Pérez, Luis Miguel ¹

Aquino-Perna, Angel ²

Pérez-Bernal, Maylin ^{1*}

Fernández-Pérez, Adria ¹

Hernández-Díaz, Carlos ¹

¹Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de Sancti Spíritus, Circunvalante Norte, Olivos 3, Sancti Spíritus, Cuba

²Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad "José Martí", Avenida de los Mártires 360, Sancti Spíritus, Cuba

Recibido: 24 Set. 2025 | Aceptado: 30 Set. 2025 | Publicado: 14 Oct. 2025

Autor de correspondencia*: maylin.perez@cigb.edu.cu

Cómo citar este artículo: Águila-Pérez, L. M., Aquino-Perna, A., Pérez-Bernal, M., Fernández-Pérez, A. & Hernández-Díaz, C. (2025). Relación inversa entre el número de extracciones sanguíneas y la fragilidad osmótica eritrocitaria en carneros. *Revista de Veterinaria y Zootecnia Amazónica*, 5(2), e1190. <https://doi.org/10.51252/revza.v5i2.1190>

RESUMEN

La sangre de carnero es un reactivo biológico importante para los laboratorios clínicos y microbiológicos. Es esencial mantener la integridad celular de sus eritrocitos cuando se utiliza en reacciones hemolíticas en protocolos de diagnóstico. El objetivo del presente trabajo fue determinar la relación entre el número de extracciones de sangre en carneros y la fragilidad osmótica eritrocitaria, y su correlación con el tiempo de almacenamiento de la sangre a (2-8)°C, con su robustez térmica 16 h a temperatura de laboratorio (22-25) °C, y con el bienestar y el comportamiento de los carneros. Los experimentos revelaron que la fragilidad osmótica eritrocitaria está inversamente relacionada con el número de extracciones de sangre. La concentración de hemoglobina se mantuvo en el rango normal hasta seis extracciones de sangre, y no cambiaron los indicadores de bienestar ni del comportamiento animal. Los eritrocitos mantuvieron su integridad osmótica durante 42 días de almacenamiento a (2-8) °C y hasta 16h a (22-25) °C. Este trabajo ha demostrado, por primera vez, la resistencia de la sangre de carnero a la hemólisis, tras repetidas extracciones de sangre al mismo animal o exposición a temperaturas subóptimas, lo que la confirma como un reactivo fiable en los procedimientos diagnósticos rutinarios.

Palabras clave: almacenamiento de sangre; bienestar animal; sangre de codero

ABSTRACT

Sheep blood is an important biological reagent for clinical and microbiological laboratories. It is essential to maintain the cellular integrity of its erythrocytes when used in hemolytic reactions of diagnostic protocols. The objective of this study was to determine the relationship between the number of blood draws in rams and erythrocyte osmotic fragility, and its correlation with blood storage time at (2-8) °C, with its thermal robustness for 16 h at laboratory temperature (22-25) °C, and with the welfare and behavior of the rams. The experiments revealed that erythrocyte osmotic fragility is inversely related to the number of blood draws. Hemoglobin concentration remained within the normal range for up to six blood draws, and indicators of animal welfare and behavior did not change. Erythrocytes maintained their osmotic integrity for 42 days of storage at (2-8) °C and for up to 16 h at (22-25) °C. This work has demonstrated, for the first time, the resistance of sheep blood to hemolysis after repeated blood draws from the same animal or exposure to suboptimal temperatures, confirming its use as a reliable reagent in routine diagnostic procedures.

Keywords: blood storage; animal welfare; sheep blood



1. INTRODUCCIÓN

La sangre de carnero es un reactivo biológico de máxima importancia como suplemento nutritivo para la preparación de medios de cultivo basados en agar, para ensayos preclínicos y para el desarrollo de biomarcadores con fines diagnósticos (1, 2). Se ha utilizado en procedimientos como la evaluación de las actividades funcionales del complemento y en pruebas hemolíticas, y se considera el reactivo estándar de referencia para definir reacciones hemolíticas y permitir una mejor visualización de la hemólisis (3). En la prueba hemolítica, algunas bacterias, como *Streptococcus pyogenes*, producen hemolisinas que destruyen los eritrocitos (4). Si la sangre de carnero empleada como reactivo ya estuviera hemolizada, no sería posible distinguir entre la hemólisis causada por la bacteria y la preexistente. Además, es esencial mantener la integridad celular de los eritrocitos para evaluar correctamente los tipos de hemólisis y preservar sus antígenos de superficie, fundamentales para las pruebas de aglutinación y otros inmunoensayos (5). Por lo tanto, el uso de sangre de carnero no hemolizada garantiza resultados confiables, reproducibles y clínicamente útiles.

Los estudios de ciencias básicas han sugerido que, al menos desde una perspectiva molecular, los productos sanguíneos almacenados a largo plazo son cualitativamente diferentes de aquellos almacenados a corto plazo, ya que los eritrocitos almacenados experimentan cambios bioquímicos, morfológicos y funcionales (6). Estas modificaciones se han denominado “lesiones de almacenamiento”, y algunas de sus causas incluyen la acumulación o el agotamiento de metabolitos —para lo cual se han incorporado soluciones aditivas— y los daños oxidativos, que no se han estudiado en profundidad (7). Una de estas lesiones de almacenamiento de la sangre es la hemólisis de los eritrocitos (8).

Numerosos factores intrínsecos y extrínsecos influyen en la fragilidad osmótica de los glóbulos rojos. Los factores extrínsecos incluyen el tipo, la fuerza iónica y el pH del medio de incubación, el anticoagulante y el tiempo de almacenamiento de la sangre, mientras que los factores intrínsecos comprenden el sexo, la edad, la raza y los factores genéticos, entre otros (9).

La prueba de fragilidad osmótica se utiliza convencionalmente para evaluar la resistencia de los eritrocitos a la hemólisis, empleando una serie de soluciones hipotónicas de cloruro de sodio (NaCl) (10). Esta técnica analítica se aplica actualmente de forma amplia en los laboratorios clínicos para evaluar la deformabilidad y viabilidad eritrocitaria bajo diferentes condiciones de almacenamiento (11, 12).

La estabilidad de los eritrocitos ovinos para uso de laboratorio se conoce desde comienzos del siglo XX (13). Sin embargo, hasta la fecha no se han realizado estudios para determinar la influencia de las extracciones de sangre repetidas, del mismo animal, sobre la estabilidad de la sangre de carnero, medida mediante la fragilidad osmótica de los eritrocitos. También se desconoce cómo las extracciones repetidas afectan la fragilidad osmótica de la sangre almacenada y el bienestar de los carneros donantes de sangre.

El objetivo de este trabajo fue determinar la fragilidad osmótica eritrocitaria en carneros donantes de sangre con distintos números de extracciones. Se estudió el efecto de las extracciones repetidas sobre la fragilidad osmótica de los eritrocitos y sobre el bienestar animal, teniendo en cuenta la variabilidad biológica entre los carneros. También se monitoreó la estabilidad de la sangre en función del tiempo de almacenamiento (2–8) °C y del número de extracciones. La robustez térmica de la sangre se evaluó según su permanencia durante 16 h a temperatura de laboratorio (22–25) °C y en relación con el número de extracciones.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Animales

Se seleccionaron carneros sanos de la raza Pelibuey de color rojo oscuro, de dos años y seis meses de edad, con un peso entre 50 y 70 kg. Se mantuvieron en condiciones semi-estabuladas con acceso a pasturas y alimento suplementario, consistente en una dieta basada en concentrado que incluía maíz, harina de soya, alfalfa, metionina, lisina, fosfato monocálcico, carbonato de calcio, sal común, premezcla vitamínico-mineral y glucosa.

2.2. Toma de sangre de carnero

Las extracciones se realizaron conforme a las Guías del WVU IACUC (14). La recolección de sangre en bolsas se efectuó sobre una mesa quirúrgica. Durante el procedimiento, los animales fueron inmovilizados adecuadamente. Las bolsas usadas para la recolección y el almacenamiento eran de policloruro de vinilo (PVC) con el plastificante DEHP (ftalato de di-2-etilhexilo). Cada bolsa con CPD (citrato-fosfato-dextrosa) contiene, por cada 100 mL de agua para inyección: 0.299 g de ácido cítrico anhidro; 2.630 g de citrato de sodio dihidratado; 0.222 g de fosfato monohidratado de sodio; y 2.550 g de dextrosa monohidratada. Cada bolsa utilizada contenía 63 mL de anticoagulante para la recolección de 450 mL de sangre total.

Para evaluar el efecto de la variabilidad biológica de los carneros sobre la fragilidad osmótica eritrocitaria, medida dentro de las 3 h posteriores a la recolección, los animales permanecieron inmóviles. La sangre no se recolectó en bolsas, sino en tubos Vacuette®. La sangre obtenida de cada carnero se transfirió cuidadosamente a tubos Vacuette® de 2 mL, tipo K3E (K3EDTA), asegurando que fluyera lentamente por la pared del tubo para evitar la hemólisis. Se extrajeron aproximadamente 1.96–1.98 mL de sangre por cada 0.02–0.04 mL de anticoagulante.

2.3. Prueba de fragilidad osmótica de eritrocitos

Para cuantificar la fragilidad osmótica eritrocitaria, se realizó una modificación del método de Aldrich et al. (15), utilizando una solución de NaCl al 10% (p/v) disuelta en tampón fosfato (10 mM; pH 7.4). Esta solución de NaCl se diluyó con tampón fosfato para preparar nueve soluciones con diferentes concentraciones de NaCl: 0.9%, 0.8%, 0.7%, 0.6%, 0.4%, 0.35%, 0.3%, 0.2% y 0.1%. La solución 0.00% consistió en 1 mL de agua destilada. Todas las soluciones se prepararon por duplicado en tubos Eppendorf®. Cada tubo, con 1 mL de cada solución por separado, se vortexó durante 10 segundos y se añadieron 26 µL de sangre de carnero previamente homogeneizada mediante inversiones repetidas cuidadosas. Esta mezcla final se homogeneizó nuevamente siguiendo el procedimiento anterior y se dejó reposar durante 30 min a temperatura ambiente (22–25 °C).

Transcurrido este tiempo, cada tubo se homogeneizó de nuevo y se centrifugó a 3000 rpm (604 × g) durante 5 min a 20 °C. Luego, se aplicaron 100 µL de cada muestra, por triplicado, en una placa de lectura. La absorbancia a 530 nm (A530nm) se midió en un lector de placas SUMA (TecnoSUMA International, La Habana, Cuba).

El porcentaje de hemólisis se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Hemólisis (\%)} = \frac{A(\text{muestra}) - A(0.9\%)}{A(H_2O) - A(0.9\%)} \times 100$$

Dónde:

A (muestra): el A530nm promedio de la muestra de sangre en cada concentración de NaCl.

A (0.9%): el A530nm de la muestra de sangre de carnero más 0.9% de NaCl (máxima concentración de NaCl usada en la prueba).

A (H_2O): el A530nm de la hemólisis total de la muestra de sangre de carnero en agua destilada (solución 0.00%).

Para graficar el porcentaje de hemólisis en función de la concentración de NaCl, se ajustó una curva sigmoide a una función logística de cinco parámetros utilizando GraphPad Prism, versión 8.0.1. La concentración de NaCl a la que el 50% de los eritrocitos están hemolizados (C-50), parámetro obtenido directamente de la salida del programa, se consideró el indicador de fragilidad osmótica.

2.4. Evaluación de la influencia del número de extracciones de sangre sobre la fragilidad osmótica eritrocitaria y el bienestar animal

En este estudio se utilizaron dos grupos de carneros sometidos a extracciones repetidas. El Grupo 1 estuvo formado por cuatro carneros con el menor número de extracciones: tres con tres extracciones y una con dos. El Grupo 2 estuvo compuesto por seis carneros con el mayor número de extracciones: cuatro con cinco extracciones y dos con seis. En todos los casos, la sangre se recolectó en tubos Vacuette® para la prueba de fragilidad osmótica.

Se emplearon indicadores generales de bienestar (condición corporal, consumo de alimento y actividad física), comportamiento (signos de estrés, agresividad o apatía), así como la concentración de hemoglobina, cuantificada según Drabkin y Austin (16), para evaluar el impacto de las extracciones repetidas en los carneros donantes.

2.5. Análisis del efecto del tiempo de almacenamiento de la sangre de carnero a (2–8) °C y del número de extracciones sobre la fragilidad osmótica eritrocitaria

Se utilizaron tres bolsas de sangre correspondientes, respectivamente, a un carnero sometido a dos extracciones, otra a cuatro y la última a seis extracciones. La fragilidad osmótica eritrocitaria de la sangre de cada bolsa se midió a los 0, 7, 14, 21, 30 y 42 días de almacenamiento a (2–8) °C.

2.6. Evaluación de la robustez térmica de la sangre de carnero tras 16 h a 22–25 °C

Se analizó la robustez térmica de la sangre de dos carneros con dos y seis extracciones, respectivamente. La sangre había sido almacenada durante 15 días en bolsas a (2–8) °C. Posteriormente, se transfirieron 4 mL de sangre de cada bolsa a tubos Eppendorf®. Estos se dejaron en la mesa del laboratorio a (22–25) °C desde las 17:00 hasta las 9:00 de la mañana siguiente (total: 16 h). La sangre de cada carnero que permaneció en las bolsas a (2–8) °C se utilizó como control para este experimento.

Se aplicó la prueba de fragilidad osmótica a la sangre mantenida a (22–25) °C durante 16 h y sus resultados se compararon con los del control almacenado a (2–8) °C.

Análisis estadístico

Los experimentos que evaluaron el efecto del tiempo de almacenamiento de la sangre de carnero (2–8) °C sobre la fragilidad osmótica eritrocitaria y la robustez térmica de la sangre se analizaron mediante ANOVA de dos vías. Las comparaciones múltiples de medias se realizaron con la prueba de la diferencia mínima significativa (LSD), usando la corrección de Bonferroni. El tamaño del efecto se midió con el eta-cuadrado parcial.

La influencia del número de extracciones de sangre sobre la fragilidad osmótica eritrocitaria y la concentración de hemoglobina, teniendo en cuenta la variabilidad biológica, se analizó mediante una prueba t para muestras independientes. El tamaño del efecto se evaluó con la estadística d de Cohen.

Los análisis estadísticos se realizaron con el software SPSS 25 (Statistical Package for the Social Sciences; SPSS Inc., Chicago, IL). Todas las inferencias estadísticas se efectuaron con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Influencia del número de extracciones de sangre sobre la fragilidad osmótica eritrocitaria y el bienestar animal

En este experimento se evaluaron dos grupos de carneros que diferían en el número de extracciones realizadas a los animales incluidos en cada uno. Fue posible evaluar la influencia del número de extracciones sobre la fragilidad osmótica, teniendo en cuenta la variabilidad biológica entre los carneros. Esto permite incorporar dicha variabilidad biológica en el error experimental y obtener resultados representativos de la población de estudio.

En la evaluación del impacto de las extracciones repetidas sobre la fragilidad osmótica eritrocitaria (Fig. 1A), se observaron diferencias significativas entre ambos grupos ($p = 0.028$). El tamaño del efecto del número de extracciones sobre la concentración de NaCl que produjo el 50% de hemólisis, medido mediante la d de Cohen ($d = 1.73$), fue muy alto, lo que indica que el número de extracciones es un factor con impacto significativo en la fragilidad osmótica eritrocitaria. Para el grupo con menor número de extracciones, el C-50 promedio fue significativamente mayor (0.58%) que para el grupo con mayor número de extracciones (0.47%).

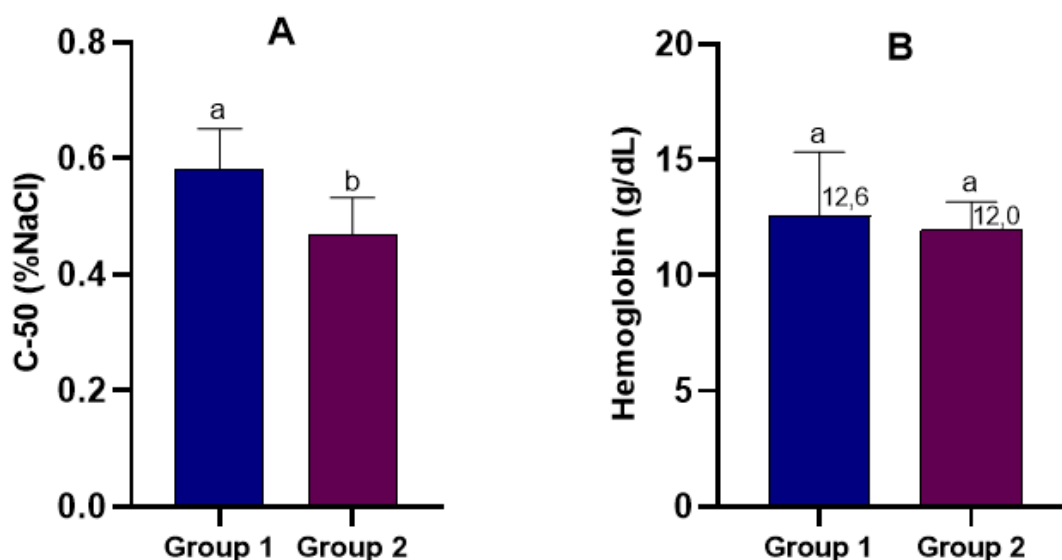


Figura 1. Efecto del número de extracciones de sangre sobre la fragilidad osmótica eritrocitaria (A) y la concentración de hemoglobina (B). C-50 es la concentración de NaCl a la cual el 50% de los eritrocitos se hemolizan.

Cada columna representa el promedio aritmético $\pm$ desviación estándar. Grupo 1: cuatro carneros con 2 a 3 extracciones. Grupo 2: seis carneros con 5 a 6 extracciones. Letras diferentes en las columnas de los gráficos indican diferencias significativas entre grupos, según la prueba t para muestras independientes ($p < 0.05$)

Hasta donde sabemos, este es el primer informe en carneros sobre el efecto del número de extracciones de sangre en la fragilidad osmótica eritrocitaria, en particular que pueden volverse más resistentes a la hemólisis osmótica con extracciones sucesivas.

Esto podría deberse a mecanismos de adaptación fisiológica a las extracciones repetidas, que involucren cambios en la composición de la membrana celular o modificaciones en la respuesta del sistema hematopoyético. Se ha encontrado que la alta concentración de lípidos totales, colesterol, proteínas, esfingomielina y fosfatidilcolina en las membranas eritrocitarias del camello confiere la menor fragilidad osmótica, en comparación con una larga lista de especies animales que presentan concentraciones más bajas de estos componentes (17). Podría pensarse que el mayor número de extracciones en los carneros se

relaciona con el incremento de estas moléculas en la membrana eritrocitaria y que ello les otorga mayor resistencia a los cambios osmóticos.

No se observaron alteraciones en los indicadores generales de bienestar de los animales. La evaluación de la condición corporal de los carneros es una herramienta clave para monitorear su estado nutricional, salud y bienestar (18). Todos los animales incluidos en el estudio mantuvieron una buena cobertura corporal y estuvieron libres de exceso de grasa. No se observaron signos de estrés, agresividad o apatía en ninguno de los grupos. Marín et al. (2023) (19) señalaron que el manejo requerido para la recolección de sangre puede tener un impacto significativo en el estado y las respuestas de los animales donantes. Los eritrocitos de carnero son sensibles a la hemólisis bajo condiciones de estrés (20), por ejemplo, en situaciones de estrés metabólico con altas demandas energéticas (21). De acuerdo con los resultados del presente trabajo, el aumento de la resistencia a la hemólisis con el incremento del número de extracciones hasta seis indica que estas extracciones sucesivas no constituyeron un estrés que desencadenara hemólisis en la sangre de los carneros participantes.

La concentración de hemoglobina se mantuvo dentro de rangos normales (Fig. 1B) y no hubo diferencias significativas entre los dos grupos de carneros ($p = 0.636$ y una d de Cohen baja de 0.32). El número de extracciones, hasta seis, no afectó los valores normales de este parámetro sanguíneo.

Todos estos resultados indican que las extracciones repetidas, realizadas conforme a las Guías del WVU IACUC (14), no afectaron el bienestar de los carneros. Sin embargo, otros indicadores fisiológicos —como el recuento eritrocitario y la evaluación morfológica— podrían analizarse en estudios futuros para detectar posibles cambios en la ontogenia y eliminación de los glóbulos rojos. También es recomendable monitorear el estado nutricional de los carneros mediante la medición del hierro sérico y de las proteínas plasmáticas totales, considerando que la regeneración sanguínea depende de una ingesta y asimilación adecuadas de nutrientes en los animales.

Efecto del tiempo de almacenamiento de la sangre de carnero a (2–8) °C y del número de extracciones sobre la fragilidad osmótica eritrocitaria

Hasta donde sabemos, este trabajo también informa por primera vez la influencia de la interacción entre el número de extracciones y el tiempo de almacenamiento de la sangre a (2–8) °C sobre la fragilidad osmótica de los eritrocitos de carnero. Aunque la variable con mayor tamaño del efecto sobre C-50 fue el tiempo de almacenamiento (eta-cuadrado parcial = 0.978), es importante señalar que la interacción entre ambos factores fue significativa ($p = 0.002$), lo que significa que no actúan de manera independiente sobre la fragilidad osmótica eritrocitaria y que el tamaño del efecto interactivo es alto (eta-cuadrado parcial = 0.723).

La sangre de los carneros participantes mostró una disminución significativa ($p = 0.000$) del C-50 entre el día 0 y el día 7 de almacenamiento a (2–8) °C. Esto implica que, tras una semana a esa temperatura, los eritrocitos se vuelven más resistentes a la hemólisis. Reed (13) observó este mismo fenómeno, aunque después de diez días.

En general, desde los 7 hasta los 42 días de almacenamiento, el promedio de los valores de C-50 se mantuvo constante ($p \geq 0.098$). Este mismo comportamiento hasta el día 82 fue descrito por Reed (13), pero sin considerar el número de extracciones realizadas a los carneros.

En el día 0, los promedios de C-50 entre los tres carneros fueron diferentes ($p \leq 0.045$). El C-50 promedio más alto se encontró en el carnero con dos extracciones y el más bajo en el carnero con seis extracciones (Fig. 2). Este resultado es coherente con los del experimento previo y respalda que, a mayor número de extracciones, menor es la fragilidad osmótica de los eritrocitos.

Los resultados de este experimento indican que, independientemente del comportamiento diferencial de la fragilidad osmótica en función del número de extracciones, la sangre de carnero mantiene su integridad osmótica durante al menos 42 días. Este hallazgo aporta información importante sobre la estabilidad de la sangre de carnero almacenada para su uso como reactivo biológico en laboratorios.

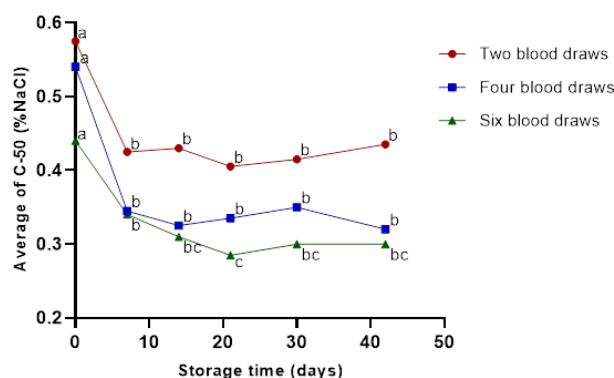


Figure 2. Influencia del tiempo de almacenamiento (2–8 °C) y del número de extracciones sobre la fragilidad osmótica eritrocitaria. C-50 es la concentración de NaCl a la cual el 50% de los eritrocitos se hemolizan. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tiempos de almacenamiento para cada curva, según un ANOVA de dos vías con comparaciones múltiples de medias, usando la prueba de diferencia mínima significativa (LSD) y la corrección de Bonferroni ($p < 0.05$)

Robustez térmica de la sangre de carnero tras 16 h a 22–25 °C

La robustez es la capacidad de un procedimiento analítico para mantener sus mediciones sin cambios cuando se introducen variaciones pequeñas y deliberadas en las condiciones experimentales (22). Los reactivos biológicos, como la sangre, también pueden experimentar alteraciones en su integridad física, química y biológica cuando se someten a cambios prácticos imprevistos. Por ejemplo, en laboratorios clínicos y microbiológicos que procesan numerosas muestras, el procesamiento analítico puede sufrir retrasos, lo que se traduce en tiempos de almacenamiento más prolongados a temperatura de laboratorio, que no es la temperatura óptima de conservación. No se han publicado estudios específicos que analicen la fragilidad osmótica de los eritrocitos en sangre de carnero almacenada a temperatura ambiente como reactivo.

Este experimento se realizó para evaluar la robustez de la sangre de carnero en función del tiempo que permanece a temperatura de laboratorio (22–25 °C). Se eligió un tiempo de retención de 16 horas porque representa una situación realista que puede darse en el laboratorio, donde las muestras pueden permanecer en la mesa desde el final de la jornada laboral hasta la mañana siguiente.

No se observaron diferencias significativas ($p = 0.230$) en el C-50 entre la sangre control (2–8 °C) y las muestras que permanecieron a 22–25 °C durante 16 h (Fig. 3A).

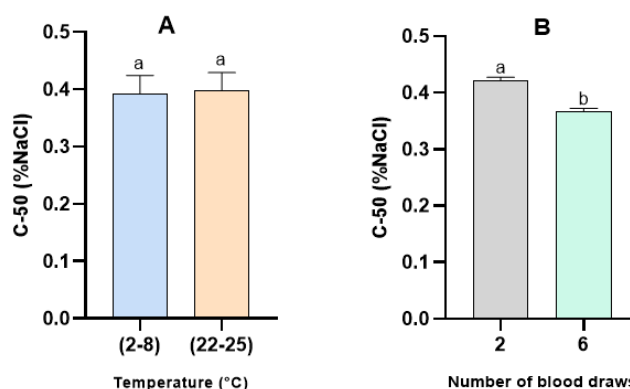


Figure 3. Robustez térmica de la sangre de carnero (A) con diferente número de extracciones (B). C-50 es la concentración de NaCl a la cual el 50% de los eritrocitos se hemolizan. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los factores evaluados, según un ANOVA de dos vías con comparaciones múltiples de medias, usando la prueba de diferencia mínima significativa (LSD) con corrección de Bonferroni ($p < 0.05$).

Como en los experimentos anteriores, se mantuvieron diferencias significativas ($p = 0.0001$) en el C-50 entre carneros con distinto número de extracciones (Fig. 3B).

Sin embargo, en este caso, la interacción entre este factor y el tiempo que la sangre permaneció a temperatura de laboratorio no tuvo un impacto significativo ($p = 1.000$) sobre la fragilidad osmótica. Esto indica que la sangre mantiene su robustez hasta por 16 h tras permanecer a (22–25) °C, independientemente del número de extracciones realizadas al animal donante.

Estos resultados han demostrado que la resistencia de la sangre de carnero a la hemólisis, incluso después de extracciones sucesivas del mismo animal o de una exposición prolongada a condiciones ambientales subóptimas, la convierte en un reactivo confiable en laboratorios clínicos y microbiológicos.

CONCLUSIÓN

Todos los experimentos realizados en este trabajo sugieren que la fragilidad osmótica de los eritrocitos de carnero se relaciona inversamente con el número de extracciones de sangre. Los eritrocitos ovinos aumentan su resistencia a la hemólisis durante la primera semana de almacenamiento a (2–8) °C. La sangre almacenada presenta menor hemólisis si proviene de carneros con un mayor número de extracciones. Los indicadores generales de bienestar y el comportamiento animal no se ven afectados por el incremento de las extracciones. La sangre de carnero es un reactivo biológico robusto que puede permanecer a (22–25) °C hasta por 16 h sin cambios en su fragilidad osmótica eritrocitaria.

Este trabajo ha demostrado, por primera vez, la resistencia de la sangre de carnero a la hemólisis, incluso tras extracciones repetidas del mismo animal o la exposición a temperaturas subóptimas, lo que la convierte en un reactivo biológico confiable para procedimientos diagnósticos de rutina.

FINANCIAMIENTO

No se contó con fuentes específicas de financiamiento para esta investigación.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores no tienen conflictos de interés que declarar en relación con la autoría o la publicación de este artículo.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Curación de datos, investigación, metodología, recursos, software, visualización y redacción – borrador original: Águila-Pérez, L. M. Conceptualización, investigación, metodología, administración del proyecto y supervisión: Aquino-Perna, A. Visualización, software, redacción – borrador original, redacción – revisión y edición: Pérez-Bernal, M. Investigación: Fernández-Pérez, A. Análisis formal, investigación, metodología, supervisión, validación y redacción – borrador original: Hernández-Díaz, C.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chacón AV. Evaluation of ram blood as nutritive supplement in culture media: citrated and defibrinated. *MediSan*. [Internet] [Accessed 4 Sep 2025]. 2021; 25(03). Available in: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenI.cgi?IDARTICULO=109221>
2. Očenáš P, Baloga M., Valko-Rokytkovská M, Ivašková S. Determination of Biochemical and Metabolomic Characteristics of Sheep Blood Serum and Their Application in Clinical Practice. *Life* [Internet]. 2025; 15(7):1141. Available in: <https://doi.org/10.3390/life15071141>
3. Chabannes M, Bordereau P, Martins PV, Dragon-Durey M.A. Sheep Erythrocyte Preparation for Hemolytic Tests Exploring Complement Functional Activities. In: Roumenina, L.T. (eds) *The Complement System*. [Internet] 2021; Methods in Molecular Biology, vol. 2227. Humana, New York, NY. Available in: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1016-9_6
4. Thualfakar HHA, Abdul Hussein A, Almahbob TF. Review of Streptococcus pyogenes. *Qeios*. [Internet] 2023. Available in: <https://doi.org/10.32388/BCSYBU.2>
5. Tang SH, Lin HC, Chang JB, Chan YS, Tang HF, Chang FY, et al. Preservation of red blood cell antigenicity in a new storage solution in vitro. *Ann. Med.* [Internet]. 2023; 55:168–174. Available in: <https://doi.org/10.1080/07853890.2022.2157476>
6. D'Alessandro A, Hod EA. Red blood cell storage: from genome to exposome towards personalized transfusion medicine. *Transfus. Med. Rev.* [Internet]. 2023; 37(4):150750. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2023.150750>
7. Yoshida T, Prudent M, D'alessandro A. Red blood cell storage lesion: causes and potential clinical consequences. *Blood transfusion = Trasfusione del sangue* [Internet]. 2019; 17(1):27–52. Available in: <https://doi.org/10.2450/2019.0217-18>
8. Arif SH, Yadav N, Rehman S, Mehdi G. Study of Hemolysis During Storage of Blood in the Blood Bank of a Tertiary Health Care Centre. *Indian J. Hematol. Blood Transfus.* [Internet]. 2017; 33(4):598-602. Available in: <https://doi.org/10.1007/s12288-016-0769-5>
9. Igbokwe N. A review of the factors that influence erythrocyte osmotic fragility. *Sokoto Journal of Veterinary Sciences*. [Internet]. 2019; 16(4):1-23. Available in: <https://doi.org/10.4314/SOKJVS.V16I4.1>
10. Salvagno GL, Demonte D, Dima F, Bovo C, Lippi G. Stability of refrigerated whole blood samples for osmotic fragility test. *Hematol. Transfus. Cell. Ther.* [Internet]. 2020; 42(2):134-138. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.htct.2019.06.001>
11. Ilić M, Ivković M, Radaković M, Spariosu K, Andrić N, Kovačević M, et al. Association of increased osmotic fragility of red blood cells with common systemic inflammatory diseases in dogs. *Pak. Vet. J.* [Internet]. 2023; 43(3):463-469. Available in: <https://doi.org/10.29261/pakvetj/2023.048>
12. Gerda BA, Skverchinskaya EA, Andreeva AY, Volkova AA, Gambaryan S, Mindukshev IV. A Comparative Analysis of Erythrocyte Osmotic Fragility across Vertebrate Taxa. *J. Evol. Biochem. Phys.* [Internet]. 2024; 60(4):1363-1384. Available in: <https://doi.org/10.1134/S0022093024040094>
13. Reed GB. Preservation of Red Blood Cells for Hemolytic Reactions. *J. Infect. Dis.* [Internet]. 1929; 45(4):247-254. Available in: <https://doi.org/10.1093/infdis/45.4.247>

14. WVU IACUC Guidelines: Blood Collection – Maximum Volumes and Fluid Replacement. IACUC 20-005. [Internet] [Accessed 15 Jan 2025]. 2023; Version 2. Available in: <https://animal.research.wvu.edu/files/d/f050dd7d-efcf-4314-9b36-8c3f446a809d/blood-collection-guidelines.pdf>
15. Aldrich KJ, Saunders DK, Sievert LM, Sievert G. Comparison of erythrocyte osmotic fragility among amphibians, reptiles, birds and mammals. *Trans. Kans. Acad.* [Internet]. 2006; 109(3):149-158. Available in: [https://doi.org/10.1660/0022-8443\(2006\)109\[149:COEOFA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1660/0022-8443(2006)109[149:COEOFA]2.0.CO;2)
16. Drabkin DL, Austin JH. Spectrophotometric studies: I. Spectrophotometric constants for common hemoglobin derivatives in human, dog, and rabbit blood. *JBC* [Internet]. 1932; 98(2):719-733. Available in: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)76122-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)76122-X)
17. Al-Qarawi AA, Mousa HM. Lipid concentrations in erythrocyte membranes in normal, starved, dehydrated and rehydrated camels (*Camelus dromedarius*), and in normal ram (*Ovis aries*) and goats (*Capra hircus*). *J. Arid Environ.* [Internet]. 2004; 59(4):675-683. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2004.02.004>
18. Shirke VG, Kandalkar YB, Tanpure MU. Assessment of body condition score as an indicator of nutritional status in Sangamneri goats. *Int. J. Vet.* [Internet] [Accessed 18 June 2025]. 2024; 9:128-130. Available in: <https://www.veterinarypaper.com/pdf/2024/vol9issue3/PartB/9-3-26-361.pdf>
19. Marin N, Moragon A, Gil D, Garcia-Garcia F, Bisbal V. Acclimation and Blood Sampling: Effects on Stress Markers in C57Bl/6J Mice. *Animals* [Internet]. 2023; 13(18):2816. Available in: <https://doi.org/10.3390/ani13182816>
20. Granados Zúñiga, J. Fragilidad osmótica de los eritrocitos de carnero en relación con su uso en el laboratorio clínico. *Rev. Cost. Cienc. Méd.* [Internet] [Accessed 1 July 2025]. 1993; 14:55-59. Available in: <https://hdl.handle.net/10669/336>
21. Forchetti O, Maffrand C, Vissio C, Boaglio C, Cufré G. Hipofosfatemia y fragilidad osmótica eritrocítica en cabras. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET®* [Internet] [Accessed 27 July 2025]. 2006; 7(1). Available in: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63612648002.pdf>
22. Ferreira SL, Caires AO, Borges TDS, Lima AM, Silva LO, dos Santos WN. Robustness evaluation in analytical methods optimized using experimental designs. *Microchem. J.* [Internet]. 2017; 131:163-169. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2016.12.004>