



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap**
Institutionen för Kliniska vetenskaper

Analys av specifik vikt i hund- och katturin

Det finns inget behov av specifik kattrefraktometer

Maria Näsholm

*Uppsala
2017*

Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2017:37*

Analys av specifik vikt i hund- och katturin. Det finns inget behov av specifik kattrefraktometer. Analysis of urine specific gravity in urine from dogs and cats. There is not a need for specific refractometers for cat urine.

Maria Näsholm

Handledare: Inger Lilliehöök, institutionen för Kliniska Vetenskaper

Examinator: Jeanette Hanson, institutionen för Kliniska Vetenskaper

Examensarbete i veterinärmedicin

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurskod: EX0736

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2016

Delnummer i serie: Examensarbete 2017:37

ISSN: 1652-8697

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: urinens specifik vikt, kattrefraktometer, digital refraktometer, osmolalitet,

Key words: urine specific gravity, cat refractometer, digital refractometer, osmolality

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för Kliniska Vetenskaper

SAMMANFATTNING

Det säljs och används refraktometrar speciellt anpassade till katturin då katturin påstås vara mer refraktär än urin från andra djurslag. Orsaken till varför eller om det behövs är inte ordentligt utredd eller ifrågasatt, men studier visar att specifika kattrefraktometrar ger systematiskt lägre värden för den specifika vikten än övriga refraktometrar.

Syftet med denna studie var att undersöka om det finns anledning att analysera specifik vikt i urin (USG) hos katt och hund med olika refraktometrar. Parade katt- och hundprover (42 av vardera djurslaget) med snarlik USG ($\pm 0,002$) analyserades avseende specifik vikt mätt med tre olika refraktometrar, uppvägd vikt med våg och osmolalitet. Skillnaden för vardera parameter inom paren jämfördes för att upptäcka eventuella systematiska skillnader mellan katt- och hundurin.

Kattrefraktometern gav systematiskt lägre USG än övriga refraktometrar för urinproverna från både hund och katt. Det fanns ingen signifikant eller systematisk skillnad gällande vägd vikt av urinen ($p = 0,31$) inom de parade hund och katturinproven. Urinproven från katt vägde inte mindre än prover från hund med snarlik specifik vikt ($\pm 0,002$). Katturinen hade däremot signifikant högre osmolalitet ($p < 0,01$) än hundurinen, vilket talar för att katter har fler små partiklar i urinen jämfört med hund.

Baserat på dessa resultat finns det ingen anledning att använda specifika kattrefraktometrar för analys av urinspecifik vikt hos katt.

SUMMARY

Today specially made cat refractometers are being sold and used because it is suggested that urine from cats is more refractive than urine from another species. If a special cat refractometer is needed, and in that case why, is not properly investigated or questioned. Studies have shown that cat refractometers give a systematically lower urine specific gravity than other refractometers.

The aim of this study was to investigate whether it is necessary to use different refractometers when analyzing urine specific gravity in urine from cats compared to dogs. Urine samples from cats and dogs ($n = 42$ for each species) were paired based on similar urine specific gravity (± 0.002) and specific gravity measured with refractometers, weighed weight and osmolality were analyzed. The difference between the cat and the dog in each pair of samples was compared to detect possible systematic differences between urine from cats and from dogs.

The cat refractometer gave systematically lower values for urine specific gravity than other refractometers for both cat and dog urine. There was no significant or systematic difference between the species for weighed weight of the urine of the paired samples ($p = 0,31$). The urine samples from the cats did not weigh less than the urine samples from the dogs. However, the cat urine samples had significant higher osmolality than the dog urine samples ($p < 0,01$), which indicates that the cats have more and smaller particles in the urine compared to the dogs.

Based on the results from this study there is no motive for using a special cat refractometer when analyzing urine specific gravity in cats.

INNEHÅLL

INLEDNING	1
LITTERATURÖVERSIKT	2
NJURENS FYSIOLOGI OCH PRODUKTION AV URIN	2
<i>Mängd och koncentration av urin</i>	2
<i>Urinens sammansättning</i>	3
SPECIFIK VIKT OCH DENSITET	3
<i>Att mäta specifik vikt</i>	4
Mätning av specifik vikt i katturin	6
OSMOLALITET	7
RELATIONEN MELLAN SPECIFIK VIKT OCH OSMOLALITET	8
MATERIAL OCH METODER	10
PROVMATERIAL OCH PROVHANTERING	10
PARADE HUND- OCH KATTURINPROVER MED SNARLIK SPECIFIK VIKT	10
KONTROLLPROVER	10
ANALYS AV SPECIFIK VIKT	11
VIKT AV URIN	11
ANALYS AV OSMOLALITET	12
LINJÄRITET	13
DATAHANTERING OCH STATISTIK	13
RESULTAT	14
ÖVERENSTÄMMELSE MELLAN OLIKA REFRAKTOMETRAR, SAMT VÄGD VIKT FÖR ALLA PROVER	14
PARADE PROVER MED SNARLIK SPECIFIK VIKT	15
<i>Vikt och specifik vikt</i>	15
<i>Osmolalitet</i>	18
SAMBAND MELLAN OSMOLALITET OCH SPECIFIK VIKT	19
<i>Beräknad osmolalitet och specifik vikt</i>	19
LINJÄRITET	19
DISKUSSION	21
KONKLUSION	23
ACKNOWLEDGEMENTS	24
REFERENSER	25

INLEDNING

Ett viktigt sätt att mäta njurarnas hälsa är att mäta dess förmåga att koncentrera eller späda urinen beroende på kroppens vätskestatus. Detta mäts bäst genom att mäta urinens osmolalitet, men instrument som används för analys av osmolalitet är sällan tillgängliga. Ett enklare och billigare sätt, och det sätt som kliniker oftast använder sig av, är att mäta urinens specifika vikt (USG) med refraktometer. Specifik vikt är ett mått på förhållandet mellan vikten av en volym vätska och vikten av samma volym destillerat vatten vid en specifik temperatur, medan osmolalitet är ett mått på antalet lösta partiklar per massenhet av en vätska. Refraktometrar mäter ljusets brytningsindex när det färdas från luft till en vätska innehållande partiklar, vilka ändrar ljusets riktning och ljuset bryts. Urinens brytningsindex påverkas av samtliga partiklar i urinen (Osborne & Stevens, 1999). Det finns en studie som menar på att urin från katter är mer refraktära än urin från till exempel hundar, och därför inte bör analyseras med vanliga medicinska refraktometrar (Rubini & Wolf, 1957). Det säljs därför refraktometrar som anges vara speciellt anpassade till katturin.

Anledningen till varför katter skulle ha ett annat brytningsindex än hund är ännu ej klarlagt. Det finns få studier som styrker behovet av specifika kattrefraktometrar, men också få studier som ifrågasätter behovet av dem. Flertalet studier har visat att dessa kattrefraktometrar visar systematiskt lägre värden än andra refraktometrar (Bennett *et al.*, 2011; Tvedten & Norén, 2014; Tvedten *et al.*, 2015). En studie har även visat att de ger mindre korrekta värden vid mätning av vätskor med kända specifika vikter, såsom spädningar av glukos-, koksalt- och albuminlösningar (Tvedten & Norén, 2014).

Tvedten *et al.* (2015) jämförde USG på hund- och katturin med två referensmetoder, att torka urin och väga torrsubstansen samt analys med pyknometer, för att försöka motivera eller förkasta användningen av speciella kattrefraktometrar vid analys av USG i katturin. Resultatet kunde inte påvisa någon systematisk skillnad mellan hund- och katturin vad gällande specifik vikt.

Syftet med denna studie var att undersöka om det finns anledning till att analysera specifik vikt i urin hos hund och katt med olika refraktometrar. Detta genom att mäta specifik vikt, uppvägd vikt och osmolalitet i urinprover från hundar och katter med snarlik specifik vikt (parade prov) och jämföra skillnaderna inom paren. Hypotesen var att det inte behövs specifika refraktometrar anpassade för katturin.

LITTERATURÖVERSIKT

Njurens fysiologi och produktion av urin

Njurarna har en central roll i upprätthållandet av kroppens homeostas. Funktioner kopplade till urinproduktionen är bland annat utsöndring av endogena slaggprodukter samt främmande substanser från blodet, reglering av syra-basbalansen, reglering av halten elektrolyter samt reglering av volymen extracellulär vätska. Njurarna har även andra funktioner, till exempel produktion av hormoner som är viktiga för blodtryck och erythropoes. (Sjaastad *et al.*, 2010)

Njurarna är uppbyggda av hundratusentals små enheter, så kallade nefron, och det är dessa som producerar urinen. Antalet nefron skiljer sig mellan olika arter och reflekterar storleken på djuret (DiBartola, 2012). Hundar har cirka 400 000 stycken nefron, katter cirka 200 000 stycken nefron, och människor cirka 1 200 000 stycken nefron i vardera njure.

Varje nefron är uppbyggd av framförallt två olika typer av komponenter: filtrationssystem (*glomeruli*), och tubulussystem. Glomeruli består av ett kapillärt nätverk där vätska filtreras fritt från blodplasman. Ungefär 20 % av den plasma som kommer till glomeruli filtreras (Sjaastad *et al.*, 2010). Filtrationen är omfattande och icke-selektiv, men släpper i princip inte igenom proteiner eller blodkroppar på grund av deras storlek och laddning. Filtratet, även kallat *primärurinen*, innehåller därmed väldigt få proteiner, men i övrigt är det i princip samma koncentrationer av substanser/små partiklar som i blodplasma (DiBartola, 2012). Tubulussystemet består av proximala och distala tubuli, Henles slynga och samlingsrör. Här förändras primärurinen genom passiv och aktiv reabsorption samt sekretion av substanser och molekyler för att bilda den slutgiltiga urinen, *sekundärurinen*. Vätskans komposition från primärurin till sekundärurin förändras väldigt mycket under processen i tubulussystemet. Det sker en massiv reabsorption, som till skillnad från filtrationen är väldigt selektiv, där värdefulla substanser tas tillbaka till blodplasman från urinen. Mer än 99 % av den filtrerade vätskan reabsorberas i tubuli hos en frisk individ, varav cirka 85 % sker i proximala tubuli och Henles slynga, och resterande i samlingsrören (DiBartola, 2012). Vissa substanser, till exempel glukos och aminosyror, reabsorberas helt från primärurinen i tubuli, medan andra ämnen, som vatten och joner, regleras för att upprätthålla kroppens homeostas. I tubuli sker även en sekretion av ämnen som ska utsöndras med urinen. Dessa substanser kan antingen komma från blodplasman eller produceras i epitelcellerna i tubuli. Vissa ämnen filtreras i princip helt fritt i glomeruli och förändras försumbart av reabsorption och sekretion, såsom kreatinin (Waldrop, 2008). Den totala mängden reabsorberade substanser är betydligt mycket större än den utsöndrade mängden, men sekretionen har en viktig roll för den slutgiltiga kompositionen av urinen. (Sjaastad *et al.*, 2010; DiBartola, 2012)

Samlingsrören delas mellan flera nefron. Samlingsrören är indelade i tre segment och här sker den slutgiltiga koncentrationen av urinen (DiBartola, 2012). Från samlingsrören töms slutligen sekundärurinen i njurbäckenet. Urinen ändrar ej komposition efter att den nått njurbäckenet.

Mängd och koncentration av urin

Den totala mängden urin som produceras under ett dygn beror på hur mycket vatten som utsöndras, vilket påverkas av hur mycket individen dricker. Det är mängden vatten i urinen som främst avgör dess koncentration (osmolalitet), och denna kan variera inom väldigt stora spann

beroende individens hydreringsgrad. Att kunna utsöndra utspädd urin kräver en mekanism för att kunna utsöndra överflödigt vatten utan att påverka andra substanser i urinen. Att utsöndra hyperosmotisk urin kräver en vattenkonserverande mekanism, vilken endast finns hos däggdjur (Sjaastad *et al.*, 2010). Mängden urin som produceras och utsöndras varierar mellan arter och hos friska hundar och katter är produktionen mellan 20-40(45) ml per kg kroppsvikt under ett dygn (Osborne & Stevens, 1999; DiBartola & Westropp, 2014). Urinens färg kan ge en indikation på hur koncentrerad den är då koncentrerad urin sannolikt är mörkare i färgen och utspädd urin är ljus i färgen (Reine & Langston, 2005), men detta bör inte ersätta något objektivet sätt att mäta koncentrationen.

Hos människa har man sett att förmågan att koncentrera urin skiljer sig hos nyfödda och väldigt unga individer jämfört med vuxna, men förmågan att späda urinen är densamma (Leech & Penney, 1987). Detta gör att USG hos mycket unga individer måste tolkas med försiktighet. Studier tyder på att koncentreringsförmågan ökar med åldern. Hos valpar är USG lägre normalt än hos vuxna individer (DiBartola & Westropp, 2014). Hos friska katter sjunker USG något vid äldre åldrar, men troligen utan klinisk relevans (Rishniw & Bicalho, 2015).

Förmågan att koncentrera urin skiljer sig mellan olika djurslag beroende på skillnader i utformningen av och i njurarna (Sjaastad *et al.*, 2010). Nefron kan delas in i två olika typer beroende på var i njuren de sitter: juxtamedullära respektive kortikala nefron. Det är framförallt de juxtamedullära nefronen som är viktiga för att kunna producera en urin med hög koncentration/osmolalitet. Dessa har lång Henles slynga och går djupt ner i medulla (DiBartola, 2012). Den maximalt koncentrerade urin som ett djur kan skapa i sin urin korrelerar med kvoten mellan dessa två olika typer av nefron, vilket skiljer sig mellan olika djurslag (Sjaastad *et al.*, 2010). Troligen har de flesta nefron hos hundar och katter långa Henles slyngor, och därmed kan de producera urin med hög koncentration (DiBartola, 2012).

Urinens sammansättning

Det finns stora skillnader i urinens sammansättning, både mellan individer och även inom en och samma individ. Dessa stora skillnader i urinen hos friska individer gör det väldigt svårt att definiera en normal urinkomposition (Waldrop, 2008). Mängden vatten och utsöndrade substanser varierar och påverkas av oralt intag, vätskeintag, hormoner och njurens tröskelvärde för reabsorption för en enskild substans. Hos en frisk individ består urinen av höga koncentrationer slaggprodukter och ska normalt inte innehålla viktiga näringsämnen såsom glukos och aminosyror (Sjaastad *et al.*, 2010). Urinens sammansättning påverkas också till stor del hur och när urinprovet är taget (Reine & Langston, 2005; Waldrop, 2008). En extrem/selektiv diet kan påverka urinens sammansättning (Chadha *et al.*, 2001).

Specifik vikt och densitet

Specifik vikt av urin (USG) är ett mått på förhållandet mellan vikten av en volym vätska och vikten av samma volym destillerat vatten vid en specifik temperatur. Värdet är en kvot av två mått med samma enhet och saknar således enhet. Den specifika vikten påverkas alltså av koncentrationen och vikten av partiklar i vätskan, samt temperaturen av vätskan. En vätskas specifika vikt är snarlik dess densitet, vilken beräknas genom vätskans vikt dividerat med volym, med enheten kg/m^3 eller g/L .

Att mäta urinens densitet eller specifika vikt ger ett viktigt mått på hur väl njuren klarar av att reglera vätskevolymen i kroppen, det vill säga hur väl den utsöndrar eller reabsorberar vatten beroende på kroppens vätskestatus (Chadha *et al.*, 2001). Det anses att en USG på $> 1,030$ hos hundar och $> 1,035$ hos katter indikerar att njurarna har tillräckligt god förmåga att kunna koncentrera urinen (Watson, 1998; Osborne & Stevens, 1999; Waldrop, 2008). En lägre specifik vikt än detta behöver inte per automatik betyda att njurarna inte fungerar tillfredsställande då koncentrationen av urin även påverkas av vätskeintag, foderintag samt elektrolytbalansen hos individen (Buckley *et al.*, 2011). En stor studie gjord 2015 visade att majoriteten av friska katter (88 % i studien) har en urin med USG på $> 1,035$ (Rishniw & Bicalho, 2015). Studien visade också att flertalet faktorer påverkar den specifika vikten hos en frisk individ såsom ålder, foderintag, kön, utfodringsstatus samt vattenintag. Den specifika vikten varierar även kraftigt mellan individer, samt hos en och samma individ från dag till dag och under en och samma dag (Osborne & Stevens, 1999; van Vondereren *et al.*, 1997). En studie från 1997 visar att friska hundar kan ha en USG på urinen mellan 1,006 till $> 1,050$, där morgonurin generellt visar högre USG (van Vondereren *et al.*, 1997). Hos katter påverkas ej tiden på dygnet USG (Rishniw & Bicalho, 2015). Den stora inter- och intraindividuell variationen gör att det inte är lämpligt med referensvärden för USG, och för att kunna göra en rimlig bedömning bör helst upprepade provtagningar göras för kontroll av njurarnas hälsostatus. Att känna till urinens koncentration underlättar bedömningen av andra undersökta parametrar i samma urinprov (Chadha *et al.*, 2001).

En specifik vikt på 1,030 är dubbelt så koncentrerad jämfört med en vätska med specifik vikt på 1,015 (Watson, 1998). Studier har visat att specifik vikt inte påverkas av i vilken temperatur eller hur länge urinen lagras (Albasan *et al.*, 2003). Celler, cylindrar, kristaller och liknande påverkar inte den specifika vikten, och ingen signifikant skillnad i USG ses mellan ocentrifugerad urin eller supernatanten efter centrifugerad urin (Osborne & Stevens, 1999).

Om urinen har samma specifik vikt som plasma, det vill säga 1,008–1,012, kallas det för *isostenuri*. Om den specifika vikten är lägre än detta kallas det för *hypostenuri* och tyder på att njurarna kan utsöndra överflödigt vätska, och därmed föreligger ingen misstanke om nedsatt njurfunktion (men någon orsak till polydipsi och/eller polyuri föreligger och bör utredas).

Substanser som är lösta i urinen ökar urinens specifika vikt. Olika partiklar och ämnen påverkar den specifika vikten olika. Substansens molekylära vikt avgör hur mycket den specifika vikten påverkas, till exempel 1000 mg/dL glukos i urinen ökar den specifika vikten med 0,004 och 1000 mg/dL protein i urinen ökar den specifika vikten med 0,003 (Chew *et al.*, 2011). Lösta partiklar i urinen som påverkar den specifika vikten mest är urea, sulfat, fosfat och kloridjoner, och överlag har elektrolyter större påverkan på koncentrationen per enhet än vad organiska substanser har (Price *et al.*, 1940). Närvaro av stora molekyler i urinen kan påverka den specifika vikten av urinen oproportionerligt (Stevens *et al.*, 2006: se Ayoub *et al.*, 2013).

Att mäta specifik vikt

En enkel, billig och snabb metod att få fram en vätskas specifika vikt är att använda sig utav en refraktometer. Dessa mäter refraktionsindex, det vill säga ljusets brytningsindex när det färdas från luft till en vätska innehållande partiklar, vilket ändrar ljusets riktning och ljuset bryts.

Refraktionsindexet för en vätska är en kvot mellan ljusets hastighet i luft och i ett annat medium (Osborne & Stevens, 1999), och påverkas av ämnena i vätskan, koncentrationen och temperaturen av vätskan (George, 2001). Hos handhållna refraktometrar ger detta upphov till en skugglinje på en streckplatta i avläsningsfältet, och genom ett okular avläses denna linje på en skala och vätskans specifika vikt erhålles. Alla lösta ämnen i urinen påverkar dess refraktionsindex (Osborne & Stevens, 1999).

Det finns flera olika typer av refraktometrar att använda sig av. De kan vara både stationära eller handhållna, där den senare är den vanligast förekommande. Då mätvärdet är beroende av temperaturen på vätskan finns det refraktometrar som kompenserar för detta. Dessa är dyrare och ger ett mer korrekt resultat. Refraktometrarna kan även delas in i två typer beroende på hur avläsningen sker: antingen genom manuell okulär avläsning eller digital avläsning. Studier visar att båda dessa sorter korrelerar mycket bra med osmolalitet både för katt- och hundurin (Bennett *et al.*, 2011; Paris *et al.*, 2012). Flertalet studier har dock visat att det finns en liten skillnad mellan refraktometrarna där de digitala refraktometern visar statistiskt signifikant lägre specifik vikt än de analoga refraktometern (Bennett *et al.*, 2011; Paris *et al.*, 2012; Wyness *et al.*, 2016). Dessa skillnader bedöms vara väldigt små, främst för analys av hundurin, och troligen ej kliniskt relevant, och en digital refraktometer kan således användas istället för en analog med samma resultat (Paris *et al.*, 2012).

Specifik vikt kan skilja sig relativt mycket beroende på vilken refraktometer som används för analys (Tvedten *et al.*, 2015). Detta gör att exakta gränsvärden för vilken USG som är önskvärt för en frisk njure inte är lämpliga. Många refraktometrar ger ett större mätfel för specifik vikt vid högre koncentrationer, men orsaken till detta är ej klarlagt (Pradella *et al.* 1988: se Osborne & Stevens, 1999; Tvedten *et al.*, 2015).

Flertalet medicinska refraktometrar som används inom veterinärmedicin är gjorda för att analysera humanurin. Då människor har lägre specifik vikt i urinen än hund och katt har refraktometrarna ofta haft en låg övre mätgräns, på cirka 1,035 (Chew *et al.*, 2011). Många friska hundar och katter har USG över detta och det är önskvärt att veta ett mer exakt värde än så. Urinprover kan spädas med destillerat vatten och analyseras utspädd, för att sedan räkna ut den egentliga specifika vikten. USG har enligt en studie på urin från människa visat vara linjär med spädningarna (Price *et al.*, 1940), medan en studie gjord på urin från katt och hund (Tvedten *et al.*, 2015) visade på att spädning av urinen varken gav korrekta eller linjära värden av USG. Då spädningar inte alltid ger tillförlitliga värden på USG är det önskvärt att använda en refraktometer som klarar att mäta hög specifik vikt (upp till 1,050/1,060) vid analys av urinprover från hund och katt.

Det finns även specifika hund- respektive kattrefraktometrar på marknaden. De som är gjorda för hundurin fungerar och är justerade på samma sätt som medicinska refraktometer som används på humansidan men visar ett större mätområde, medan kattrefraktometrarna är anpassade med ett annat brytningsindex (se nedan). En studie från 2014 (Tvedten & Norén) jämförde en medicinsk refraktometer med en refraktometer anpassad för katturin genom att mäta specifik vikt med olika lösningar med känd specifik vikt, såsom spädningar av glukos-, koksalt- och albuminlösningar. Resultatet visade att den medicinska refraktometern gav mer korrekta värden än den kattanpassade refraktometern (Tvedten & Norén, 2014). En studie visar

att refraktometrar anpassade efter djur (ej refraktometer specificerad för ett enskilt djurslag) ger signifikant lägre värden än refraktometrar gjorda för människourin (Miyagawa *et al.*, 2011), och detta har flera gånger setts hos specifika kattrefraktometrar (Bennett *et al.*, 2011; Tvedten & Norén, 2014; Tvedten *et al.*, 2015). Detta kan påverka den kliniska bedömningen av diagnos och prognos.

Mätning av specifik vikt i katturin

Det finns enstaka studier som tyder på att urin från katter har lägre densitet/specifik vikt än hundar och människor vid ett visst refraktionsindex (Rubini & Wolf, 1957), vilket har tolkats som att katturin skulle vara mer refraktärt än urin från hundar och människor. I en studie från 1956 (Rubini & Wolf, 1957) analyserades USG i urin från 190 människor, 22 katter och 21 hundar. Studien visade att mängden partiklar och ökningen i USG korrelerade hos alla tre arter/djurslag, men att USG hos katterna konstant låg lite högre än de andra djurslagen (Rubini & Wolf, 1957). Därför finns det en konverteringsformel för att konvertera USG i katturin från en medicinsk refraktometer: $(0,846 \times \text{densitet från refraktometer}) + 0,154$ (Rubini & Wolf, 1957). Det finns även refraktometrar på marknaden som är specialiserade för att analysera katturin, och innebär att denna uträkning inte behöver göras (Bennett *et al.*, 2011).

En del veterinärer använder idag dessa specifika refraktometrar anpassade för katturin (George, 2001). Många använder en vanlig medicinsk refraktometer, och vissa av dem konverterar sedan fram den "sanna" specifika vikten genom att använda en konverteringsformel. Formeln för att beräkna specifik vikt hos katturin från refraktionsindex har inte blivit utvärderad sedan 1956 (George, 2001), och få studier har ifrågasatt eller bevisat behovet av en specifik kattrefraktometer.

Tvedten *et al.* (2014) gjorde en studie där USG mättes hos 47 prover från hund och katt med två olika typer av refraktometrar: en medicinsk handhållen refraktometer och en kattspecifik digital refraktometer. Studien visade att en god korrelation fanns mellan refraktometrarna, men med en konstant och signifikant skillnad mellan refraktometrarna där den kattspecifika refraktometern gav systematiskt lägre värden. Troligen mätte båda refraktometrarna refraktionsindex på rätt sätt men ger olika svar på USG på grund av att kattrefraktometern har en konverteringsfaktor i sig. (Tvedten & Norén, 2014)

Anledningen till att katturin skulle ha högre refraktäritet än hundurin är okänd. En hypotes har varit att katturin innehåller någon substans som påverkar brytningsvinkeln, men inte osmolaliteten. Det finns även påståenden som säger att det skulle ha med de höga halterna protein i katternas diet att göra, men detta är inte utvärderat (George, 2001). En studie från 2011 visade på att en diet med högt proteininnehåll gav signifikant högre USG hos friska katter än en diet med lägre proteininnehåll (Backlund *et al.*, 2011).

I en studie från 2015 (Tvedten *et al.*, 2015) jämfördes specifik vikt på hund- och katturin med två referensmetoder: vikt av torkad urin samt mätning av densitet med hjälp av en pyknometer. Fem olika refraktometrar användes, varav två var specifikt anpassade för katturin och en av dessa var av digital modell. De två refraktometrarna anpassade för katturin gav konsekvent lägre specifik vikt än övriga refraktometrar samt lägre än referensmetoderna. Studien visade att vid högre koncentrationer hade samtliga refraktometrar mindre ökning med samtidig stigande

specifik vikt jämfört med referensmetoderna. Denna tyder på att refraktometrarna underskattar den specifika vikten vid högre koncentrationer. Studien kunde inte påvisa någon skillnad mellan hund- och katturin som skulle kunna förklara varför katturin skulle vara mer refraktärt än hundurin.

Osmolalitet

Osmolalitet är ett mått på antalet lösta partiklar per massenhet av en lösning och anges oftast i enheten osmol per kilogram. En vätskas osmolalitet ger en kvantifiering av partikelkoncentrationen per enhet av vätskan, och påverkas ej partiklarnas molekylära vikt eller kemiska struktur (Chadha *et al.*, 2001; Wellman *et al.*, 2012). Ett snarlikt begrepp är osmolaritet, vilket är ett mått på antalet lösta partiklar per volymenhet, och anges i antalet osmol per liter. Till skillnad från osmolalitet är osmolaritet temperaturberoende (Chadha *et al.*, 2001). För kroppsvätskor är skillnaden mellan osmolalitet och osmolaritet försumbar (Wellman *et al.*, 2012), och begreppen används synonymt (Osborne & Stevens, 1999).

Osmolalitet mäts oftast med en osmometer som använder sig utav metoden "freezing point depression", vilket bestämmer osmolaliteten av en vätska genom att mäta den relativa skillnaden i fryspunkt jämfört med referensvärden. Detta baseras på att varje mol lösta partiklar i ett kilogram vatten kommer att sänka fryspunkten av vätskan med 1,86 °C jämfört med rent vatten (Osborne & Stevens, 1999; Sjaastad *et al.*, 2010). Det går även att mäta osmolalitet med en osmometer som bygger på att mäta ångtryck (Osborne & Stevens, 1999). Dessa är bättre på att mäta osmolalitet på vätskor med väldigt hög koncentration jämfört med osmometer som mäter fryspunkt. Studier visar på att osmometrar som mäter fryspunkt ej kan ge ett tillförlitligt värde på osmolaliteten hos urin som har en USG vid > 1,050 (Lees *et al.*, 1979: se Osborne & Stevens, 1999). Oavsett osmometertyp ger de ett mått på antalet osmotiskt aktiva partiklar i vätskan, men ger inga indikationer på vilka olika ämnen de är.

Osmolaliteten i plasma hos friska hundar och katter är relativt stabilt (Waldrop, 2008). I urinen kan den variera kraftigt hos den friska individen och varierar mycket mellan olika djurslag, men är generellt alltid högre än i blodplasman hos en frisk och normohydrerad individ. Hos en individ som dricker normala mängder vatten återtar tubuli normalt mer vatten än lösta ämnen, vilket gör att urinen kommer ha högre koncentration av lösta ämnen än blodplasma, en högre osmolalitet (Sjaastad *et al.*, 2010).

Osmolaliteten i urinen påverkas av individens vätskestatus, elektrolytbalans samt dess foderintag (Osborne & Stevens, 1999). Om individen dricker mer eller mindre än normalt kommer njurarnas respons (om de är friska) att minska respektive öka osmolaliteten i urinen (Sjaastad *et al.*, 2010). Det är framförallt molekyler som reabsorberas i små mängder och/eller utsöndras i stora mängder som påverkar urinens osmolalitet mest. Urea och joner av natrium, kalium och klorid påverkar majoriteten av osmolaliteten i den utsöndrade urinen (Osborne & Stevens, 1999). Det finns dock en maxgräns på hur hög osmolaliteten i urin kan bli, och detta varierar med olika djurslag. Det är i princip en konstant mängd substanser som ska utsöndras via urinen dagligen, och därmed måste njurarna även utsöndra en minimimängd vatten varje dag (Sjaastad *et al.*, 2010).

Att mäta osmolalitet i urinen kan användas som ett mått på njurarnas förmåga att koncentrera eller späda ut urinen jämfört med blodplasman. Hos hundar ligger normalt osmolaliteten i urinen mellan 800-2500 mOsm/kg och mellan 600-3000 mOsm/kg hos katter, och det anses att den bör ligga > 1200 mOsm/kg hos en normohydrerad individ för att njuren ska kunna bedömas som helt fungerande (Waldrop, 2008). En studie från 1997 visade dock att osmolaliteten i urin från friska hundar varierar från 161 till 2830 mOsm/kg (van Vonderen *et al.*, 1997). Denna stora inter- och intraindividuell variation gör att referensvärden för osmolalitet i urin från hund är svåra att bestämma enligt van Vonderen *et al.*.

Ingen signifikant skillnad i osmolalitet ses mellan ocentrifugerad urin eller supernatanten efter centrifugerad urin (Osborne & Stevens, 1999). Ingen skillnad i urinsomolalitet har setts mellan kön (van Vonderen *et al.*, 1997).

Relationen mellan specifik vikt och osmolalitet

Osmolalitet är inom veterinärmedicin ”gold standard” för att utvärdera urinkoncentrationen och därmed njurarnas hälsa (Chadha *et al.*, 2001; Dossin *et al.*, 2003; Osborne, 2013). Osmolalitet är det som bäst reflekterar hur urinen koncentreras i kroppen, då njurarna koncentrerar urinen baserat på osmotisk gradient, och tar inte hänsyn till vilka partiklar som ger upphov till gradienten (Chadha *et al.*, 2001). Den utrustning som krävs för att mäta osmolalitet finns sällan tillgänglig i den klassiska kliniska miljön, och specifik vikt av urinen kan istället användas som ett mått på koncentrationen (Dossin *et al.*, 2003; Bennett *et al.*, 2011; Ayoub *et al.*, 2013). Studier visar på att USG mätt med refraktometer korrelerar bra med osmolalitet (Dorizzi *et al.*, 1987; Ayoub *et al.*, 2013), men att korrelationen är något bättre hos friska individer än sjuka (Imran *et al.*, 2010). Osmolaliteten kan beräknas från specifik vikt via formeln $Osm = ((USG - 1,000) \times 40\,000)$ (Waldrop, 2008; Imran *et al.*, 2010). Men specifik vikt påverkas inte bara av mängden partiklar i vätskan, utan också av molekylvikten hos partiklarna (Osborne & Stevens, 1999). Man har även sett att det finns en korrelation mellan USG och osmolalitet hos nyfödda människor, men att associationen skiljer sig från vuxna individer (Leech & Penney, 1987). Hos unga djur verkar osmolalitet vara ett bättre och mer säkert mått på njurarnas koncentreringsförmåga än USG (Benitez *et al.*, 1986: se Osborne & Stevens, 1999).

Specifik vikt påverkas alltså, till skillnad från osmolalitet, av vilka partiklar som finns i urinen. Om urinen innehåller stora molekyler med hög molekylvikt kommer det att påverka den specifika vikten mer än vad det påverkar osmolaliteten (DiBartola & Westropp, 2014). Studier på urin från människa har visat att stora molekyler såsom ketonkroppar, bilirubin och hemoglobin kan påverka relationen mellan osmolalitet och specifik vikt, och vid närvaro av dessa ämnen i urinen bör ej USG analyseras istället för osmolalitet (Imran *et al.*, 2010; Ayoub *et al.*, 2013; DiBartola & Westropp, 2014). En studie gjord på urin från hundar genomförd av Ayoub *et al.* (2013) visade att ketonkroppar hade en liten negativ effekt på relationen mellan osmolalitet och USG, medan varken glukos, protein, bilirubin eller hemoglobin påverkade relationen. Korrelationen kan också påverkas av urinens pH-värde (Imran *et al.*, 2010). Det finns förslag på att en korrektionsfaktor ska användas vid analys av osmolalitet för djur med glukosuri (DiBartola 2006: se Ayoub *et al.*, 2013), men andra studier har påvisat att glukosuri inte påverkar relationen mellan osmolalitet och USG vid analys med refraktometer, trots att det är en relativt stor molekyl (Imran *et al.*, 2010; Ayoub *et al.*, 2013).

En studie från 2003 (Dossin *et al.*) jämförde olika sätt att mäta urinkoncentration genom att jämföra osmolalitet med tre andra mätmetoder, varav en var vägning av urin och en var mätning med refraktometer. Studien visade att osmolaliteten korrelerade väldigt bra med refraktometervärdena ($r = 0,92$) och något sämre med vägning av urin ($r = 0,82$).

MATERIAL OCH METODER

Provmaterial och provhantering

I studien användes urinprover från 46 katter och 49 hundar. Alla urinprov som användes i studien togs i diagnostiskt syfte på smådjursavdelningen vid Universitetsdjursjukhuset, Sveriges Lantbruksuniversitet, och lämnades in till Klinisk kemiska laboratoriet, Universitetsdjursjukhuset, för analys. Proverna samlades in under perioden april till oktober 2016. Urinproverna centrifugerades vid 500 g/1800 RPM under fem minuter i en centrifug av typen Hettich Rotofix 32A (Hettich Lab Technology) för att separera supernatanten från sedimentet. Efter att urinproverna hade analyserats på det sätt som skulle göras i diagnostiskt syfte sparades supernatanten i 1–2 plaströr utan tillsats, och förvarades i frys -20° C. För att ingå i studien skulle urinen ej vara missfärgad samt ha en volym på minst 2 ml. Ingen selektion gjordes avseende friskhet/sjukdom, kön, ålder eller ras för urinproverna.

Alla urinprover var tagna i ett diagnostiskt syfte och kom från patienter vid Universitetsdjursjukhuset i Uppsala. Därmed gjordes ingen provtagning specifikt för studien och ingen etisk prövning krävdes.

Parade hund- och katturinprover med snarlik specifik vikt

Urinprov från en katt och en hund med snarlik specifik vikt parades ihop utifrån den specifika vikten vid den ursprungliga analysen innan frysning. Helst skulle provernas specifika vikt överensstämja, men en skillnad på $\pm 0,001$ godtogs. Sedan tinades båda urinproverna och alla nedanstående parametrar analyserades vid samma analystillfälle på bägge proven. Endast prover med specifik vikt $\leq 1,050$ parades ihop då refraktometern använd innan frysning hade 1,050 som övre gränsvärde. Kriteriet för att proven slutgiltigt skulle ingå i studien var att paren hade snarlik specifik vikt $\pm 0,002$ analyserat med refraktometern *Vet dog*. Det var fem par som ej uppfyllde detta. För tre av dessa par kunde kattproverna paras om med nya hundprover och analyseras på nytt, för att uppfylla kraven och därmed ingå i studien, och två par fick således utgå ur studien.

Vid varje analystillfälle togs aktuella urinprover fram ur frysen och tinades under ca 1 h i ett rumstempererat vattenbad, för att på så sätt erhålla rumstemperatur innan analys påbörjades. Fyra stycken urinprover (varav tre var *kontrollurin*) tinades två gånger, utan skillnad i resultatet mellan gångerna, och övriga prover tinades endast en gång. Inför varje analys blandades urinen väl.

Kontrollprover

Före analys av urinprover gjordes dagligen en analys av tre kontrollprover med samtliga metoder. De kontrollmaterial som användes var destillerat vatten, fysiologiskt NaCl 0,9 % (9 mg/ml) samt ett hundurinprov. Hundurinprovet var taget från en frisk hund och kallas i studien för *kontrollurin*. Urin från ett provtillfälle delades upp och förvarades i alikvoter i frys, för möjlighet att användas vid alla dagar för analys.

Destillerat vatten har en specifik vikt på 1,000 vid rumstemperatur.

Analys av specifik vikt

Varje urinprov analyserades med tre olika refraktometrar; två optiska refraktometrar av Goldberg-typ, det vill säga handhållna och temperaturkompenserade okulära refraktometrar, samt en digital handhållen refraktometer. En var av modellen Atago Uricon Refractometer (Atago CO, LTD), här kallad för *Atago 1*. En refraktometer är veterinäranpassad och hade två olika mätskalor på streckplattan, varav den ena var anpassad för urinprover från katter och den andra var anpassad för hundurin; AO Veterinary Refractometer 10436 (AO Scientific Instruments). I denna studie benämns denna refraktometer med de olika skalorna med *Vet dog* respektive *Vet cat*. Den digitala refraktometern var av modellen Atago Digital Hand-Held "Pocket" PAL-USG Dog Refractometer (Atago CO, LTD), här kallad för *Dog digital*, och alltså anpassad för hundurin.

De övre gränsvärdena i mätområdet för de olika refraktometrarna var 1,050 för *Atago 1*, 1,060 för *Vet dog*, *Vet cat* och *Dog digital*.

En liten mängd urin droppades mellan mätprismat och täcklocket på de handhållna refraktometerna, och genom kapillärkraft drogs vätskan ut över fältet. Därefter hölls refraktometern mot en ljuskälla och den specifika vikten kunde avläsas i avläsningsfältet. För den digitala refraktometern lades cirka 300 µl provmaterial på avsedd plats och analysen startades sedan genom att trycka på start-knappen. Därefter kom resultatet upp i resultatskärmen efter cirka 5 sekunder. Alla urinprover analyserades och lästes av vid alla fem mätskalor oberoende på djurslag. För att minska skillnader i avläsning gjordes alla analyser av specifik vikt av en och samma person.

Mellan varje analys rengjordes refraktometrarna med destillerat vatten, samt torkades torra med pappersservetter.

Samtliga refraktometrar kalibrerades med destillerat vatten innan analys av kontroller, hund- och kattprover. Destillerat vatten har en specifik vikt på 1,000. Övriga kontroller, NaCl (0,9 %) och *kontrollurin*, mättes med samtliga refraktometrar innan analys. Specifik vikt mättes på destillerat vatten (totalt n = 18), på NaCl (0,9 %) (totalt n = 16) och på *kontrollurinen* (totalt n = 13) vid olika tillfällen under studiens gång. För *Dog digital* hade dessa tre lösningar ett medelvärde 1,000, 1,004 respektive 1,037. För *Vet dog* hade dessa tre lösningar ett medelvärde på 1,000, 1,004 respektive 1,036. För *Vet cat* hade dessa tre lösningar ett medelvärde 1,000, 1,003 respektive 1,032. Mellankörnings-CV (%) var < 0,1 % för samtliga lösningarna och refraktometrar.

Atago 1 användes endast i studien för att jämföra USG före och efter frysning då det var den refraktometer som användes för att bestämma USG innan proverna frös in. Medelvärdet i skillnad i USG innan och efter frysning var 0,000.

Vikt av urin

Urin vägdes på en våg av typen Mettler Toledo PB303 DeltaRange® (Mettler-Toledo International Inc.) med precision på en tusendels gram (mg). Den pipett som användes var av typen Rainin Pipet-Lite XLS 100 - 1000 µL (1 ml) (Mettler-Toledo International Inc), inställd

på 1,000 ml. Efter test av flera metoder för att väga urin med största precision, så valdes metoden att väga hela pipetten med pipettspets med och utan 1 ml urin. Vågen tarerades med pipett med pipettspets påsatt och placerad i en ekolv. Därefter drogs 1 ml provmaterial upp, utsidan av pipettspetsen torkades av och pipetten ställdes därefter igen i ekolven på vågen. Varje prov vägdes minst tre gånger för att öka precisionen, och några enstaka vägdes 5 gånger, och medelvärdet av dessa användes i studien. Mellan varje vägning byttes pipettspets och vågen tarerades om. Under studiens gång var det endast två personer som vägde urinen, och varje urinpar vägdes av en och samma person.

1 ml av samtliga kontrollprover vägdes vid varje analystillfälle. Vägning gjordes av destillerat vatten (totalt n = 16), på NaCl (0,9 %) (totalt n = 14) och på *kontrollurinen* (totalt n = 13) vid olika tillfällen under studiens gång. Medelvikten för dessa tre lösningar var 1,001 g, 1,007 g respektive 1,040. Mellankörnings-CV% var under 0,3% för alla lösningarna. Medelvärdet för inomkörnings-CV% av samtliga vägda urinprover var 2,78 %.

Metoden att väga hela pipetten gav systematiskt lite högre vikt (i genomsnitt 0,001) än förväntat för destillerat vatten. Därför har 0,001 g subtraherats från samtliga vägningar av urinprover och kontrollprover i studierna.

Analys av osmolalitet

Osmolaliteten mättes genom en osmometer av typen Automatic Micro-Osmometer Typ 15 (Löser Messtechnik). 100 µl provmaterial pipetterades ner i ett plaströr, Sarstedt MicroTube 1,5 ml (Sarstedt AG & Co), och denna sattes på plats på mät huvudet på osmometern. Därefter startades mätningen genom ett tryck på "Enter"-knappen. Efter avslutad mätning fås ett värde på vätskans osmolalitet upp i displayen, i enheten mOsm/kg. Mellan varje körning av urinproverna torkades mät huvudet samt frysnålen av med destillerat vatten för att minska risken av kontamination mellan analyseringarna.

Osmometern kalibrerades för tre olika nivåer: 0 mOsm/kg, 300 mOsm/kg samt 900 mOsm/kg med kalibreringsvätska Standardlösning för osmometer från Löser Messtechnik. Kalibreringen för 0 mOsm/kg gjordes vid varje analystillfälle medan 300 mOsm/kg samt 900 mOsm/kg gjordes vid studiens start samt en gång per vecka.

Osmolalitet av fysiologisk koksaltlösning (NaCl 0,9 %) har en osmolalitet på 286 ± 3 mOsm/kg, och användes som kontroll, vilket också är rekommenderat för denna osmometer. Osmometer mäter osmolalitet inom mätområdet 0–2500 mOsm/kg.

Två olika urinprover, en från hund och en från katt, med två olika USG analyserades 10 gånger följande på varandra avseende osmolalitet för att få en mått på repeterbarheten i mätningen. Repeterbarheten/inomkörningsvariatio (CV %) i osmolalitet för dessa två urinprover (n=10) med osmolalitet på 1322 mOsm/kg respektive 471 mOsm/kg (medelvärde) var 0,25 % respektive 0,35 %

Osmolalitet mättes på NaCl (0,9 %) (totalt n=17) och på *kontrollurinen* (totalt n=12) vid olika tillfällen under studiens gång och hade ett medelvärde på 289 mOsm/kg (mellankörnings-CV = 1,3 %) respektive 1460 mOsm/kg (CV = 1,1 %).

Linjäritet

För att analysera linjäriteten av specifik vikt, vikt och osmolalitet i urinen gjordes två olika spädningar. Ett prov från hund och ett prov från katt, båda prover med en USG på > 1,050 innan frysning (mätt med *Atago 1*), spädades i 10 %-steg med destillerat vatten. För precision i pipettering användes pipetten Rainin Pipet-Lite XLS 100 – 1000 µL (1 ml) (Mettler-Toledo International Inc). Varje spätt prov analyserades avseende USG, vägd vikt och osmolalitet enligt ovan beskrivna metoder. De uppmätta värdena jämfördes med de förväntade värdena.

På grund av begränsad volym vägdes endast 0,500 ml provmaterial av dessa spädningar. Medelvikten fördubblades för att få en uppskattad vikt för 1 ml.

Datahantering och statistik

För att undersöka om katturin skiljer sig från hundurin jämfördes resultaten från de parade urinproverna med snarlik specifik vikt $\pm 0,002$. För jämförelserna användes diagram, Bland-Altman-plottar, basal statistik och Wilcoxon signed rank test. Wilcoxon signed rank test användes eftersom resultaten inte var normalfördelade. För mått på precisionen i studien används en variationskoefficient (CV %) beräknad genom att dividera standardavvikelsen med medelvärdet och multiplicera med 100. För USG och vägd vikt beräknades CV % på värden efter subtraktion med 1,000.

Studien utnyttjades även för att jämföra USG analyserat med en nyare digital refraktometer och handhållen optisk refraktometer. För jämförelserna användes Pearsons produktmoment-korrelationskoefficient (r), Bland-Altman-plottar, linjäritet och diagram.

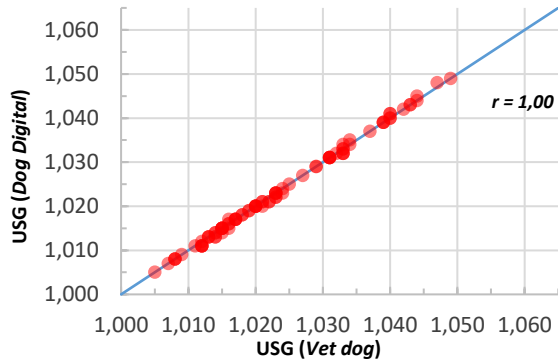
Formeln $Osm = ((USG - 1,000) \times 40\,000)$ användes för att beräkna osmolalitet eller specifik vikt utifrån den andra parameter, för att jämföra estimerade värden med uppmätta värden.

För datahantering och statistikberäkningar användes programmet Microsoft® Excel för Mac, Version 15.28 samt JMP-pro från SAS Institute, Cary, NC US.

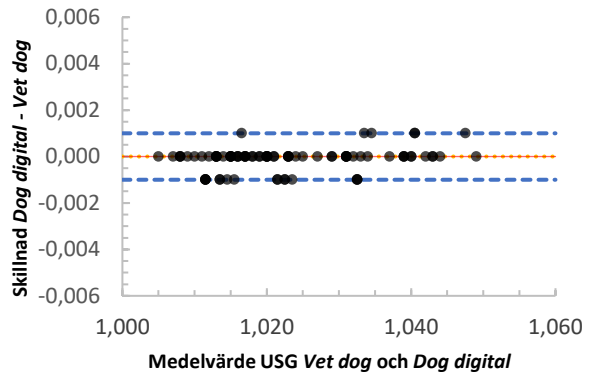
RESULTAT

Överensstämmelse mellan olika refraktometrar, samt vägd vikt för alla prover

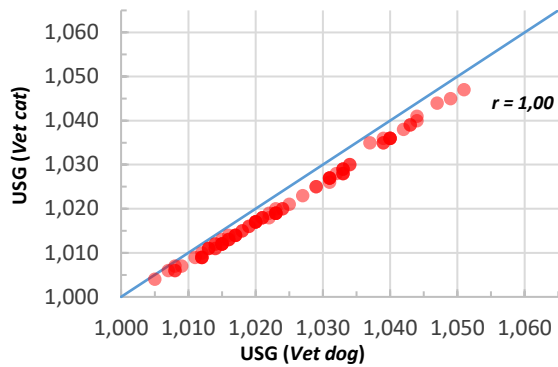
Aa)



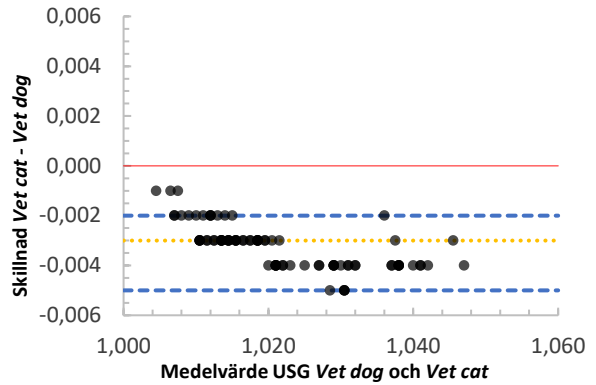
Ba)



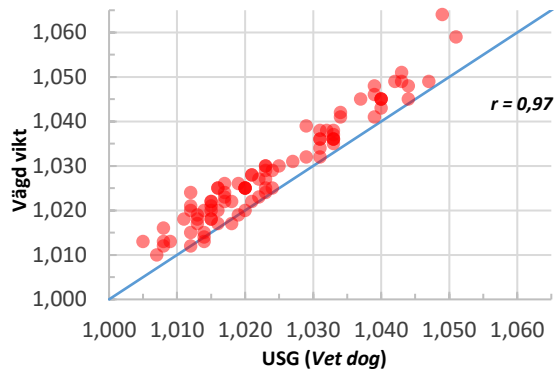
Ab)



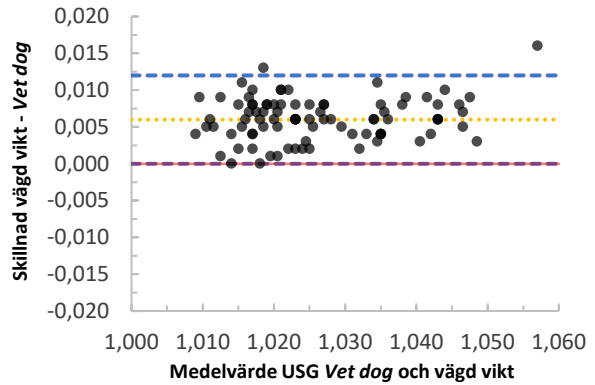
Bb)



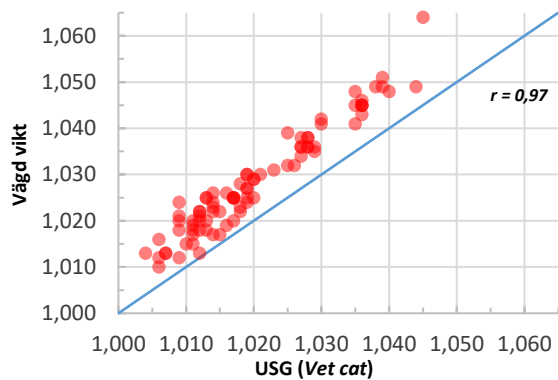
Ac)



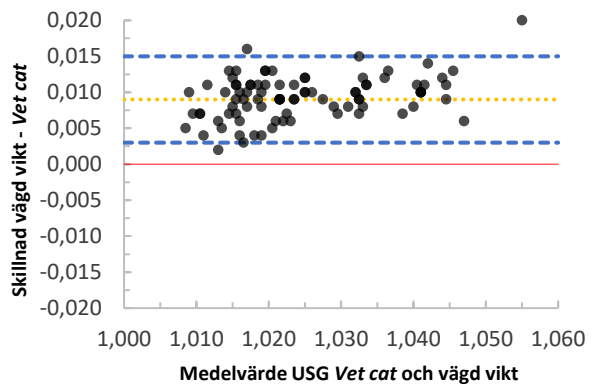
Bc)



Ad)



Bd)



Figur 1. Samband för samtliga 84 katt- och hundprover mellan specifik vikt mätt med Vet dog och Aa/Ba) Dog digital, Ab/Bb) Vet cat och Ac/Bc) vägd vikt. I Ad/Bd ses samband mellan Vet cat och vägd vikt. (A) Punktdiagram. Heldragen blå linje representerar $x = y$. (B) Bland-Altman-diagram. X-axeln: medelvärdet av USG mätt med Vet dog och Ba) Dog digital, Bb) Vet cat och Bc) vägd vikt, och i Bd) medelvärdet av USG mätt med Vet cat och vägd vikt. Y-axeln: skillnaden i USG mellan Vet dog och Ba) Dog digital, Bb) Vet cat, Bc) vägd vikt, och skillnaden i USG mellan Vet cat och vägd vikt i Bd). Streckade linjer representerar 95 % konfidensintervall, gul prickad linje representerar medelvärdet i skillnaden och röd heldragen linje representerar 0 i skillnad.

I Figur 1 ses sambanden mellan refraktometern *Vet dog* och *Dog digital*, *Vet cat* samt vägd vikt i två olika typer av diagram för alla 84 urinproverna. Bland-Altman-plotten i Figur 1 (Ba) visar tydligt på en mycket god överensstämmelse mellan refraktometern *Vet dog* och den digitala refraktometern *Dog digital* ($r = 1,00$) och därför kommer endast en av dessa refraktometrar att användas i jämförelser (*Vet dog*). Kattrefraktometern gav systematiskt lägre specifik vikt än övriga refraktometrar för alla proverna (median $-0,003$). Den vägda vikten låg högre än *Vet dog* (median $+0,005$) och *Vet cat* (median $+0,008$).

Korrelationen mellan de olika refraktometrarna låg samtliga på 1,00 och korrelationen mellan den vägda vikten och de olika refraktometrarna låg mellan 0,96 och 0,97. *Vet cat* gav systematiskt lägre värden än *Vet dog*, och den vägda vikten var systematiskt högre än USG mätt med refraktometrar, vilket tydligt illustreras i Bland-Altman-diagrammen i Figur 1 (Bb respektive Bc).

Ingen refraktometer korrelerade bättre eller sämre till den vägda vikten, vare sig bland katterna eller hundarna, utan korrelationskoefficienten var $r = 0,96 - 0,97$ oavsett refraktometer och djurslag.

Parade prover med snarlik specifik vikt

Vikt och specifik vikt

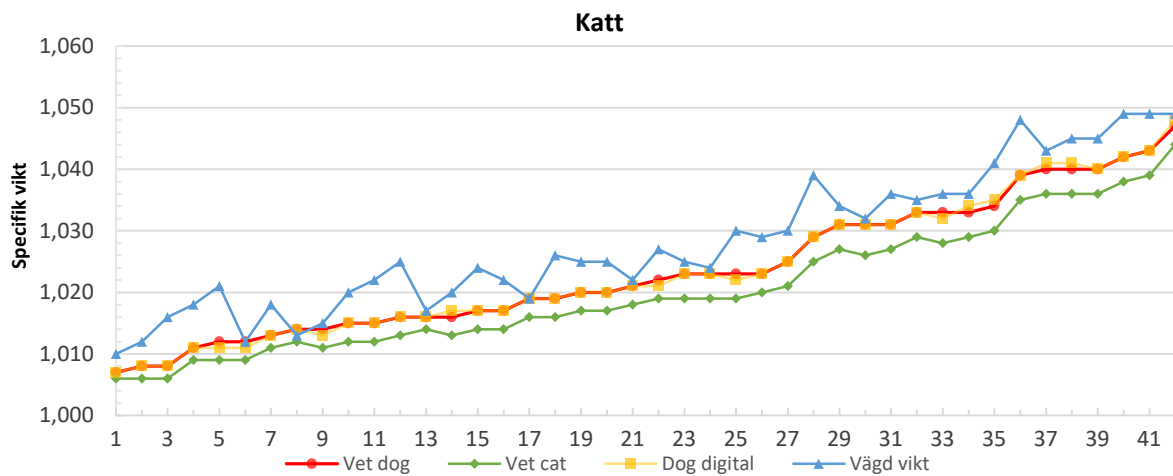
Totalt analyserades urin från 42 katter och 42 hundar i de parade proverna. Urinens specifika vikt (mätt med *Vet dog*) varierade mellan 1,007 och 1,047 för kattproverna och mellan 1,005 och 1,049 för hundproverna, och alla resultat uppdelade på katt respektive hundprover kan ses i Figur 2 a-b. Endast par med $USG \pm 0,002$ med *Vet dog* ingick i denna delen av studien.

Vet cat gav konstant lägre USG för både katt- och hundproverna, med större skillnad vid högre specifik vikt (Figur 2). Den vägda vikten följer refraktometrarna relativt bra, men låg högre än refraktometrarna och gav mer ojämna resultat. Samma mönster kan ses i resultaten från både hund och katt. Det var ingen signifikant skillnad ($p > 0,05$) mellan hund- och kattproverna vid analys av vägd vikt. Medelvärde och median för de mätta parametrarna hos katt- och hundproverna ses i Tabell 1. Där ses även medelvärdet av skillnaden i de parade proverna för varje enskild parameter.

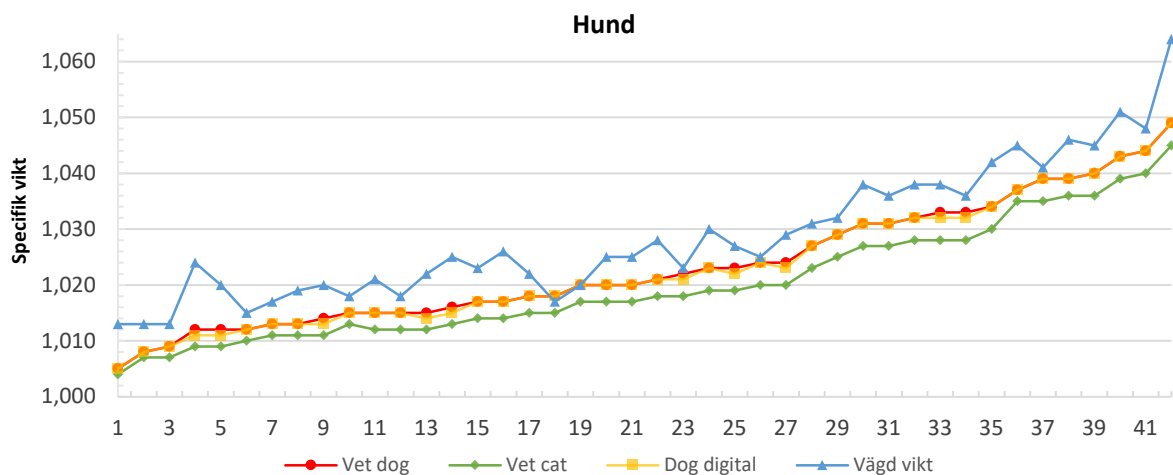
Av de 42 paren hade kattproven högre specifik vikt hos några fler av paren än de som hade lägre värden. Denna obalans i parningen av proverna från hund och katt var lite mera påtaglig för *Dog digital*, vilket gav signifikant skillnad mellan hund och katt för USG med den

refraktometern, medan för *Vet dog* och *Vet cat* erhöles p-värde $> 0,05$ (Wilcoxon signed rank test).

a)



b)

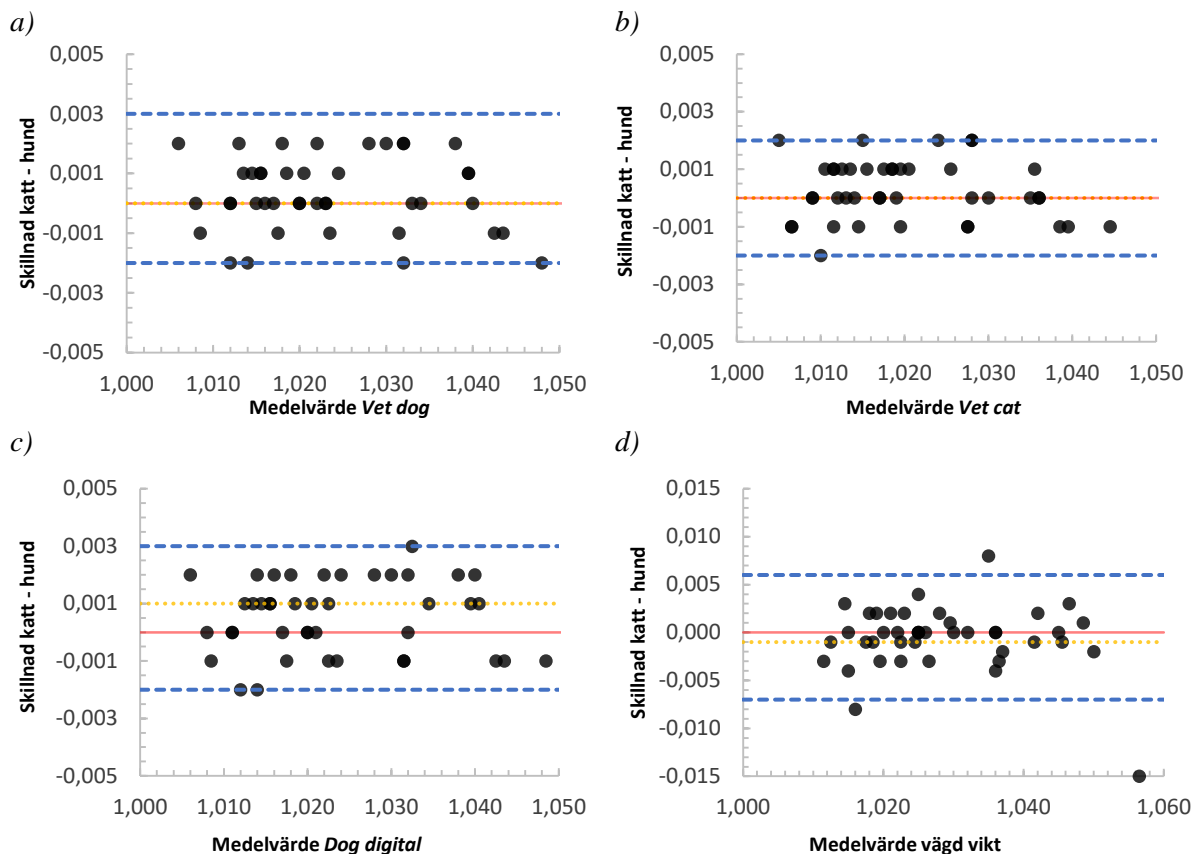


Figur 2. Urinspecifik vikt och vägd vikt på de parade proverna, a) kattprover ($n = 42$) och b) hundprover ($n = 42$). Resultaten från tre olika refraktometrar samt vägd vikt ses i figurerna. Proverna är sorterade längs X-axeln efter specifik vikt mätt med *Vet dog*, från lägst till högst.

Skillnaden i vägd vikt, USG mätt med *Vet dog*, *Vet cat* samt med *Dog digital* i de 42 paren illustreras i Bland-Altman-diagrammen i Figur 3a-c. Skillnaden var större inom paren vid vägd vikt, men det var relativt jämt fördelat mellan katterna och hundarna vilken som vägde högre (~30 % respektive ~40 %), och medelvärdet i skillnaden var $-0,001$. Om bara de 14 paren med exakt samma USG mätt med *Vet dog* tas med blir resultatet snarlika. En differens i vägd vikt mellan hund- och kattprovet i ett par avvek kraftigt från övriga vid vägd vikt då hundprovet vägde 0,015 mer än kattprovet, och kan ses i Figur 3d. Detta par var det som hade högst USG i urinen samt högst osmolalitet, men orsaken till varför hundprovet vägde mycket mer kan inte förklaras. Om detta par ej tas med i beräkningarna erhålls en medelskillnad i vägd vikt på 0,000.

Tabell 1. Parade prover, katt (n = 42) och hund (n = 42). Medelvärde och medianvärde av vägd vikt, specifik vikt mätt med tre olika refraktometrar samt osmolalitet, medelvärdet i skillnaden inom de parade proverna för de olika parametrarna (med 4 decimaler) samt p-värde för Wilcoxon signed rank test för samtliga de olika parametrarna

	Katt		Hund		Skillnad parade prov (katt – hund)	
	Medelvärde	Median	Medelvärde	Median	Skillnad (medelvärde)	Wilcoxon p-värde
Vägd vikt	1,028	1,025	1,029	1,025	-0,0006	0,31
USG Vet dog	1,024	1,022	1,023	1,021	0,0003	0,11
USG Vet cat	1,020	1,019	1,020	1,018	0,0003	0,13
USG Dog digital	1,024	1,021	1,023	1,021	0,0005	0,01
Osmolalitet	929	842	862	687	67	0,0001

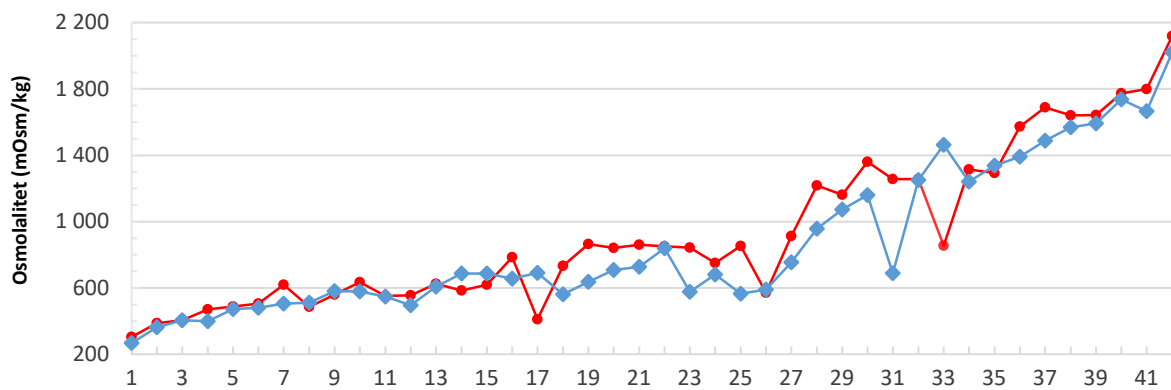


Figur 3. Bland-Altman-diagram. Skillnaden mellan olika parametrar i parade katt- och hundprover med snarlik specifik vikt. X-axeln: medelvärdet hos ett par av USG mätt med Vet dog i a), USG mätt med Vet cat i b), USG mätt med Dog digital i c) och vägd vikt i d). Y-axeln: skillnaden i resultaten mellan katt- respektive hundprovet för respektive parameter. Streckade linjer representerar 95 % konfidensintervall, gul prickad linje representerar medelvärdet i skillnaden och röd heldragen linje representerar 0 i skillnad.

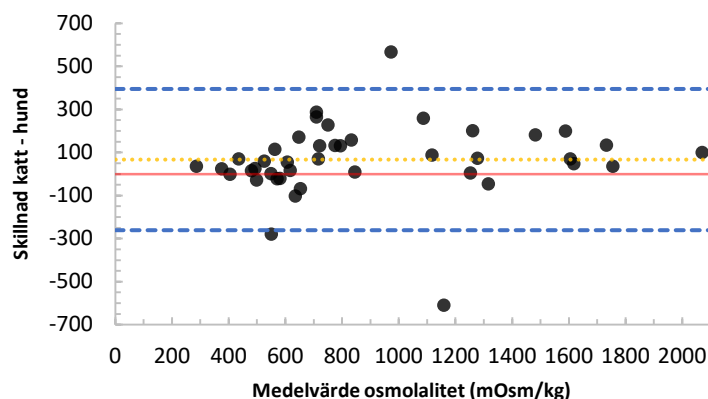
Osmolalitet

Totalt analyserades urin från 42 katter och 42 hundar i de parade proverna. Urinens osmolalitet varierade mellan 304 och 2120 mOsm/kg för kattproverna och mellan 268 och 2020 mOsm/kg för hundproverna, och kan ses i Figur 4. Medelvärde och median för osmolalitet hos katt- och hundproverna ses i Tabell 1.

Skillnaden i osmolalitet i de parade proven illustreras i Figur 5 och Tabell 1. Kattproven hade signifikant högre osmolalitet än hundproven ($p < 0,01$). Av de 42 stycken par som ingick i studien hade katten en högre osmolalitet i 33 stycken av paren (~79 %). Två av paren hade märkligt stor skillnad i osmolalitet, ~600 mOsm/kg, där katten i ena paret och hunden i det andra paret hade oväntat låg osmolalitet i förhållande till den specifika vikten. I båda fallen hade dessa två individer förhöjd koncentration av glukos (4 +) glukos och hemoglobin (2 + respektive 1 +) i urinen mätt med urinsticka innan frysning, och katten hade även protein (1 +) i urinen.



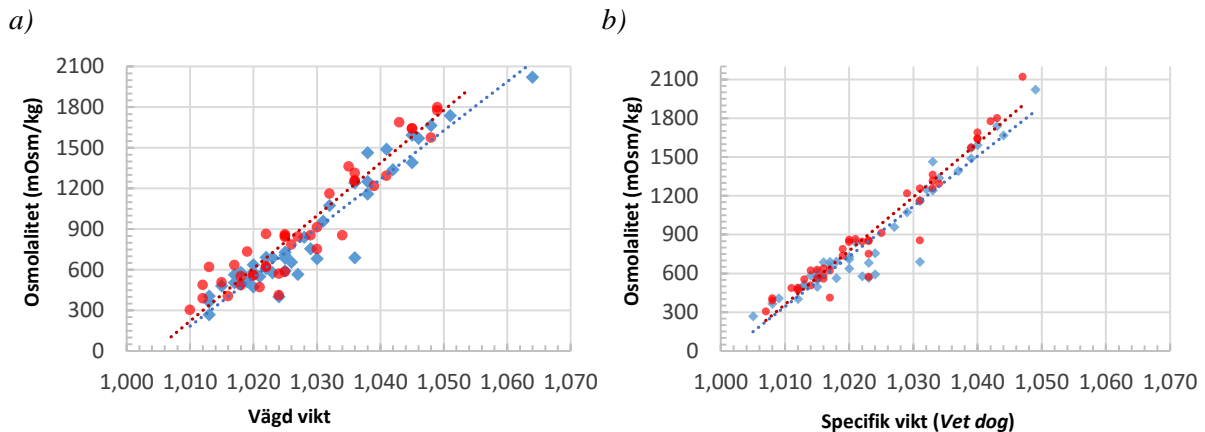
Figur 4. Osmolalitet på de 42 parade proverna, där de röda cirklarna representerar kattproverna och de blå romberna representerar hundproverna. Proverna är sorterade längs X-axeln efter specifik vikt mätt med Vet dog, från lägst till högst.



Figur 5. Bland-Altman-diagram. Skillnaden mellan osmolalitet i parade katt- och hundprover med liknande specifik vikt. X-axeln: medelvärdet hos ett par av osmolalitet (mOsm/kg). Y-axeln: skillnaden i osmolalitet (mOsm/kg) i ett par mellan katt och hund. Streckade linjer representerar 95 % konfidensintervall, gul prickad linje representerar medelvärdet i skillnaden och röd heldragen linje representerar 0 i skillnad.

Samband mellan osmolalitet och specifik vikt

Korrelation var god mellan osmolalitet och de olika parametrarna för båda djurslagen. För katter och hundar var korrelationen $r = 0,95$ mellan osmolalitet och vägd vikt (Figur 6a) och $r = 0,97$ mellan osmolalitet och USG mätt med *Vet dog* (Figur 6b). Liknande diagram och korrelation ($r = 0,97$) sågs mellan osmolalitet och *Vet cat*. Korrelationen verkade ej påverkas av koncentrationsgraden av urinen.



Figur 6. Samband mellan osmolalitet och a) vägd vikt, och b) USG mätt med *Vet dog* för samtliga katter ($n = 42$, röda cirklar) och hundar ($n = 42$, blå romber). De streckade linjerna motsvarar linjär trendlinje för respektive djurslag. Pearsons korrelationskoefficient var $r = 0,95$ för båda djurslagen i a) och $r = 0,97$ i b).

Beräknad osmolalitet och specifik vikt

Vid användning av formeln $Osm = ((USG - 1,000) \times 40\,000)$ erhöles estimat som överensstämde väl med uppmätta värden. Osmolalitet beräknat utifrån *Vet dog* stämde bättre överens med uppmätta värden jämfört med osmolalitet beräknat från *Vet cat*. På samma sätt blev medelvärdet i skillnaden mellan uppmätt USG och beräknat USG mindre för *Vet dog* (0,001) än för *Vet cat* (-0,002).

Det var sju stycken individer (8 %) som hade betydligt högre uppmätt osmolalitet jämfört med uträknad (skillnad > 250 mOsm/kg), (och alltså stor skillnad mellan uppmätt och beräknad USG) och sex stycken av dessa individer hade uttalad glukosuri (4+) mätt på urinsticka innan frysning. Detta var alla prover med 4+ i glukos.

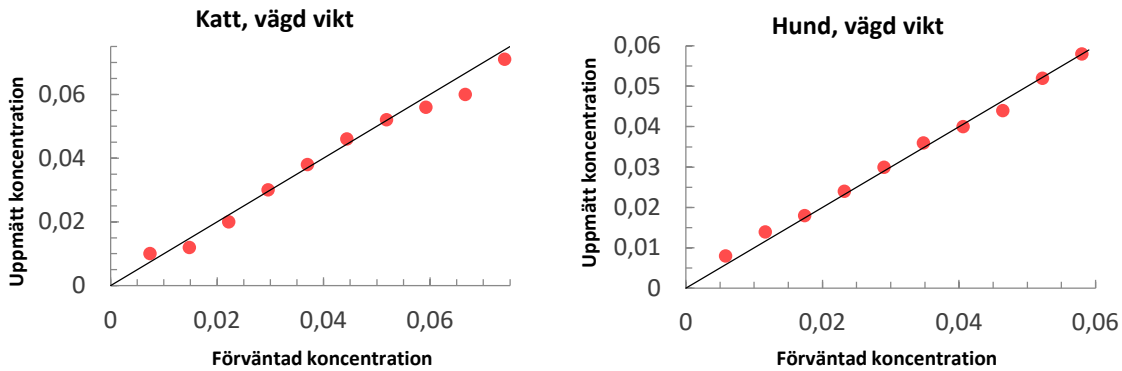
Protein var närvarande i urinen hos två av de sju individerna, och hemoglobin fanns i liten mängd hos fem av dem. Hemoglobin fanns i varierande mängd hos 42 av proverna (50 %) och ingen systematisk skillnad kunde ses mellan estimat från uppmätt USG eller vägd vikt hos dessa individer.

Linjäritet

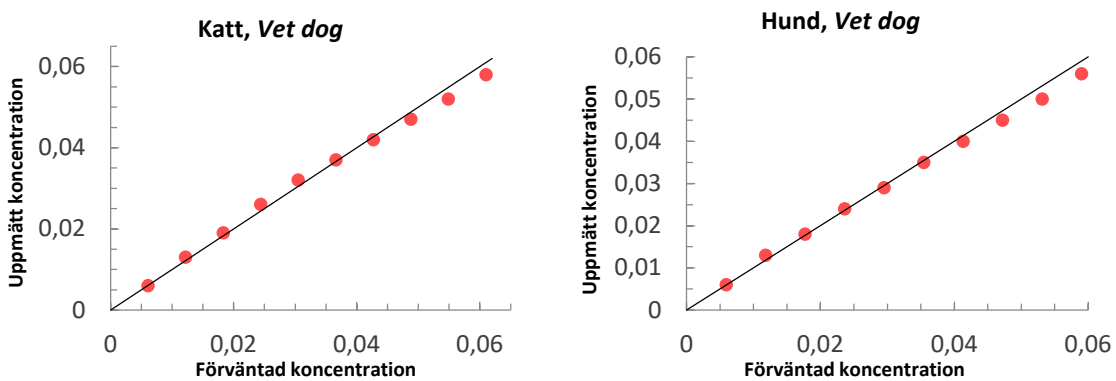
Spädningsserierna gjorda i denna studie visade på god linjäritet och kan ses i Figur 7 a-c. Linjäriteten var mindre exakt för den vägda vikten (recovery 0,81-1,38), medan den var bättre för refraktometrarna (recovery 0,93-1,10). För båda spädningarna var det de två spädningarna

med lägst urinnehåll (10 % samt 20 %) spädningarna som avvek mest från det förväntade värdet. Även osmolaliteten visade god linjäritet för de två spädningarna som gjordes med en recovery på 0,97-1,04.

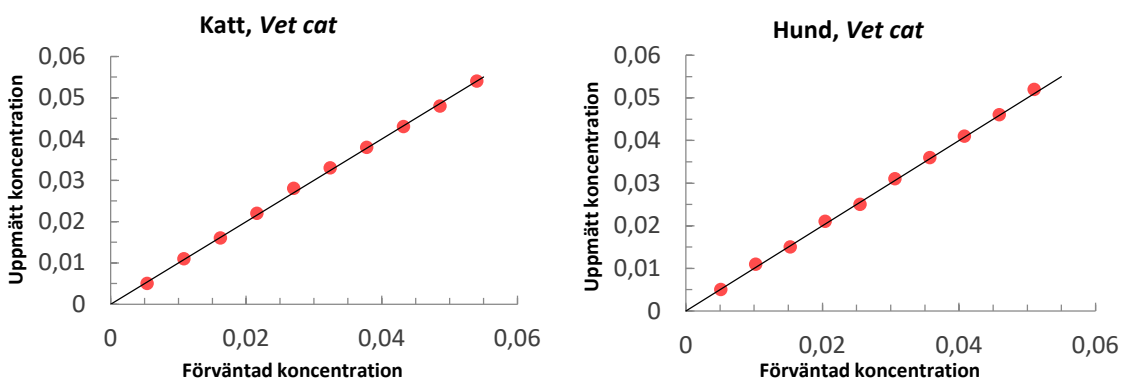
a)



b)



c)



Figur 7. Linjäritet av två spädningsserier med destillerat vatten i 10%-steg. Ett urinprov från katt (USG 1,061) till vänster och ett urinprov från hund (1,060) till höger. Linjäritet mätt i vägd vikt (a), Vet dog (b) och Vet cat (c). X-axeln representerar förväntad koncentration, och Y-axeln uppmätt koncentration. Svar linje visar en rät identitetslinje med uträknade medelvärden för alla spädningar angivet som riktvärde.

DISKUSSION

Det säljs och används idag refraktometrar speciellt anpassade till katturin då katturin påstås vara mer refraktär än urin från andra djurslag (Rubini & Wolf, 1957). Orsaken till varför det behövs är inte ordentligt utredd eller ifrågasatt. Det är svårt att hitta referensmetoder som kan ge tillräcklig noggrannhet för att förkasta behovet helt. Den vägda vikten av 1,000 ml urin förväntas överensstämja väl med den specifika vikten av urinen. I denna studie sågs varken systematisk eller signifikant skillnad i vägd vikt mellan katt- och hundproven i de parade proverna med snarlikt urinspecifik vikt ($\pm 0,002$). Trots att den vägda vikten systematiskt låg högre och viss imprecision i vägningen bedöms biasen vara konstant och underlaget vara tillräckligt bra för att kunna dra slutsatsen att ingen systematisk skillnad fanns mellan djurslagen. Liknande slutsatser om att specifika kattrefraktometrar ej behövs drogs av Tvedten *et al.* (2015), då de såg att kattrefraktometrar visade sämre samband med använda referensmetoder (vikt av torkad urin samt mätning med pyknometer) än standardrefraktometrarna.

Katt- och hundproverna parades utifrån målsättningen att de skulle ha samma urinspecifik vikt, men prover med $\pm 0,002$ inkluderades i studien för att få ett tillräckligt antal par. Det blev en liten övervikt på kattprover med högre USG än hundprovet i samma par, vilket indikeras i att blev en signifikant skillnad mellan katt- och hundproverna inom paren för den digitala refraktometern. För *Vet dog* och *Vet cat* blev fördelningen lite mera jämn. Det hade varit optimalt om alla paren hade haft samma specifik vikt.

I tre par med helt olika USG (1,012, 1,027 och 1,049) var skillnaden i vägd vikt betydligt mer än hos övriga par (-0,008 g, 0,008 g och -0,015 g). Hemoglobin var närvarande i ett par av dessa prover men det är inget som kan förklara varför den vägda vikten skiljde sig så mycket. Eventuellt är det endast kopplat till mätfel i vägning, annars behöver urinen innehålla någon substans som antingen påverkar dess refraktära index men inte den vägda vikten eller tvärtom. I denna studie valdes prover med förändrad färg och viskositet bort, men ingen hänsyn togs till sjukdom eller kemiskt innehåll avseende selektionen av urinproverna.

Den vägda vikten var systematiskt högre än specifik vikt mätt med refraktometrar för alla prover. Detta kan bero på refraktometrarna ger systematiskt falskt låga värden, eller systematiskt mätfel i vägningen i denna studie. I denna studie var det problematiskt att hitta en vägningsteknik som gav en hög riktighet vid vägning av 1,000 ml urin. Olika metoder testades, och precisionen var god för alla metoder men riktigheten var dålig för de flesta. Normal pipettering gav god noggrannhet för destillerat vatten och NaCl (9 mg/ml), men vägning av urin gav systematiskt låga värden, troligen för att med högre viskositet i vätskan fastnade en liten mängd urin kvar i pipettspetsen. Skillnaden kunde inte minskas genom att centrifugera urinen ytterligare. Omvänd pipettering gav istället systematiskt högre värden för samtliga vätskor, och även precisionen blev sämre med denna metod. Den metod som gav bäst noggrannhet var att väga hela pipetten med pipettspets utan och sedan med 1,000 ml urin, vilket gav bra precision (CV 0,1 %). Denna metod gav dock systematisk något högre värden för destillerat vatten, vilket eventuellt kan bero på att pipett och pipettspets är gjorda på ett sådant sätt att lite extra vätska dras upp då det alltid fastnar lite i pipettspetsen vid tömning. I denna studie korrigerades samtliga vikter av urin- och kontrollproverna med - 0,001 g för att justera för det konstanta

felet. Denna avvikelse hade eventuellt kunnat minska om istället pipettspetsar med speciellt anpassade med låg retention hade använts för pipettering. Temperaturen kan ej ha varit en påverkande faktor då urinen kontrollerades ha rumstemperatur innan påbörjad analys. För att minska eventuella felkällor vägdes varje urinprov minst 3 gånger, och alla prover vägdes på samma våg med samma pipett. Dossin *et al.* vägde hundurin i en studie från 2003 och hade liknande problem med vägningen, och biasen var större för dem vid vägd vikt jämfört med andra mätmetoder. I den studien gjordes en kvot av den vägda vikten av urin delat på den vägda vikten av destillerat vatten, och detta hade kunnat vara ett alternativ även i denna studie, men efter kontrollräkning erhöles i princip samma värden som att subtrahera 0,001 g för varje urinprov.

För spädningsserierna vägdes endast 0,500 ml, och vikten dubblerades för att få vikten på 1,000 ml. Detta kan ha inneburit större felmarginal vid vägningen men felmarginalen är systematisk på alla prover och då syftet var att analysera linjäriteten påverkar detta ej tolkningen av övriga resultat.

De parade kattproverna hade signifikant högre osmolalitet än hundproverna trots snarlik specifik vikt ($\pm 0,002$), och i 77 % av paren hade katten högre osmolalitet än hunden. Då osmolalitet inte beror på vikt av partiklarna utan istället antalet partiklar, skulle detta kunna indikera att katternas urin oftare innehåller många små partiklar medan hundarnas urin innehåller färre men större/tyngre partiklar.

I enlighet med andra studier (Dorizzi *et al.*, 1987; Ayoub *et al.*, 2013) korrelerade osmolaliteten mycket bra med USG mätt med refraktometrar ($r = 0,96 - 0,98$) samt vägd vikt ($r = 0,95$) i denna studie. Korrelationen med osmolalitet var god för både *Vet dog* och *Vet cat*. Det betyder att finns ett tydligt samband mellan specifik vikt och osmolalitet, men säger inget om vilken refraktometer som anger rätt nivå. Att korrelationen var något sämre mellan vägd vikt och osmolalitet kan antagligen förklaras av den vägda vikten genererade större mätfel och varians än refraktometrarna. Då många/de flesta av analyserade prover kommer från sjuka hundar och katter finns risk att urinproverna innehåller större mängd än normalt av vissa substanser. Det kan vara substanser som påverkar USG, men ej osmolalitet, till exempel glukos, och därmed försämrar korrelationen. I två av paren sågs tydligt skillnad i osmolalitet, ~ 600 mOsm/kg, där katten i ena paret och hunden i det andra paret hade oväntat låg osmolalitet. I båda fallen hade dessa två individer förhöjd koncentration av glukos (4+) och hemoglobin (2+ respektive 1+) i urinen. Det finns studier som menar på att både glukosuri och hemoglobinuri ger falskt högt USG (DiBartola & Westropp, 2014), men också studier som menar att det inte påverkar (Ayoub *et al.*, 2013). Hos de två par där osmolaliteten skiljde ~ 600 mOsm/kg är det troligt att förekomsten av glukos och hemoglobin i urinen gav falskt högt USG. Vid användning av formeln $Osm = ((USG - 1,000) \times 40\,000)$ som kan användas för att beräkna osmolalitet eller USG utifrån den andra parametern (Waldrop, 2008; Imran *et al.*, 2010), erhöles i denna studie resultat som tyder på att glukosuri påverkar korrelationen mellan osmolalitet och USG. Generellt erhöles estimat som överensstämde bra med uppmätta osmolalitet för både katt- och hundproverna, men sju stycken individer (8%), varav 4 var hundar och 3 var katter, hade betydligt högre faktisk osmolalitet jämfört med uträknad (skillnad > 250 mOsm/kg). Sex individer i studien hade uttalad glukosuri (4+) och alla dessa var en del av dessa sju med högre

USG jämfört med osmolalitet. Detta talar för att glukosuri påverkar korrelationen mellan osmolalitet och specifik vikt, trots att det finns studier som menar att det inte påverkar relationen (Imran *et al.*, 2010; Ayoub *et al.*, 2013).

Tillverkarna av osmometern rekommenderade att osmometern ska kalibreras efter de steg som gjordes i denna studie, och menar på att osmometern har ett mätområde inom 0–2500 mOsm/kg. Alltså borde dessa kalibreringsnivåer även kunna ge tillräckligt god precision vid högre koncentrationer (> 1500 mOsm/kg), men det kan även tänkas att en ytterligare kalibreringsvätska hade ökat precisionen ytterligare. Inomkörningsvariationen för osmolalitet för två olika urinprover i denna studie gav liknande siffror (CV = 0,25-0,35 %) som setts i andra studier (Dossin *et al.*, 2003).

Precis som Tvedten *et al.* (2015) visar även denna studie att olika refraktometrar ger olika resultat. Detta ska man ha i åtanke vid tolkning av USG på urinprov. Om man utgår ifrån att USG > 1,035 i ett urinprov från katt indikerar att njurarna anses vara friska (Watson, 1998; Osborne & Stevens, 1999; Waldrop, 2008) skulle 1 av katterna (2 %) i studien bedömas att ha nedsatt njurfunktion vid analys av *Vet dog*, medan de skulle ha bedömts som normala vid analys av den refraktometern som gav lägst värden (*Vet cat*). Motsvarande siffra bland hundarna, med 1,030 som gränsvärde, är 6 hundar (14 %). Det är alltså viktigt att ha i åtanke vilken refraktometer som används vid analys och inte använda absoluta gränsvärden för ”korrekt USG” utan snarare använda dem som riktlinjer. Refraktometrar som avläses manuellt har mer eller mindre detaljerade skalor och i avläsningen finns tendenser till subjektiva bedömningar. Då en och samma person har avläst samtliga refraktometrar minskar risken för tolkningsavvikelser av detta i denna studie.

Många studier har visat att många refraktometrar ger sämre precision vid högre värden (Pradella *et al.*, 1988: se Osborne & Stevens, 1999; Tvedten *et al.*, 2015) och det hade varit av värde att ha kontroller eller kalibrera refraktometrarna efter en vätska med känd specifik vikt högre än destillerat vatten eller NaCl (9 mg/ml). I denna studie analyserades även ett urinprov, *kontrollurin*, från en frisk hund med ett medelvärde för USG på 1,037, vid varje dag för analys. Samtliga mätningar av kontrollvätskorna gav i princip identiska värden för respektive refraktometer. Även alla vägningar av kontrollvätskorna var jämna. Linjäriteten var bra för osmolalitet, vägd vikt och USG med *Vet dog*, *Vet cat* och *Dog digital* i spädningarna gjorda i denna studie, både för katt- och hundprovet. Detta stämmer överens med resultat gjord på urin från människa (Price *et al.*, 1940). Vilket mätområde som undersöktes är inte angivet i den artikeln, men eftersom människor har lägre USG så undersöktes sannolikt inte värden över 1,040. Tvedten *et al.* (2015) visade att flera medicinska refraktometrar varken var linjära eller korrekta för prover med hög USG, speciellt inte om proven behövde spädas innan analys på grund av vissa refraktometrars begränsade mätområde upp till 1,035.

KONKLUSION

Trots att kattrefraktometern gav systematiskt lägre värden än övriga refraktometrar på alla urinproverna, så sågs ingen skillnad mellan djurslagen gällande den vägda vikten för de parade

proverna, och urinproverna från katt vägde inte mindre än hundproverna med snarlik specifik vikt ($\pm 0,002$). Detta talar för att för att speciella kattrefraktometrar är en onödig produkt. Den systematiska avvikelserna som kattrefraktometern hade var dock inte så stor (0,001–0,005) att den förväntas leda till allvarlig effekt på hur den specifika vikten tolkas diagnostiskt. Katturinprov analyseras bäst med refraktometer för hund som ofta har högre mätområde än refraktometrar som tillverkats för urinprov från människa.

Katturinen hade däremot signifikant högre osmolalitet ($p < 0,01$) än hundurinen, vilket talar för att katter har fler små partiklar i urinen jämfört med hund.

ACKNOWLEDGEMENTS

Tack till personalen på Klinisk kemiska laboratoriet vid Universitetsdjursjukhuset för all hjälp med insamlandet av urinprover samt trevligt bemötande. Speciellt tack till handledare Inger Lilliehöök för engagemang och allt stöd under arbetets gång. Tack till BMA-student Anna Kåhre för gott samarbete vid analys av urinproverna. Agria och SKK forskningsfond bekostade inköp av två refraktometrar och vissa analyskostnader.

REFERENSER

- Albasan, H., Lulich, J.P., Osborne, C.A., Lekcharoensuk, C., Ulrich, L.K., Carpenter, K.A., (2003). Effects of storage time and temperature on pH, specific gravity, and crystal formation in urine samples from dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 222, 176–179.
- Ayoub, J.A., Beaufriere, H., Acierno, M.J., (2013). Association between urine osmolality and specific gravity in dogs and the effect of commonly measured urine solutes on that association. *American Journal of Veterinary Research* 74, 1542–1545.
- Backlund, B., Zoran, D.L., Nabity, M.B., Norby, B., Bauer, J.E., (2011). Effects of Dietary Protein Content on Renal Parameters in Normal Cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 13, 698–704.
- Bennett, A.D., McKnight, G.E., Dodkin, S.J., Simpson, K.E., Schwartz, A.M., Gunn-Moore, D.A., (2011). Comparison of digital and optical hand-held refractometers for the measurement of feline urine specific gravity. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 13, 152–154.
- Buckley, C.M.F., Hawthorne, A., Colyer, A., Stevenson, A.E., (2011). Effect of dietary water intake on urinary output, specific gravity and relative supersaturation for calcium oxalate and struvite in the cat. *British Journal of Nutrition* 106, S128–S130.
- Chadha, V., Alon, U.S., Garg, U., (2001). Measurement of urinary concentration: a critical appraisal of methodologies. *Pediatric Nephrology* 16, 374–382.
- Chew, D.J., DiBartola, S.P., Schenck, P.A., (2011). *Canine and Feline Nephrology and Urology, Chapter 1 - Urinalysis*, pp. 1–31. Second Edition. Saint Louis: W.B. Saunders.
- DiBartola, S.P., (2012). *Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Disorders in Small Animal Practice, Chapter 2 - Applied Renal Physiology*, pp. 26–43. Fourth Edition. Saint Louis: W.B. Saunders.
- DiBartola, S.P., Westropp, J.L., (2014). *Small Animal Internal Medicine, Diagnostic Tests for the Urinary System*, pp. 638–652. Fifth Edition. Saint Louis: Elsevier Mosby.
- Dorizzi, R., Pradella, M., Bertoldo, S., Rigolin, F., (1987). Refractometry, test strip, and osmometry compared as measures of relative density of urine. *Clinical Chemistry* 33, 190–190.
- Dossin, O., Germain, C., Braun, J.P., (2003). Comparison of the Techniques of Evaluation of Urine Dilution/Concentration in the Dog. *Journal of Veterinary Medicine Series A* 50, 322–325.
- George, J.W., (2001). The Usefulness and Limitations of Hand-held Refractometers in Veterinary Laboratory Medicine: An Historical and Technical Review. *Veterinary Clinical Pathology* 30, 201–210.
- Imran, S., Eva, G., Christopher, S., Flynn, E., Henner, D., (2010). Is specific gravity a good estimate of urine osmolality? *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 24, 426–430.
- Leech, S., Penney, M.D., (1987). Correlation of specific gravity and osmolality of urine in neonates and adults. *Archives of Disease in Childhood* 62, 671–673.
- Miyagawa, Y., Tominaga, Y., Toda, N., Takemura, N., (2011). Development of Correction Formulas for Canine and Feline Urine Specific Gravity Measured Using a Japanese Refractometer. *Journal of Veterinary Medical Science* 73, 679–681.
- Osborne, C.A., dvm360 (2013-03-01). *How specific is urine specific gravity?*
<http://veterinarynews.dvm360.com/how-specific-urine-specific-gravity> [2016-10-19]
- Osborne, C.A., Stevens, J.B., (1999). *Urinalysis: A Clinical Guide to Compassionate Patient Care, Urine Specific Gravity, Refractive Index, or Osmolality: Which One Would You Choose?*, pp. 73–82. Leverkusen: Veterinary Learning Systems.
- Paris, J.K., Bennett, A.D., Dodkin, S.J., Gunn-Moore, D.A., (2012). Comparison of a digital and an optical analogue hand-held refractometer for the measurement of canine urine specific gravity. *Veterinary Record* 170, 463–463.

- Price, J.W., Miller, M., Hayman, J.M., (1940). The Relation of Specific Gravity to Composition and Total Solids in Normal Human urine 1. *The journal of Clinical Investigation* 19, 537–554.
- Reine, N.J., Langston, C.E., (2005). Urinalysis interpretation: How to squeeze out the maximum information from a small sample. *Clinical Techniques in Small Animal Practice, Diagnostic Techniques of the Urinary Tract* 20, 2–10.
- Rishniw, M., Bicalho, R., (2015). Factors affecting urine specific gravity in apparently healthy cats presenting to first opinion practice for routine evaluation. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 17, 329–337.
- Rubini, M.E., Wolf, A.V., (1957). Refractometric determination of total solids and water of serum and urine. *The Journal of Biological Chemistry* 225, 869–876.
- Sjaastad, Ø.V., Sand, O., Hove, K., (2010). *Physiology of Domestic Animals, The Kidneys and the Urinary Tract*, pp. 465–516. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Tvedten, H.W., Norén, A., (2014). Comparison of a Schmidt and Haensch refractometer and an Atago PAL-USG Cat refractometer for determination of urine specific gravity in dogs and cats. *Veterinary Clinical Pathology* 43, 63–66.
- Tvedten, H.W., Ouchterlony, H., Lilliehöök, I.E., (2015). Comparison of specific gravity analysis of feline and canine urine, using five refractometers, to pycnometric analysis and total solids by drying. *New Zealand Veterinary Journal* 63, 254–259.
- van Vonderen, I.K., Kooistra, H.S., Rijnberk, A., (1997). Intra- and Interindividual Variation in Urine Osmolality and Urine Specific Gravity in Healthy Pet Dogs of Various Ages. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 11, 30–35.
- Waldrop, J.E., (2008). Urinary Electrolytes, Solutes, and Osmolality. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, Advances in Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Disorders* 38, 503–512.
- Watson, A.D., (1998). Urine specific gravity in practice. *Australian veterinary journal* 76, 392–398.
- Wellman, M.L., DiBartola, S.P., Kohn, C.W., (2012). *Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Disorders in Small Animal Practice, Chapter 1 - Applied Physiology of Body Fluids in Dogs and Cats*, pp. 2–25. Fourth Edition. Saint Louis: W.B. Saunders.
- Wyness, S.P., Hunsaker, J.J.H., Snow, T.M., Genzen, J.R., (2016). Evaluation and analytical validation of a handheld digital refractometer for urine specific gravity measurement. *Practical Laboratory Medicine* 5, 65–74.