



Thèse

2020

Open Access

This version of the publication is provided by the author(s) and made available in accordance with the copyright holder(s).

---

Spots urinaires pour l'évaluation de la calciurie de 24 heures chez les  
enfants d'âge scolaire

---

Paccaud, Yan

**How to cite**

PACCAUD, Yan. Spots urinaires pour l'évaluation de la calciurie de 24 heures chez les enfants d'âge scolaire. Doctoral Thesis, 2020. doi: 10.13097/archive-ouverte/unige:140569

This publication URL: <https://archive-ouverte.unige.ch/unige:140569>

Publication DOI: [10.13097/archive-ouverte/unige:140569](https://doi.org/10.13097/archive-ouverte/unige:140569)



**UNIVERSITÉ  
DE GENÈVE**



**UNIVERSITÉ  
DE GENÈVE**  
FACULTÉ DE MÉDECINE

Section de médecine clinique  
Département de la Femme, de  
l'Enfant et de l'Adolescent  
Service des spécialités  
pédiatriques

Thèse préparée sous la direction de la Professeure Paloma Parvex et du  
Professeur Arnaud Chioléro.

---

**" Spots urinaires pour l'évaluation de la  
calciurie de 24 heures chez les enfants d'âge  
scolaire "**

Thèse  
présentée à la Faculté de Médecine  
de l'Université de Genève  
pour obtenir le grade de Docteur en médecine  
par

**Yan PACCAUD**

de  
Prévonloup (VD)

Thèse n° 11004

Genève

2020

**Spots urinaires pour l'évaluation de la  
calciurie de 24 heures chez les enfants d'âge  
scolaire.**

Thèse basée sur l'article :

Spot urine samples to estimate 24-h urinary calcium  
excretion in school-age children.

Y. Paccaud, M. Rios-Leyraz, M. Bochud, R. Tabin, B. Genin, M. Russo, M.

Rossier, P. Bovet, A. Chioléro, P. Parvex; European Journal of Pediatrics, 2020.

## **Remerciements**

A Carina, mon épouse, Marie, Jérémy et Inès, mes trésors, pour leur amour et leur soutien tout au long de l'accomplissement de ce travail.

Je tiens à exprimer mes remerciements les plus sincères à la Professeure Paloma Parvex dont la patience et l'expérience ont permis la réalisation de cette thèse.

Je tiens également à remercier le Professeur Arnaud Chioléro dont la disponibilité et les précieux conseils m'ont été d'un grand soutien tout au long de ce travail.

## Table des matières

<b>I.</b>	<b><i>Résumé</i></b>	<b>5</b>
<b>II.</b>	<b><i>Néphrolithiases et hypercalciurie chez l'enfant</i></b>	<b>7</b>
<b>III.</b>	<b><i>Evaluation de la calciurie</i></b>	<b>9</b>
<b>IV.</b>	<b><i>Calciurie de 24 heures et rapport calcium sur créatinine du spot</i></b>	<b>11</b>
<b>V.</b>	<b><i>Intérêt de déterminer la fiabilité de la mesure UCa/Cr du spot urinaire</i></b>	<b>13</b>
<b>VI.</b>	<b><i>Apports de l'étude aux problématiques citées</i></b>	<b>15</b>
<b>VII.</b>	<b><i>Synthèse de l'étude et proposition de prise en charge</i></b>	<b>19</b>
<b>VIII.</b>	<b><i>Bibliographie</i></b>	<b>20</b>
<b>IX.</b>	<b><i>Article</i></b>	<b>22</b>
<b>A.</b>	<b>Abstract</b>	<b>23</b>
<b>B.</b>	<b>Introduction</b>	<b>24</b>
<b>C.</b>	<b>Methods</b>	<b>25</b>
<b>D.</b>	<b>Results</b>	<b>29</b>
<b>E.</b>	<b>Discussion</b>	<b>31</b>
<b>F.</b>	<b>Conclusion</b>	<b>36</b>
<b>G.</b>	<b>References</b>	<b>38</b>
<b>H.</b>	<b>Tables and figures</b>	<b>40</b>

## I. Résumé

Le nombre d'enfant qui présente une lithiase rénale a augmenté ces dernières années. Un des facteurs de risque le plus fréquent de néphrolithiase est l'hypercalciurie. Elle se définit chez l'enfant par une calciurie supérieure à 4 mg/kg/24h ce qui nécessite une récolte d'urine de 24 heures.<sup>1</sup> Le rapport calcium sur créatinine (UCa/Cr) d'un échantillon ponctuel d'urine (spot) est fréquemment utilisé en pratique clinique pédiatrique afin d'évaluer la calciurie plus aisément. La corrélation entre ce rapport dans un spot urinaire et la calciurie de 24 heures a été évaluée par plusieurs auteurs ; une bonne corrélation a été rapportée,<sup>2,3</sup> mais également mise en doute.<sup>4-6</sup> Le moment de la journée le plus opportun pour le prélèvement du spot urinaire n'a pas été établi.

Cette thèse a pour objet l'évaluation de la calciurie chez l'enfant à partir de spots urinaires. Elle s'articule autour de notre étude analysant la corrélation entre la calciurie de 24 heures et le rapport UCa/Cr dans plusieurs spots urinaires chez des enfants d'âge scolaire en bonne santé (Spot urine samples to estimate 24-h urinary calcium excretion in school-age children).

Nous avons récolté les urines de 24 heures et trois spots urinaires (soir, premier du matin et second du matin) chez 101 enfants de 6 à 16 ans et avons pu analyser

les échantillons de 85 d'entre eux. Nous avons pu montrer une relative forte corrélation entre le rapport UCa/Cr dans un spot urinaire et la calciurie de 24 heures. Les spots du soir et premier du matin présentaient les meilleures corrélations.

Il nous a donc été possible de conclure à une utilisation fiable du spot urinaire à l'âge scolaire, la première urine du matin présentait une bonne corrélation et nous paraît la plus facile à récolter. A notre connaissance, il s'agissait de la première étude évaluant la corrélation de trois spots urinaires distincts avec la calciurie de 24 heures.

Nous avons étendu notre analyse à l'étude d'une équation permettant d'extrapoler la calciurie de 24 heures à partir de la valeur mesurée du spot urinaire en utilisant une équation publiée en 1974.<sup>2</sup> Les valeurs calculées de calciurie de 24 heures montraient une bonne corrélation avec les valeurs mesurées.

## II. Néphrolithiases et hypercalciurie chez l'enfant

Les néphrolithiases se rencontrent régulièrement en pratique pédiatrique. Une prévalence de 0.27% avant l'âge de 20 ans a été rapportée dans une large étude de revue chinoise.<sup>7</sup> Les lithiases rénales constituent 1 pour 7600 à 1 pour 1000 hospitalisations pédiatriques aux Etats-Unis<sup>8</sup>. Leur incidence semble en augmentation, Dwyer et al ont rapporté une incidence de 13 pour 100'000 personnes-années de 1984 à 1990 et de 36 pour 100'000 de 2003 à 2008.<sup>9</sup> Une autre étude unicentrique a également décrit une augmentation de l'incidence des lithiases rénales pédiatriques de cinq fois entre les années quatre-vingt-dix et deux milles.<sup>10</sup> Dans un article de revue, López et Hope rapportent cette augmentation importante des lithiases dans les pays occidentaux et reprennent le terme de « vague de lithiase ». Les causes suspectées de cette augmentation des cas comprennent le changement des conditions sociales et des habitudes alimentaires. Des facteurs raciaux, génétiques, climatiques et diététiques influencent l'incidence. La variabilité géographique de l'incidence des calculs est très souvent décrite.<sup>8</sup> Le calcium joue un rôle prépondérant dans la formation de lithiase ; les lithiases pédiatriques sont composés d'oxalate de calcium dans 60-90% des cas, suivi par les calculs de phosphate de calcium.<sup>8</sup>

L'hypercalciurie est la cause sous-jacente de calcul la plus fréquente, elle est retrouvée chez 28 à 62 % des enfants présentant une lithiase rénale.<sup>9,11,12</sup>

L'hypercalciurie conduit à une néphrolithiase dans 15 % des cas.<sup>1</sup> L'incidence de



l'hypercalciurie chez les enfants varie entre les études, des incidences entre 9 et 13 % ont été rapportées dans les études citées par Butani.<sup>13</sup>

L'hypercalciurie outre d'être un facteur de risque de lithiase rénale se rencontre dans d'autres situations cliniques : hématurie macroscopique ou microscopique, douleurs abdominales récidivantes, dysurie, énurésie, infection urinaire récidivante, néphrocalcinose échographique.<sup>1,14,15</sup> Une étude iranienne retrouvait une hypercalciurie chez 31% des patients présentant des symptômes urinaires.<sup>16</sup> L'hypercalciurie peut être idiopathique. Elle peut être secondaire à une augmentation de la résorption osseuse retrouvée lors d'immobilisation prolongée ou de corticothérapie ou syndrome de Cushing, par exemple. Une hypercalciurie se retrouve également en cas de diminution de la réabsorption tubulaire rénale (Syndrome de Fanconi, de Bartter, acidose rénale tubulaire de type 1) ou encore d'hypercalcémie : hyperparathyroïdie, intoxication à la vitamine D, sarcoïdose.<sup>1,17</sup>

Dans certaines conditions, un traitement de l'hypercalciurie par modification du régime alimentaire, hydrochlorothiazide ou citrate de potassium peut être envisagé de même qu'une restriction des apports en sodium.<sup>1,17</sup>

Afin d'évaluer un patient présentant une lithiase rénale ou d'autres symptômes urinaires, une méthode d'évaluation fiable et aisée de la calciurie est nécessaire à la pratique clinique pédiatrique.

### III. Evaluation de la calciurie

#### Récolte de 24 heures

La mesure de la calciurie sur les urines de 24 heures (24hUCa) est considérée comme la méthode de choix pour le diagnostic de l'hypercalciurie.<sup>1</sup> Toutefois, l'obtention d'une récolte d'urine de 24 heures n'est pas aisée dans la pratique pédiatrique, 22% des récoltes pouvant être erronées.<sup>18</sup>

La norme pour la calciurie de 24 heures est fixée à 4 mg/kg/24h.<sup>1,13</sup> Cette valeur a été proposée par Ghazali en 1974 après l'étude d'un échantillon de 54 enfants de 1 à 15 ans en bonne santé.<sup>2</sup> Ghazali trouvait alors une calciurie moyenne de 24 heures de  $2.38 \pm 0.66$  (mean  $\pm$  SD) et convenait d'une limite supérieure de calciurie de 4.0 mg/kg/24h. Une valeur moyenne de calciurie similaire, de 2.05 et 2.3 mg/kg/24 h, a été trouvée par d'autres auteurs.<sup>6,19</sup> Toutefois, la calciurie semblait dépendre de l'âge et du sexe, ce qui n'est pas non plus pris en compte par la limite usuelle de 4 mg/kg/24h.<sup>6</sup> Cette valeur limite de calciurie représente une entité statistique et n'a pas été déterminée en tenant compte des complications cliniques de l'hypercalciurie.<sup>13</sup>

#### Échantillon ponctuel d'urine (spot urinaire)

En pratique clinique, un échantillon ponctuel d'urine (spot urinaire) est souvent préféré à la récolte d'urine de 24 heures. Le spot urinaire consiste en la mesure des électrolytes d'un échantillon ponctuel d'urine.<sup>20</sup> Le plus souvent, la

concentration des électrolytes est rapportée à la concentration de la créatinine permettant de tenir compte de la dilution des urines. C'est un examen instantané qui reflète la réponse rénale les quelques heures précédant la miction. Le spot urinaire consiste au prélèvement d'une dizaine de millilitres d'urine lors d'une miction, son prélèvement est beaucoup plus simple et aisé qu'une récolte de 24 heures particulièrement à l'âge pédiatrique. Bien que plus de données existent en comparaison à la calciurie de 24 heures, les valeurs limites proposées dépendent de l'âge et du sexe et varient selon les études.<sup>3,21,22</sup> Une influence géographique, de même que de la diète et de l'ethnicité sont également rapportées.<sup>13</sup> Une étude suisse avait déterminé des valeurs seuil pour différents âges de 1 mois à 17 ans après l'étude de 410 patients.<sup>21</sup> Un rapport calcium sur créatinine (UCa/Cr) inférieur à 0.21 mg/mg est habituellement considéré comme normal.<sup>1</sup> L'European Society for Paediatric Nephrology considère un ratio inférieur à 0.25 (mg/mg) normal dès l'âge de 7 ans.<sup>23</sup>

#### **IV. Calciurie de 24 heures et rapport calcium sur créatinine du spot**

Bien que largement utilisé, la validité du rapport calcium sur créatinine (UCa/Cr) permettant d'apprécier la calciurie de 24 heures est sujette à controverse. En 1974, Ghazali publiait, en même temps que les valeurs de calciurie de 24 heures et du rapport UCa/Cr de la seconde urine du matin, une équation montrant la relation entre la calciurie de 24 heures et le rapport UCa/Cr.<sup>2</sup> Cette équation permettait d'estimer la calciurie de 24 heures à partir du rapport UCa/Cr dans le spot. Il n'est plus fait mention de cette équation dans les publications traitant de la calciurie et du rapport UCa/Cr par la suite. Ghazali considérait alors la corrélation UCa/Cr du spot urinaire et de la récolte de 24 heures comme raisonnablement bonne ( $r=0.88$ ).

Une autre étude retrouvait une bonne corrélation entre le rapport UCa/Cr dans un spot urinaire et la récolte de 24 heures.<sup>3</sup> Un ouvrage reconnu propose d'utiliser le rapport dans un spot urinaire comme moyen de dépistage précédant une mesure lors d'une récolte de 24 heures.<sup>1</sup> Deux études récentes proposent de ne pas utiliser les spots urinaires pour le dépistage de l'hypercalciurie ou l'évaluation d'une hématurie.<sup>4,5</sup> Les méthodologies étaient toutefois différentes en terme de recrutement des sujets, du moment de prélèvement des spots et de la concomitance avec la récolte de 24 heures. Le moment du prélèvement du spot urinaire n'est que très peu décrit puisque les études retrouvées ne comparaient la

calciurie de 24 heures qu'avec un seul spot urinaire le plus souvent premier ou second du matin.<sup>3-6</sup>

## **V. Intérêt de déterminer la fiabilité de la mesure UCa/Cr du spot urinaire**

L'usage du spot urinaire est largement répandu en pratique clinique de par sa facilité de prélèvement à l'âge pédiatrique. Par exemple, la mesure du rapport UCa/Cr dans le spot urinaire fait partie du bilan d'une hypercalcémie ou d'une lithiase rénale. Au vu de la controverse existante sur la validité de cette mesure à diagnostiquer ou dépister une hypercalciurie, il paraît important d'analyser la corrélation entre la calciurie mesurée sur la récolte de 24 heures et le rapport UCa/Cr des spots urinaires. Peu de données permettent d'évaluer le moment de la journée optimal au prélèvement du spot urinaire, les études explorant la corrélation du spot urinaire et la récolte de 24 heures ont uniquement utilisé la première ou seconde miction du matin.<sup>2-6</sup> Aucune de ces études n'a évalué plusieurs spots urinaires.

Validée chez l'adulte, l'estimation de la natriurie de 24 heures calculée à partir du spot urinaire a récemment été étudiée chez l'enfant.<sup>24,25</sup> Cette méthode représente une alternative simple à la récolte de 24 heures. L'estimation de la calciurie de 24 heures calculée à partir d'un spot urinaire à l'aide d'une formule mathématique adéquate pourrait également être une alternative.

La corrélation calciurie et spot urinaire, le moment de prélèvement du spot urinaire et l'utilisation d'une formule permettant l'estimation de la calciurie à partir du spot urinaire font l'objet de cette thèse et de notre étude. Cette dernière a été publiée dans l'European Journal of Pediatrics.

## **VI. Apports de l'étude aux problématiques citées**

Notre étude a pu approcher les diverses problématiques exposées dans les paragraphes précédents. Selon la méthodologie de l'étude et ses objectifs, les perspectives apportées à ces points sont diverses.

### La calciurie de 24 heures

La valeur moyenne de calciurie de  $2.0 \pm 1.3$  mg/kg/24h de notre étude était similaire aux études comparables.<sup>2,6,19</sup> Notre étude ne nous permet pas de proposer de valeur de limite supérieure de calciurie. Il serait toutefois important de conduire une étude permettant de valider un seuil limite de calciurie tenant compte des complications liées à l'hypercalciurie puisqu'aucune des études citées dans cette thèse ne l'a exploré.

### Rapport calcium sur créatinine urinaire (UCa/Cr) dans un spot urinaire

Nous avons trouvé des valeurs de rapport UCa/Cr entre 0.09 et 0.11 (mg/mg) pour nos différents spots urinaires et une valeur de 0.10(mg/mg) pour ce même rapport dans la récolte de 24 heures. Ces valeurs sont proches d'autres études.<sup>3,6</sup>

Pour notre étude, nous avons choisi d'utiliser 0.21 (mg/mg) comme limite au rapport UCa/Cr, ce seuil est fréquemment proposé dans la littérature et consiste en une des valeurs basses proposées.<sup>21-23</sup> Une valeur limite différente modifie les



valeurs prédictives positives et négatives sans influencer sur les autres paramètres analysés. Nos valeurs prédictives positives et négatives sont peu informative compte tenu de la faible proportion de patients hypercalciuriques. Par ailleurs, la méthodologie de notre étude ne permettait pas de déduire une valeur seuil pour le rapport UCa/Cr. Dans la littérature, il existe déjà plusieurs normes tenant parfois compte du sexe et de l'âge et variant selon les zones géographiques.<sup>13</sup>

### Corrélation entre le rapport calcium sur créatinine urinaire dans un spot urinaire et la calciurie de 24 heures

L'étude de la corrélation entre le rapport calcium sur créatinine urinaire dans un spot urinaire et la calciurie de 24 heures est le point central de notre étude qui a été effectuée sur des sujets sains, à domicile. Notre étude a permis de corroborer la validité de la corrélation entre les spots urinaires et la récolte de 24 heures en utilisant plusieurs outils : nuages de points (scatterplots), corrélation de Pearson, courbes ROC (receiver operating characteristic : fonction d'efficacité du récepteur) et leurs aires sous la courbe (AUC).

Nous avons pu évaluer trois moments distincts de prélèvement des spots urinaires : dernier du soir, premier du matin et second du matin. Nous avons pu montrer que les prélèvements du soir et premier du matin présentent les meilleures corrélations, sans toutefois pouvoir comparer les spots statistiquement

entre eux. Physiologiquement, la première urine du matin représente une période de temps plus longue, ce qui pourrait expliquer une bonne corrélation avec la récolte de 24 heures. Cependant, ceci n'explique pas la bonne corrélation de la miction vespérale. La moins bonne corrélation de la seconde urine du matin pourrait s'expliquer par l'absence de jeûne et la variété des charges calciques de nos sujets lors du petit-déjeuner.

A notre connaissance, notre étude est la première évaluant plusieurs spots urinaires à des temps différents de façon concomitante à une récolte d'urine de 24 heures.

#### Equation permettant de déterminer la calciurie à partir d'un spot urinaire

Il nous a paru intéressant d'évaluer la possibilité de calculer l'excrétion urinaire de calcium par 24 heures à partir de la mesure du rapport calcium sur créatinine d'un spot urinaire. Des équations existent afin d'estimer la natriurèse de 24 heures à partir du spot urinaire chez l'adultes et ont récemment été évaluées chez l'enfant.<sup>24,25</sup> Nous avons testé la seule équation retrouvée dans la littérature pour le calcium chez l'enfant et proposée en 1974 par Ghazali (Estimated 24-h urine calcium [mg/kg] = 19.4 x calcium/creatinine [mg/mg] – 0.17).<sup>2</sup> Nos mesures ont montré une bonne corrélation entre les valeurs mesurées et calculées, ce qui pouvait être attendu puisque l'équation de Ghazali est linéaire et ne modifie pas la corrélation des échantillons. Il est intéressant de constater que calculé par la

formule la limite reconnue de calciurie de 4 mg/kg/24h correspond à un rapport calcium sur créatinine (UCa/Cr) de 0.22 mg/mg proche des limites habituellement définies pour ce rapport dans les spots urinaires. L'estimation de la calciurie par l'équation permet d'évaluer les spots urinaires plus aisément avec les mêmes unités que la récolte de 24 heures. Il pourrait ainsi être opportun de conduire des études permettant d'optimiser et valider une équation dans ce sens. Une fois validées, ces équations permettront d'estimer la calciurie de façon simple à partir d'un spot urinaire et d'étudier plus facilement de grands échantillons de patients.

## **VII. Synthèse de l'étude et proposition de prise en charge**

Par ce travail, nous avons pu montrer une relative forte corrélation entre la calciurie de la récolte de 24 heures et le rapport UCa/Cr dans les spots urinaires du soir et premier du matin. En pratique clinique, ces résultats permettent de conforter l'utilisation du rapport UCa/Cr du spot urinaire afin d'évaluer la calciurie en particulier pour la première urine du matin.

Notre étude présente toutefois des limitations et de nouvelles études sont nécessaires. La corrélation entre le rapport UCa/Cr du spot urinaire et la calciurie de 24 heures devrait être vérifiée dans un échantillon de patients présentant des valeurs élevées de calciurie. Ensuite, la valeur de calciurie définissant le seuil d'hypercalciurie actuellement fixée à 4 mg/kg/24h devrait être validée sur de larges échantillons et en tenant compte des complications liées à l'hypercalciurie. Si une équation permettant d'estimer de façon fiable la calciurie de 24 heures à partir du spot urinaire pouvait être validée ce qui semble possible d'après notre étude, il serait ensuite aisé d'étudier de large échantillons de patients.

## VIII. Bibliographie

1. Kliegman R, Behrman RE, Nelson WE, eds. *Nelson Textbook of Pediatrics*. Edition 20. Philadelphia, PA: Elsevier; 2016.
2. Ghazali S, Barratt TM. Urinary excretion of calcium and magnesium in children. *Arch Dis Child*. 1974;49(2):97-101. doi:10.1136/adc.49.2.97
3. Reusz GS, Dobos M, Byrd D, Sallay P, Miltényi M, Tulassay T. Urinary calcium and oxalate excretion in children. *Pediatr Nephrol*. 1995;9(1):39-44.
4. Koyun M, Güven AG, Filiz S, et al. Screening for hypercalciuria in schoolchildren: what should be the criteria for diagnosis? *Pediatr Nephrol*. 2007;22(9):1297-1301. doi:10.1007/s00467-007-0528-9
5. Choi IS, Jung ES, Choi YE, Cho YK, Yang EM, Kim CJ. Random urinary calcium/creatinine ratio for screening hypercalciuria in children with hematuria. *Ann Lab Med*. 2013;33(6):401-405. doi:10.3343/alm.2013.33.6.401
6. Alconcher LF, Castro C, Quintana D, et al. Urinary calcium excretion in healthy school children. *Pediatr Nephrol*. 1997;11(2):186-188.
7. Wang W, Fan J, Huang G, et al. Prevalence of kidney stones in mainland China: A systematic review. *Sci Rep*. 2017;7. doi:10.1038/srep41630
8. López M, Hoppe B. History, epidemiology and regional diversities of urolithiasis. *Pediatr Nephrol*. 2010;25(1):49-59. doi:10.1007/s00467-008-0960-5
9. Dwyer ME, Krambeck AE, Bergstralh EJ, Milliner DS, Lieske JC, Rule AD. Temporal trends in incidence of kidney stones among children: a 25-year population based study. *J Urol*. 2012;188(1):247-252. doi:10.1016/j.juro.2012.03.021
10. VanDervoort K, Wiesen J, Frank R, et al. Urolithiasis in pediatric patients: a single center study of incidence, clinical presentation and outcome. *J Urol*. 2007;177(6):2300-2305. doi:10.1016/j.juro.2007.02.002
11. Coward RJM, Peters CJ, Duffy PG, et al. Epidemiology of paediatric renal stone disease in the UK. *Arch Dis Child*. 2003;88(11):962-965. doi:10.1136/adc.88.11.962
12. Issler N, Dufek S, Kleta R, Bockenhauer D, Smeulders N, Van't Hoff W. Epidemiology of paediatric renal stone disease: a 22-year single centre experience in the UK. *BMC Nephrol*. 2017;18(1):136. doi:10.1186/s12882-017-0505-x
13. Butani L, Kalia A. Idiopathic hypercalciuria in children--how valid are the existing diagnostic criteria? *Pediatr Nephrol*. 2004;19(6):577-582. doi:10.1007/s00467-004-1470-8
14. Nacaroglu HT, Demircin G, Bülbül M, Erdogan O, Akyüz SG, Caltik A. The association between urinary tract infection and idiopathic hypercalciuria in children. *Ren Fail*. 2013;35(3):327-332. doi:10.3109/0886022X.2013.764254

15. Polito C, La Manna A, Cioce F, Villani J, Nappi B, Di Toro R. Clinical presentation and natural course of idiopathic hypercalciuria in children. *Pediatr Nephrol.* 2000;15(3-4):211-214. doi:10.1007/s004670000433
16. Fallahzadeh MK, Fallahzadeh MH, Mowla A, Derakhshan A. Hypercalciuria in children with urinary tract symptoms. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2010;21(4):673-677.
17. Périmenis P, Wémeau J-L, Vantyghem M-C. Les hypercalciuries. *Annales d'Endocrinologie.* 2005;66(6):532-539.
18. Chan KH, Moser EA, Whittam BM, et al. Initial collection of an inadequate 24-hour urine sample in children does not predict subsequent inadequate collections. *Journal of Pediatric Urology.* 2019;15(1):74.e1-74.e7. doi:10.1016/j.jpuro.2018.10.019
19. De Santo NG, Di Iorio B, Capasso G, et al. Population based data on urinary excretion of calcium, magnesium, oxalate, phosphate and uric acid in children from Cimitile (southern Italy). *Pediatr Nephrol.* 1992;6(2):149-157.
20. Fumeaux Z, Stoermann C. Le spot urinaire : utilité et pièges à éviter. *Revue Médicale Suisse.* <https://www.revmed.ch/RMS/2005/RMS-8/30204>. Accessed July 22, 2019.
21. Matos V, van Melle G, Boulat O, Markert M, Bachmann C, Guignard JP. Urinary phosphate/creatinine, calcium/creatinine, and magnesium/creatinine ratios in a healthy pediatric population. *J Pediatr.* 1997;131(2):252-257. doi:10.1016/s0022-3476(97)70162-8
22. Sargent JD, Stukel TA, Kresel J, Klein RZ. Normal values for random urinary calcium to creatinine ratios in infancy. *J Pediatr.* 1993;123(3):393-397. doi:10.1016/s0022-3476(05)81738-x
23. Cochat P. *ESPN Handbook.* European Society for Paediatric Nephrology; 2002, 462-463.
24. Rios-Leyvraz M, Bovet P, Tabin R, et al. Urine Spot Samples Can Be Used to Estimate 24-Hour Urinary Sodium Excretion in Children. *J Nutr.* 2018;148(12):1946-1953. doi:10.1093/jn/nxy211
25. Tanaka T, Okamura T, Miura K, et al. Tanaka T, Okamura T, Miura K, Kadowaki T, Ueshima H, Nakagawa H, Hashimoto T. A simple method to estimate populational 24-h urinary sodium and potassium excretion using a casual urine specimen. *Journal of human hypertension.* 2002;16:97-103. doi:10.1038/sj.jhh.1001307

**IX. Article**

**Spot urine samples to estimate 24-h urinary calcium excretion in school-age children**

Yan Paccaud<sup>1,2</sup>; Magali Rios-Leyvraz<sup>3</sup>; Murielle Bochud<sup>3</sup>; René Tabin<sup>1,2</sup>;  
Bernard Genin<sup>1,2</sup>; Michel Russo<sup>1</sup>; Michel F Rossier<sup>2,4</sup>; Pascal Bovet<sup>3</sup>; Arnaud  
Chiolero<sup>5,6,7</sup>; Paloma Parvex<sup>2</sup>

---

<sup>1</sup> Hospital Center of Valais Romand, Hospital of Valais, Sion, Switzerland.

<sup>2</sup> Faculty of Medicine, University of Geneva, Geneva, Switzerland.

<sup>3</sup> Department of Epidemiology and Health Systems, Center for Primary Care and Public Health (Unisanté), Lausanne, Switzerland.

<sup>4</sup> Central Institute of Hospitals, Hospital of Valais, Sion, Switzerland.

<sup>5</sup> Population Health Laboratory (#PopHealthLab), University of Fribourg, Fribourg, Switzerland.

<sup>6</sup> Institute of Primary Health Care (BIHAM), University of Bern, Bern, Switzerland.

<sup>7</sup> Department of Epidemiology, Biostatistics and Occupational Health, McGill University, Montreal, Canada.

## A. Abstract

Urinary calcium/creatinine ratio (UCa/Cr) on a single spot urine sample is frequently used in children to evaluate calciuria, but its accuracy to estimate 24-h urinary calcium excretion (24hUCa) has not been properly assessed. We analyzed the correlation between UCa/Cr in various spot samples and 24hUCa among healthy children. A 24-h urine specimen and three spot urine samples (evening, first, and second morning) were collected in a convenience sample of children aged 6 to 16 years (n=101). Measured 24hUCa was compared with UCa/Cr in each of the three spot samples. The ability of UCa/Cr to discriminate between children with and without hypercalciuria (calciuria  $>4$  mg/kg/24h, 1 mmol/kg/24h) and optimal timing of the spot sample were determined. Eighty-five children completed an adequate 24-h urine collection. Pearson correlation coefficients between the UCa/Cr on the spot sample and 24hUCa were 0.64, 0.71 and 0.52 for the evening, first and second morning spot samples, respectively. Areas under the ROC curve were 0.90, 0.82 and 0.75, respectively, for the corresponding spot samples.

**Conclusion:** The relatively strong correlation between 24hUCa and UCa/Cr in evening and first morning spot urine samples suggests that these spots could be preferred in clinical practice.



## **B. Introduction**

Hypercalciuria is a major risk factor for nephrolithiasis and is responsible for 28 to 62% of cases in children[1–3]. It may present with various other symptoms, such as gross or microscopic hematuria, dysuria, enuresis, urinary urgency or abdominal pain[4, 5]. Hypercalciuria in children is defined as a urinary calcium excretion of more than 4 mg/kg/24h (1 mmol/kg/24h), based on 24-h urine collection[6], which is considered the more reliable method to evaluate calciuria[7]. Due to the difficulty to obtain accurate urine collection in children, the measure of urinary calcium/creatinine ratio (UCa/Cr) on a single spot urine sample is mainly used as a screening test for hypercalciuria[6, 8]. However, methods for quantifying urinary calcium excretion have not been standardized[7]. Given that urinary calcium has a diurnal variation and varies after calcium enteral load[9], the timing of the spot urine sample can have an impact on the evaluation of 24-h urine calcium excretion (24hUCa).

Surprisingly, few studies have assessed the accuracy of a spot urinary sample to estimate 24hUCa in children. In a 2004 review, Butani and Kalia[7] concluded that although 24-h urine collections are ideal for the quantification of urinary calcium excretion, the UCa/Cr was easier to obtain in a spot urine sample and correlated well with 24-h data. However, in a later study, Koyun concluded that random UCa/Cr cannot be substituted for 24-h urine collection for screening in children[10]. A recent study showed a moderately strong correlation between

UCa/Cr and 24hUCa in children with hematuria, but still concluded that UCa/Cr is not suitable for screening children with hematuria[11].

In the current study, we aimed to determine the correlation between 24hUCa and UCa/Cr on spot urine samples in healthy school-age children. We also assessed the optimal timing of the spot sample to measure UCa/Cr.

## **C. Methods**

### **Study setting and participants**

We conducted a secondary analysis of data collected in a convenience sample of school-age children. The original study was registered in ClinicalTrials.gov (NCT02900261) with the primary goal to compare 24-h urine collections with spot urinary samples in order to estimate sodium excretion in children. Results of the main analysis were published in 2018[12, 13].

The study was cross-sectional in a convenience sample of outpatient children aged between 6 and 16 years. Children were recruited at the Hospital of Valais (Sion, Switzerland) and in several pediatric and primary care facilities in the canton of Valais between September 2016 and February 2018. Exclusion criteria were: children with any conditions potentially altering the consumption and excretion of sodium (e.g., chronic renal disease); taking medication with an effect on sodium or calcium excretion (e.g., diuretics, corticosteroids); intravenous infusion during data collection; or insufficient knowledge of the local language.

The ethics research committee of the canton of Vaud approved the primary study (CER-VD, identification number: 2015-01178) and was informed of the secondary analysis. Written consent was obtained from one of the parents (or legal guardian) and the oral consent of the child. In addition, written consent of the child was obtained for those over 14 years.

### **Data collection**

Upon enrolment, children were weighed on an electronic weighing scale and measured with a wall-mounted stadiometer in light clothes and without shoes in a non-fasting state by a trained nurse or research assistant. Participants received all the materials for urine collection, which they did at home on the days of their choice. They were instructed to maintain their usual diet and liquid intake during urine collection. To ensure a complete collection, written and oral instructions were given to the children and their parents. Three small sterile collection pots (55 ml) were provided for the spot urine samples and a sterile container (3 l) was provided for the 24-h urine collection. The urine was not acidified.

Urine collection was done over three consecutive days (days 1–3), which consisted, consecutively of one evening spot sample (last void before going to bed) on day 1, one 24-h urine collection on day 2, one first morning spot sample (first void upon rising in the morning) on day 3, and one second morning spot sample (second void upon rising in the morning) on day 3. The children were instructed to maintain their usual diet and liquid intake during urine collection.

The evening and second morning spot samples were therefore not fasting. The parents completed a short questionnaire on the family sociodemographic situation. Children and parents were instructed to store the urine samples in the provided containers in the fridge between 4 and 8°C. Urine samples were kept at home no longer than 48 h before being brought to the laboratory at the Hospital of Valais where urine samples were immediately placed in a freezer at -20°C until analysis. Calcium and creatinine levels and the urine sample volumes were measured. The calcium concentration was measured by photometry after chelation with 5-nitro-5'-methyl-BAPTA and creatinine concentration by the Jaffe colorimetric method using a Cobas® c 501 analyzer (Roche Diagnostics AG, Basel, Switzerland).

### **Statistical analyses**

A 24-h creatinine excretion of less than 0.1 mmol per kilogram of body weight per day (mmol/kg/24h) was considered an indication of an incomplete 24-h urine collection[14]. Children with an incomplete 24-h urine collection were excluded from the analysis. Urine samples with calcium content below the detection limit of the analyzer (0.2 mmol/L) were attributed a value of 0.1 mmol/L. To calculate the 24-h calcium and creatinine urinary excretions (g/24h or mmol/24h), measured concentrations of calcium and creatinine (g/L or mmol/L) were multiplied by the volume of the 24-h sample (L) and adjusted for self-reported collection times to represent an exact 24-h duration (as a fraction of 24h). The

UCa/Cr (mg/mg or mmol/mmol) in the spot samples was calculated after measuring the calcium and creatinine concentration in each sample. Reference values for UCa/Cr vary between studies[15–17] and a UCa/Cr ratio of less than 0.21 mg/mg is often considered normal over 2 years of age[6]. In this study, we used the threshold of 0.21 mg/mg (0.6 mmol/mmol). The body mass index was measured in kg/m<sup>2</sup> and z scores, based on the reference values from the 2000 US Centers for Disease Control and Prevention growth charts[18].

The correlation between 24hUCa and age and weight was assessed with the Pearson correlation coefficient, and between 24hUCa and sex with the Spearman correlation coefficient. The 24hUCa and UCa/Cr in the three different spot samples were compared using Pearson correlations and scatterplots. The reliability of using the UCa/Cr with the 0.21 mg/mg threshold to detect hypercalciuria (24hUCa >4mg/kg/24h) was also assessed using predictive positive (PPV) and negative values (NPV). The ability of the UCa/Cr to discriminate between children with and without hypercalciuria was assessed with a receiver operating characteristic (ROC) curve analysis[19]. The area under the ROC curve (AUC) statistic represents the probability of correctly classifying children with and without hypercalciuria. The AUC ranges from 0.5 (random discrimination) to 1.0 (perfect discrimination). We considered values of 0.8 and above as indicating a strong discrimination power.

Furthermore, to calculate 24hUCa (mg/kg/24h) from spot urinary samples (mg/mg), we used the sole published equation, proposed in 1974 by Ghazali, i.e.,

estimated 24-h urine calcium (mg/kg/24h) = 19.4 x first morning calcium/creatinine (mg/mg) – 0.17[9]. Scatterplots were plotted for each spot sample, allowing visual comparisons. Statistical analyses were conducted with R (version 3.3.1) and R Analytic Flow (version 3.0.6).

## **D. Results**

### **Subjects**

Of 101 children enrolled in the study, 94 were able to collect urine samples. A 24-h urine collection was considered complete according to total creatinine per body weight (mg/kg/24h) in 86 children. One child was on corticoid treatment and was excluded. A total of 85 children were included in the analyses. Among these, five had a urine calcium content below the detection limit in one or several samples. Patient characteristics are described in Table 1 (mean age, 10.4 years; 65%, boys).

### **Urinary calcium excretion**

Seven children (8.2%) showed a calciuria >4 mg/kg/24h and therefore were considered to have hypercalciuria. The distribution of 24hUCa is shown in Fig. 1. Urinary calcium excretion in the 24-h urine collection and the UCa/Cr on the spot urine samples are reported in Table 2. The mean ± SD 24hUCa was 2.0 ± 1.3 mg/kg/24h. There was a weak negative correlation between calcium excretion

and age ( $r = -0.23$ ;  $P = 0.035$ ), but no significant correlation with sex ( $r = -0.03$ ;  $P = 0.784$ ). The mean  $\pm$  SD UCa/Cr on 24-h urine collection was  $0.10 \pm 0.06$  (mg/mg). On single spot urine samples, the mean  $\pm$  SD UCa/Cr were  $0.11 \pm 0.08$ ,  $0.10 \pm 0.07$  and  $0.09 \pm 0.07$  (mg/mg) for the evening, first morning and second morning samples, respectively. Using the cut-off of UCa/Cr  $\geq 0.21$  mg/mg, 15.3%, 10.6% and 7.1% of children were found to have hypercalciuria with the evening, first morning and second morning spot samples, respectively.

Scatterplots showing the relation between UCa/Cr in each spot sample and 24hUCa are shown in Fig. 2. Scatterplots for the evening and second morning spot samples tended to be more dispersed than the first morning sample. Table 3 shows the comparison between UCa/Cr in spot samples and 24hUCa. The correlation between UCa/Cr and 24hUCa was strong for first morning spot samples with the Pearson coefficient ( $r$ ) of 0.71 (95% CI, 0.59-0.80) and moderate for the evening (0.64 [95% CI, 0.49-0.75]) and second morning spot samples (0.52 [95% CI, 0.34-0.66]). NPV of the proportion of children without hypercalciuria (24hUCa  $\leq 4$ mg/kg/24h) among all children with low UCa/Cr ( $< 0.21$  mg/mg) ranged from 92% to 97%. PPV of hypercalciuric children (24hUCa  $> 4$ mg/kg/24h) among subjects with a UCa/Cr  $\geq 0.21$ (mg/mg) ranged between 17 and 38%.

The ROC curves (Fig. 3) comparing 24hUCa with each UCa/Cr spot sample revealed an AUC for the evening, first morning and second morning spot samples of 0.90, 0.82 and 0.75, respectively. The AUC appeared to indicate a strong

discrimination power for evening and first morning samples and a lower discriminatory power for the second morning sample.

Using the Ghazali equation, 24hUCa was calculated from the UCa/Cr on spot samples and compared with the measured 24hUCa. Mean measured 24hUCa and calculated 24hUCa (Table 4) were very close for evening and first morning spot samples. Scatterplots showing the relation between the measured 24hUCa and calculated excretion using the Ghazali equation for each spot sample are shown in Supplementary Fig. 1. Because of the linearity of Ghazali's equation, these plots are completely superimposable to those shown in Fig. 2; only the values of the Y-axis changed. Again, the scatterplots with the evening and second morning spots tended to be more dispersed.

### **E. Discussion**

In a convenience sample of healthy children, the correlation between UCa/Cr in spot samples and 24hUCa was relatively strong for evening and first morning spot samples. There was no substantial difference in performance between these two spots, suggesting that both could be used in clinical practice. To the best of our knowledge, our study is the first to evaluate the correlation between UCa/Cr on three timed seriate spot samples and concomitant 24hUCa in children. Previous studies in healthy children measured mean 24hUCa between 2.05 and 2.38 mg/kg/24h[9, 20, 21], what is close to our mean 24hUCa of 2.0 mg/kg/24h.



In our study, UCa/Cr measurement on 24-h urine collection was 0.10 (mg/mg), which was very close to UCa/Cr measurement on urine spot samples, that is, between 0.09 and 0.11 (mg/mg). Previous studies found values between 0.11 and 0.13 (mg/mg) for children over 6 years old[17, 21]. In our study, hypercalciuria (24hUCa >4 mg/kg/24h) was found in 8.2%, what is closed to previous reports finding a proportion ranging between 8.6 and 12.7%[9, 20, 21].

Former studies assessing the correlation between 24hCa and UCa/Cr provided equivocal conclusions. In a review, Butani and Kalia concluded that although 24-h urine collections were ideal to quantify urinary calcium excretion, UCa/Cr was easier to obtain and correlated well with the 24-h data and could be used for clinical purposes[7]. However, Butani cited only one study[9] that evaluated the correlation between 24hUCa and UCa/Cr over a range of calcium excretion. This study by Ghazali was conducted among 48 subjects, of which 18 were hospitalized for elective minor surgery. The correlation between 24hUCa and UCa/Cr in the second morning urine was analyzed by scatterplot and through a specifically developed equation and was considered to be strong ( $r = 0.88$ ), without finding any sex or age variations. In 1995, Reusz reported a strong correlation between 24hUCa and UCa/Cr in the first urine sample of the morning in a subgroup of 94 healthy children ( $r=0.84$ )[17]. Similarly, in our study, the Pearson correlation coefficient between 24hUCa and UCa/Cr was strong to moderate ( $r$  between 0.52 and 0.71) in the three spot urine samples. In contrast, Alconcher found a relatively low correlation between 24hUCa and UCa/Cr in the

first urine sample of the morning among 220 school-age children ( $r^2 = 0.18$ )[21]. In a screening setting, Koyun collected second morning urine samples in 2134 children between 7 and 14 years. For the 269 children presenting an  $UCa/Cr \geq 0.21$ , a 24hUCA was secondarily performed. In these children, the correlation between  $UCa/Cr$  and non-concomitant 24hUCA was found to be weak ( $r = 0.27$ )[10]. In 2013, Choi collected a 24-h urine sample and first morning urine among 264 children known to have primary hematuria. Although a moderately strong correlation between  $UCa/Cr$  and 24hUCA was found ( $r = 0.58$ ) with an AUC of 0.78, Choi concluded that  $UCa/Cr$  is not suitable for screening in children with hematuria [11]. However, these studies were heterogeneous, particularly with regard to patient characteristics and the methods used.

In our study, we observed a relatively strong correlation between  $UCa/Cr$  on spot urine samples and 24hUCA following evaluation of the scatterplots, PPV and NPV, Pearson correlations, and AUC. Our results reinforce the use of  $UCa/Cr$  on spot urine samples to evaluate calciuria in children. The NPV of the test was high, thus also reinforcing the potential utility of  $UCa/Cr$  as a screening tool, a simple tool to rule out positive cases. The PPV of  $UCa/Cr$  was however low suggesting that 24hUCA is necessary for a diagnosis of hypercalciuria. Of note, PPV was directly influenced by the arbitrary choice of the fairly low threshold of 0.21 (mg/mg) used to define elevated  $UCa/Cr$ . Previous studies were heterogeneous with regard to the timing of spot urine samples and assessed only the first or second morning urine samples. On the one hand, and consistent with our findings,

Reusz et al and Ghazali et al found a relatively strong correlation between UCa/Cr on spot urine sample and 24hUCa in healthy children[9, 17]. They used the first and second morning urine samples, respectively. On the other hand, Alconcher et al, found a relatively low correlation with UCa/Cr of the first morning urine sample [21]. Koyun et al also found a low correlation, but the 24-h urine collection was not concomitantly with the spot urine samples [10]. Choi et al recruited only hematuric children which makes the comparison with our study difficult [11].

To our knowledge, our study is the first to compare the value of UCa/Cr in spot urine sample collected at different times with 24-h urine collection in children. Our results show that Pearson correlation coefficients and AUC for first morning and evening spot samples performed better than estimates based on second morning spot samples. The overnight urine spot samples usually represent a longer period of collection than the other spot samples. Moreover, they are potentially less influenced by calcium enteral load compared with other spot samples. Our findings therefore suggest to assess UCa/Cr based on a first morning urine spot sample due to the ease of collection and good correlation with 24hUCa. Even more so that the accuracy of 24-h urine collection in children is questionable with only 22% of adequate collection in a recent study [8].

We found that the equation developed by Ghazali to calculate 24hUCa (mg/kg/24h) from UCa/Cr (mg/mg) provided an accurate estimation of 24hUCa. We did not find any study assessing the accuracy of the Ghazali equation or

having tried to determine a new equation for this purpose in children, despite the fact that calculating 24hUCa from UCa/Cr could allow a direct assessment of calciuria in mg/kg/24h. Further equations could be developed and validated in studies designed for this purpose as was done recently for sodium excretion[12]. The main strength of our study is that calcium excretion was measured using 24-h urine collection and three concomitant timed spot samples in each child. The completeness of the urine collection was assessed and those with an incomplete 24-h collection were excluded. In addition, we used several statistical tools and plots (PPV, NPV, scatterplots, Pearson correlation coefficients, and AUC) to evaluate the correlation between UCa/Cr on spot urine sample and 24hUCa and to assess their validity to estimate 24hUCa. We also compared three different timings of spot urine samples (evening, first morning, and second morning samples) to determine the most suitable timing to estimate 24-h urinary calcium excretion.

Our study has several limitations. First, it was not primarily designed to estimate calcium excretion in children, but sodium excretion, we do not however expect that this may strongly bias our results. Second, there are multiple extrinsic factors (e.g., diet, mineral content of the water supply, geographical location) that can potentially affect urinary calcium excretion. However, while these factors can affect mean UCa/Cr values and proportion with high values, we do not expect these factors to affect the magnitude of the correlation coefficients between spot and 24h calcium indicators. Third, although we were able to show that a spot

urine sample can estimate 24-h urinary calcium excretion quite reliably, more studies in different settings are needed to confirm the ability of UCa/Cr in spot samples to assess calciuria over time. Therefore, it may be useful to collect multiple 24-h urine collections and spot urine samples over several weeks. Fourth, the ethnicity of the children was not recorded, participant selection was based on a convenience sampling, in one region of Switzerland, and the study included a relatively small number of children, which is what limits the external validity of our findings. Larger study on a representative sample of children in other population is certainly needed. In addition, the aim of our study was to determine the correlation between 24hUCa and UCa/Cr on spot urine samples in a convenience sample of healthy children and very few participants had high calciuria levels. Further studies among children with high calciuria values are needed to inform about the value and usefulness of spot urine in this category of potentially sick children and to assess PPV, NPV, sensitivity and specificity. Since hypercalciuria is a major risk factor for nephrolithiasis, studies are also needed to assess the validity of UCa/Cr on spot urine samples in the evaluation of these patients.

## **F. Conclusion**

In a sample of healthy children, the correlation between UCa/Cr in spot samples and 24hUCa was relatively strong. The evening and first morning spot samples showed the highest correlation. In clinical practice, the first morning spot sample

might be preferred as it is both reliable to predict calciuria and convenient to collect. Our study was the first to evaluate the correlation between UCa/Cr on three spot urine samples collected at different times with 24hUCa in children. Further studies should assess this correlation among hypercalciuric children, especially among those with nephrolithiasis.

## G. References

1. Coward RJM, Peters CJ, Duffy PG, et al (2003) Epidemiology of paediatric renal stone disease in the UK. *Arch Dis Child* 88:962–965. <https://doi.org/10.1136/adc.88.11.962>
2. Dwyer ME, Krambeck AE, Bergstralh EJ, et al (2012) Temporal trends in incidence of kidney stones among children: a 25-year population based study. *J Urol* 188:247–252. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2012.03.021>
3. Issler N, Dufek S, Kleta R, et al (2017) Epidemiology of paediatric renal stone disease: a 22-year single centre experience in the UK. *BMC Nephrol* 18:136. <https://doi.org/10.1186/s12882-017-0505-x>
4. Langman CB, Moore ES (1984) Hypercalciuria in clinical pediatrics. A review. *Clin Pediatr (Phila)* 23:135–137. <https://doi.org/10.1177/000992288402300301>
5. Vijayakumar M, Nageswaran P, Tirukalathi OM, et al (2014) Descriptive study of clinical profile and benefit of therapy in childhood hypercalciuria. *Int J Nephrol Renov Dis* 7:69–73. <https://doi.org/10.2147/IJNRD.S53541>
6. Kliegman R, Behrman RE, Nelson WE (2016) *Nelson textbook of pediatrics*, Edition 20. Elsevier, Philadelphia, PA
7. Butani L, Kalia A (2004) Idiopathic hypercalciuria in children--how valid are the existing diagnostic criteria? *Pediatr Nephrol Berl Ger* 19:577–582. <https://doi.org/10.1007/s00467-004-1470-8>
8. Chan KH, Moser EA, Whittam BM, et al (2019) Initial collection of an inadequate 24-hour urine sample in children does not predict subsequent inadequate collections. *J Pediatr Urol* 15:74.e1-74.e7. <https://doi.org/10.1016/j.jpuro.2018.10.019>
9. Ghazali S, Barratt TM (1974) Urinary excretion of calcium and magnesium in children. *Arch Dis Child* 49:97–101. <https://doi.org/10.1136/adc.49.2.97>
10. Koyun M, Güven AG, Filiz S, et al (2007) Screening for hypercalciuria in schoolchildren: what should be the criteria for diagnosis? *Pediatr Nephrol Berl Ger* 22:1297–1301. <https://doi.org/10.1007/s00467-007-0528-9>
11. Choi IS, Jung ES, Choi YE, et al (2013) Random urinary calcium/creatinine ratio for screening hypercalciuria in children with hematuria. *Ann Lab Med* 33:401–405. <https://doi.org/10.3343/alm.2013.33.6.401>
12. Rios-Leyvraz M, Bovet P, Tabin R, et al (2018) Urine Spot Samples Can Be Used to Estimate 24-Hour Urinary Sodium Excretion in Children. *J Nutr* 148:1946–1953. <https://doi.org/10.1093/jn/nxy211>
13. Rios-Leyvraz M, Bovet P, Bochud M, et al (2018) Estimation of salt intake and excretion in children in one region of Switzerland: a cross-sectional study. *Eur J Nutr*. <https://doi.org/10.1007/s00394-018-1845-4>

14. Remer T, Neubert A, Maser-Gluth C (2002) Anthropometry-based reference values for 24-h urinary creatinine excretion during growth and their use in endocrine and nutritional research. *Am J Clin Nutr* 75:561–569. <https://doi.org/10.1093/ajcn/75.3.561>
15. Matos V, van Melle G, Boulat O, et al (1997) Urinary phosphate/creatinine, calcium/creatinine, and magnesium/creatinine ratios in a healthy pediatric population. *J Pediatr* 131:252–257. [https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(97\)70162-8](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(97)70162-8)
16. Sargent JD, Stukel TA, Kresel J, Klein RZ (1993) Normal values for random urinary calcium to creatinine ratios in infancy. *J Pediatr* 123:393–397. [https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(05\)81738-x](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(05)81738-x)
17. Reusz GS, Dobos M, Byrd D, et al (1995) Urinary calcium and oxalate excretion in children. *Pediatr Nephrol Berl Ger* 9:39–44
18. Kuczmarski RJ, Ogden CL, Guo SS, et al (2002) 2000 CDC Growth Charts for the United States: methods and development. *Vital Health Stat* 11 1–190
19. Cook NR (2007) Use and misuse of the receiver operating characteristic curve in risk prediction. *Circulation* 115:928–935. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.672402>
20. De Santo NG, Di Iorio B, Capasso G, et al (1992) Population based data on urinary excretion of calcium, magnesium, oxalate, phosphate and uric acid in children from Cimitile (southern Italy). *Pediatr Nephrol Berl Ger* 6:149–157
21. Alconcher LF, Castro C, Quintana D, et al (1997) Urinary calcium excretion in healthy school children. *Pediatr Nephrol Berl Ger* 11:186–188



## **H. Tables and figures**

**Table 1. Characteristics of children included in the analysis**

<b>Variable</b>	<b>Mean or n</b>	<b>Standard deviation or %</b>	<b>min</b>	<b>max</b>
N <sup>1</sup>	85			
Age (years)	10.4	2.6	6.0	16.3
Girls (%)	35.0	0.4		
Weight (kg)	34.8	12.0	17.4	72.0
Height (cm)	141.1	16.2	113.0	186.0
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	17.0	3.4	12.5	37.2
Overweight/obese (%) <sup>2</sup>	10	11.8%		

<sup>1</sup> 101 children recruited; 94 with urine collections and 86 with complete 24-h urine collection (according to total creatinine per bodyweight in 24-h urine); 85 without any medication affecting calcium excretion (1 child excluded with corticoid treatment) included in analyses.

<sup>2</sup> Overweight if body mass index z-score  $\geq 1$  according to CDC references.

**Table 2.** Calcium and creatinine urinary excretion (n=85)<sup>1</sup>

<b>Variable</b>	<b>Mean or n</b>	<b>Standard deviation or %</b>	<b>min</b>	<b>max</b>
<b>24-h urine collection</b>				
Calcium excretion (mg/24h)	65.6	41.5	3.8	178.0
Calcium excretion (mmol/24h)	1.6	1.0	0.1	4.4
Calcium excretion per bodyweight (mg/kg/24h)	2.0	1.3	0.1	7.2
Calcium excretion per bodyweight (mmol/kg/24h)	0.05	0.03	0.003	0.180
Creatinine excretion (mg/24h)	1.3	0.7	0.5	5.4
Creatinine excretion (mmol/24h)	0.011	0.006	0.004	0.047
Children with hypercalciuria <sup>2</sup>	7	8.2%		
Calcium: creatinine ratio (mg/mg)	0.10	0.06	0.01	0.31
Calcium: creatinine ratio (mmol/mmol)	0.30	0.18	0.03	0.88
<b>Evening spot urine sample</b>				
Calcium: creatinine ratio (mg/mg)	0.11	0.08	0.01	0.39
Calcium: creatinine ratio (mmol/mmol)	0.32	0.24	0.02	1.13
Children with hypercalciuria <sup>3</sup>	13	15.3%		
<b>First morning spot urine sample</b>				
Calcium:creatinine ratio (mg/mg)	0.10	0.07	0.00	0.25
Calcium:creatinine ratio (mmol/mmol)	0.30	0.19	0.01	0.73
Children with hypercalciuria <sup>3</sup>	9	10.6%		
<b>Second morning spot urine sample</b>				
Calcium: creatinine ratio (mg/mg)	0.09	0.07	0.00	0.34
Calcium: creatinine ratio (mmol/mmol)	0.25	0.19	0.01	0.97
Children with hypercalciuria <sup>3</sup>	6	7.1%		

<sup>1</sup> Samples with calcium concentration below detection limit (i.e. 0.2 mmol/L) attributed value of 0.1 mmol/L

<sup>2</sup> Calcium excretion >4 mg/kg/24h (>1mmol/kg/24h)

<sup>3</sup> Calcium: creatinine ratio ≥0.21 mg/mg (≥0.6 mmol/mmol) for all ages.

**Table 3.** Comparison between calcium urinary excretion (mg/kg/24h) in 24-h (measured) and calcium:creatinine ratio in spot urine samples<sup>1</sup>

	<b>Mean</b> (mg/mg)	<b>SD</b>	<b>Correlation r</b> <b>(95% CI)</b>	<b>Positive predictive</b> <b>value (%)</b> <sup>2</sup>	<b>Negative predictive</b> <b>value (%)</b> <sup>3</sup>
Evening spot	0.11	0.08	0.64 (0.49, 0.75)	38%	97%
First morning spot	0.10	0.07	0.71 (0.59, 0.80)	22%	93%
Second morning spot	0.09	0.07	0.52 (0.34, 0.66)	17%	92%

<sup>1</sup> Calcium:creatinine ratio 1 mg/mg = 2.86 mmol/mmol.

<sup>2</sup> Positive predictive value = proportion of children with 24-h calcium excretion >4 mg/kg/24h among children with calcium:creatinine ratio ≥0.21 mg/mg.

<sup>3</sup> Negative predictive value = proportion of children with 24-h calcium excretion ≤4 mg/kg/24h among children with calcium:creatinine ratio <0.21 mg/mg.

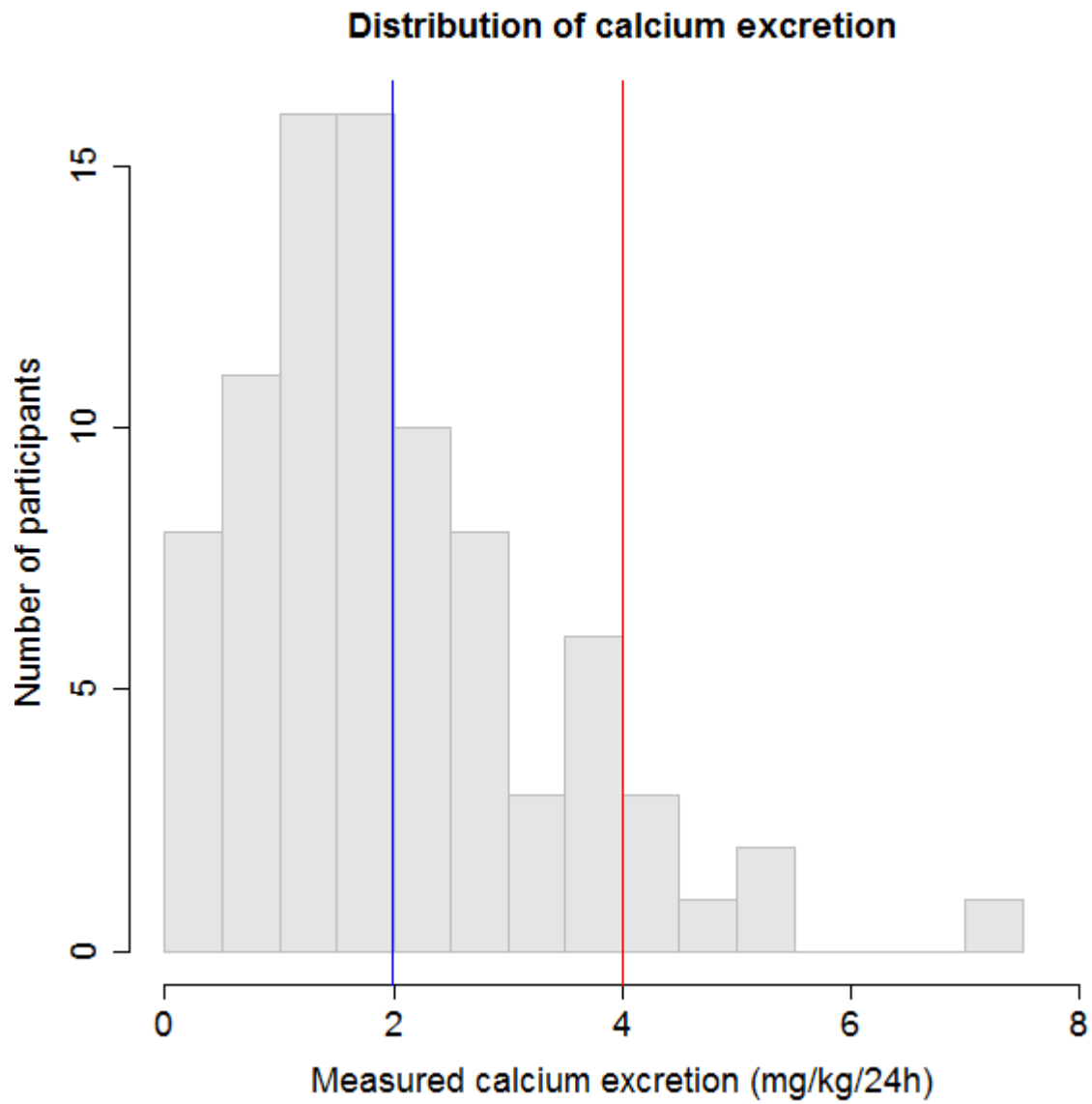
**Table 4.** Comparison of calcium urinary excretion measured in 24-h urine collection and calculated from spot urine samples using the Ghazali equation<sup>1,2</sup>. SD: standard deviation.

	Mean (SD)	Difference with measured 24-h (SD)
24-h measured (mg/kg/24h)	2.0 (1.3)	NA
Estimates based on Evening spot (mg/kg/24h)	2.0 (1.6)	0.02 (1.3)
Estimates based on first morning spot (mg/kg/24h)	1.9 (1.3)	-0.1 (1.0)
Estimates based on second morning spot (mg/kg/24h)	1.6 (1.3)	-0.4 (1.3)

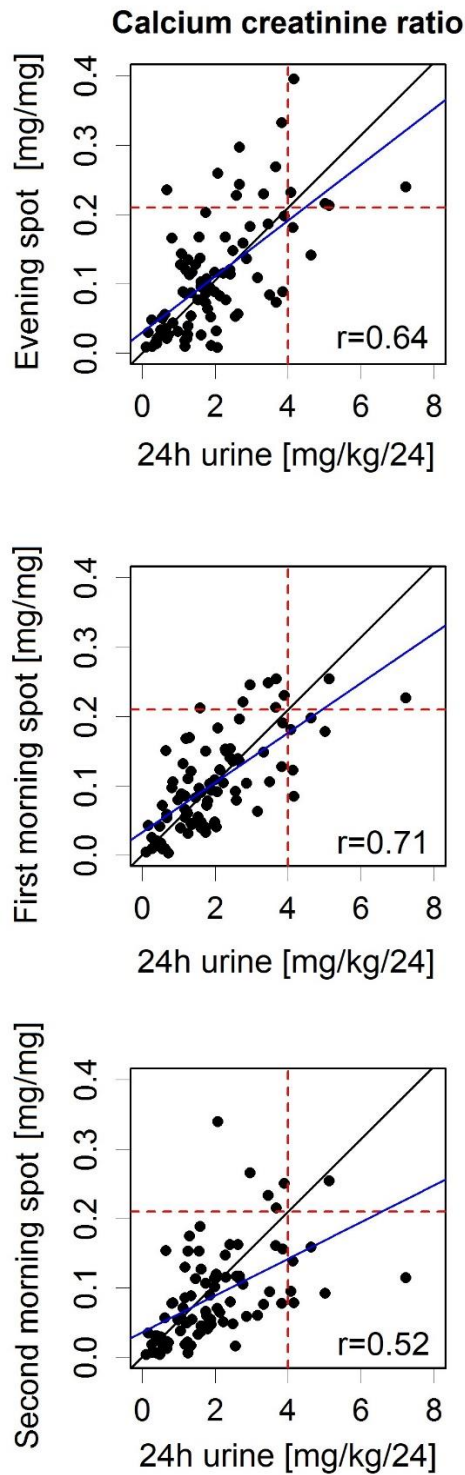
<sup>1</sup> calcium excretion 1 mg = 0.25 mmol

<sup>2</sup> 24-h urine calcium (mg/kg/24h) = 19.4 x calcium/creatinine (mg/mg) – 0.17.

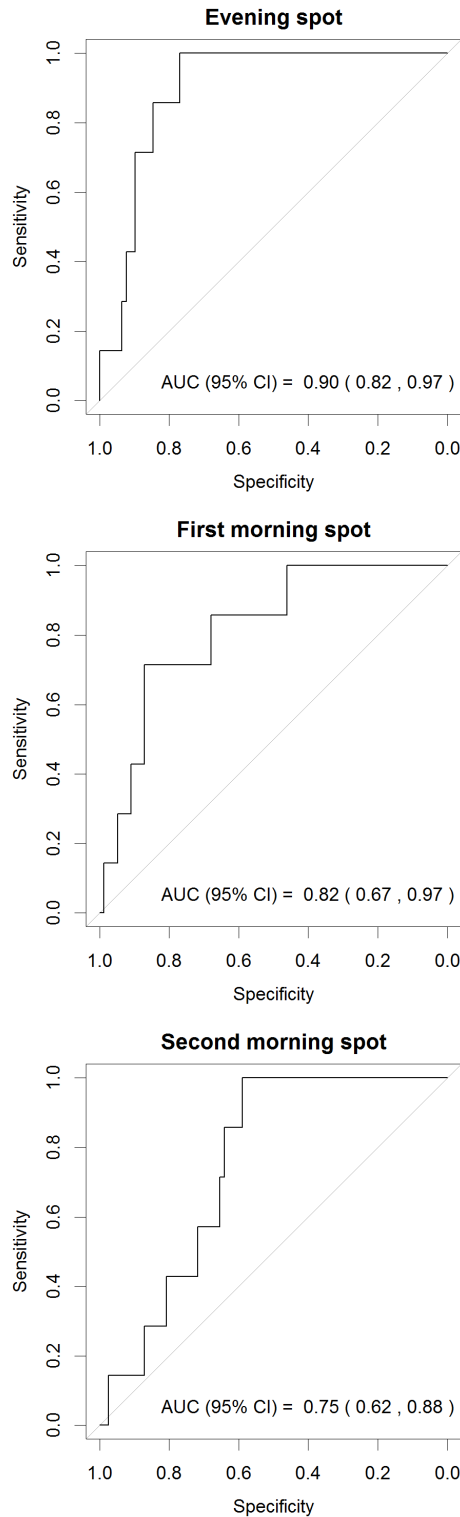
**Fig. 1** Histogram of calcium excretion per bodyweight. Blue line: mean excretion. Red line: calcium excretion  $>4$  mg/kg/24h ( $>1$  mmol/kg/24h), considered as highs.



**Fig. 2** Scatterplots for 24-h calcium excretion versus calcium:creatinine ratio in spot urine samples. Black continuous line: identity line, i.e. perfect correlation; Blue line: linear regression; Red vertical line: calcium excretion  $>4$  mg/kg/24h ( $>1$  mmol/kg/24h) is considered high; Red horizontal line: calcium:creatinine ratio  $\geq 0.21$  mg/mg ( $\geq 0.6$  mmol/mmol) is considered high.



**Fig. 3** ROC (receiver operating characteristic) curves for 24-h calcium excretion (mg/kg/24h) versus calcium:creatinine ratio in spot urine samples (mg/mg); ability of UCa/Cr to discriminate between children with and without hypercalciuria; area under the ROC curve (AUC) statistic represents the probability of correctly classifying children with and without hypercalciuria (>4mg/kg/24h).





**Supplementary Fig. 1** Scatterplots for calcium excretion in 24-h urine measured and spot urine samples estimated with Ghazali equation. Black continuous line: identity line, i.e. perfect correlation; Blue line: linear regression; Red lines: Calcium excretion  $>4$  mg/kg/24h ( $>1$ mmol/kg/24h) is considered as high

