

Il était une fois en néphrologie

Épisode 2. Une petite histoire du dosage de la créatinine

Once upon a time in nephrology Episode 2: A brief history of creatinine measurement

Pierre Delanaye^{1,2}, Jean-François
Focant³, Christophe Mariat⁴,
Joris Delanghe⁵, Étienne Cavalier⁶

¹ Université de Liège, CHU de Liège,
département de néphrologie, dialyse
et transplantation, Liège, Belgique

² Université de Montpellier,
Hôpital universitaire Carémieu,
néphrologie, dialyse, apherèse, Nîmes, France

³ Université de Liège,
Chimie analytique organique et biologique,
Liège, Belgique

⁴ Hôpital Nord, CHU de Saint-Étienne,
service de néphrologie, dialyse
et transplantation rénale, Saint-Étienne, France

⁵ Université de Gand, département
des sciences diagnostiques, Gand, Belgique

⁶ Université de Liège, CHU de Liège,
département de chimie clinique, Liège, Belgique

Correspondance : P. Delanaye
pdelanaye@chuliege.be

En 1925, dans *The Boston Medical and Surgical Journal*, ancêtre du *New England Journal of Medicine*, paraît le compte rendu de la réunion clinique du 10 octobre du *Boston City Hospital* consacré à ce qui n'est pas encore la néphrologie. La première partie de la discussion fait le point sur les connaissances physiologiques de l'époque [1]. À ce moment, la polémique sur le rôle uniquement « sécrétoire » ou « filtrant » du rein prenait tout doucement fin avec une meilleure approche des rôles respectifs du glomérule et des tubules [2-4]. La deuxième partie de l'article est consacrée au diagnostic différentiel des néphrites aiguës ou chroniques [5]. Si la chimie clinique pointe le bout de son nez dans l'aide au diagnostic, la créatinine est à peine évoquée car, en effet, c'est l'urée (ou plus exactement l'azote uréique, le fameux BUN pour « *Blood Urea Nitrogen* » des Anglo-Saxons) qui est alors privilégiée. La dernière partie de l'article, rédigée par Henry Jackson Jr est déjà entièrement consacrée au rôle de la chimie clinique dans la néphrite chronique. Certaines affirmations, bien qu'un peu naïves à nos yeux, n'en demeurent pas moins fondamentales : « *Des analyses chimiques correctes nécessitent un bon laboratoire et une bonne personne dans ce laboratoire* », ou encore « *le clinicien qui demande des analyses doit être familier avec les valeurs normales et doit être disposé et capable de tirer ses propres conclusions des résultats qui lui sont rendus* ». L'auteur met l'accent sur trois types de dosages alors disponibles face à une néphrite : le dosage des protéines dans le sang et les urines, le dosage de l'urée (dont le dosage « en routine » est recommandé par l'auteur), et le dosage de l'acide urique. La créatinine n'est renseignée que comme un marqueur de pronostic. Jackson présente le dosage comme « *remarquablement constant* » chez le sujet sain. S'il considère, de fait, qu'un dosage élevé de créatinine (plus de 5 mg/100 mL, soit 5 mg/dL ou 442 µmol/L !) est bel et bien associé à un mauvais pronostic, il ajoute « *on ne peut rien en dire de plus* » [6]. En un peu moins d'un siècle, la mesure de la créatinine plasmatique pour l'estimation de la fonction rénale va pourtant devenir l'une des analyses les plus prescrites en chimie clinique [7, 8]. Comment en est-on arrivé là (figure 1) ?

Justus Liebig et Max Jaffe : au départ était la chimie

Justus Liebig (né à Darmstadt en 1803 et décédé à Munich en 1873) est sans aucun doute l'un des chimistes les plus prolifiques et les plus renommés du XIX^e siècle. S'il reste connu de tout un chacun par son invention du « Bouillon

Pour citer cet article : Delanaye P, Focant J-F, Mariat C, Delanghe J, Cavalier E. Il était une fois en néphrologie. Épisode 2. Une petite histoire du dosage de la créatinine. *Nephrol Ther* 2025 ; 21(4) : 1-9. doi: 10.1684/ndt.2025.139

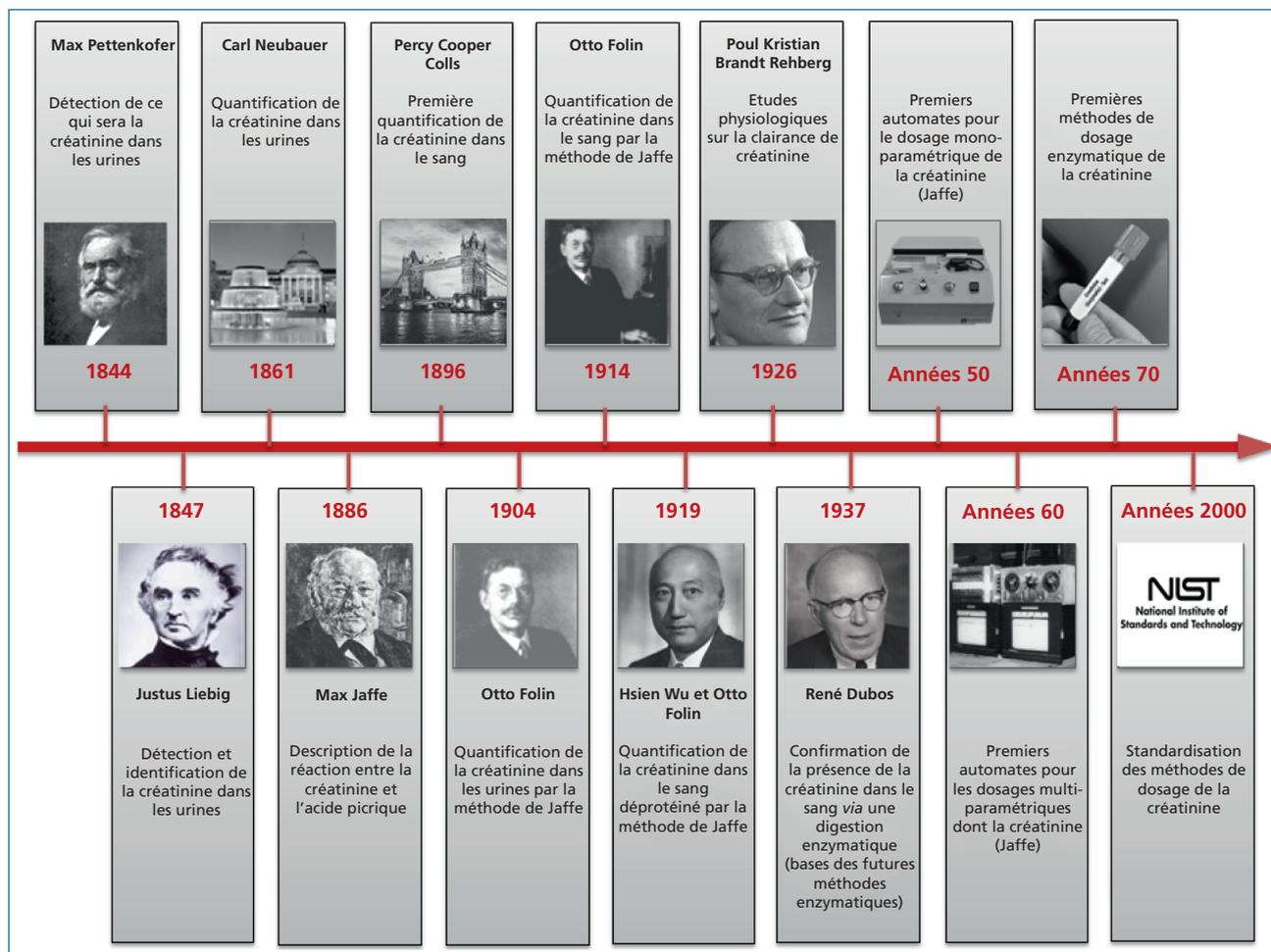


Figure 1 • Une ligne du temps illustrant les premiers pas vers une mesure de la créatinine urinaire et sérique.

Cube », les contributions de Liebig à la chimie organique et à l'agronomie restent fondamentales [9]. En 1847, il publie un article, bien entendu en allemand, que nous pouvons traduire par « Créatine et créatinine, composants de l'urine humaine » [10]. Liebig reprend les travaux publiés trois ans plus tôt par son élève Max Pettenkofer, futur éminent hygiéniste (connu notamment pour avoir ingurgité un bouillon de vibrions cholériques... et y avoir survécu [11]) [12]. Liebig croit pouvoir distinguer dans les urines la présence de créatine (découverte en 1832 par Michel Chevreul dans la viande de bœuf [13, 14]) et de la créatinine en utilisant une réaction à base de chlorure de zinc. À cette époque, il n'a aucune idée de la signification physiologique de ladite créatinine [10]. La présence d'une quantité mesurable de créatine urinaire sera remise en cause par Wilhelm Heintz, de Halle, en 1849 [15] et Victor Dessaigues, avocat et médecin originaire de Vendômes, en 1854 [16]. En 1861, à Wiesbaden, Carl Neubauer s'intéresse également à la créatinine dans les urines et montre que sa concentration est loin d'être

négligeable et peut être quantifiée [17]. Il émet l'hypothèse que la créatine présente dans le muscle se transforme en créatinine dans le sang, créatinine qui serait alors excrétée dans les urines. Il reprend la réaction de Liebig à base de chlorure de zinc qui fait précipiter la créatinine en cristaux, que l'on pèse ensuite pour en déduire la concentration [8, 17]. Pour cela, il utilise les milliers de litres d'urine disponible d'une caserne avoisinante pour affiner un dosage quantitatif de la créatinine. Sa mesure reste cependant peu sensible, imprécise et surtout laborieuse [17]. Une description complète, en français, de cette technique fastidieuse est retrouvée dans la thèse défendue par Paul Yvon en 1875 pour devenir, à Paris, « pharmacien de première classe » [18], puis dans un *Manuel clinique de l'analyse des urines* publiés en 1893 [19]. En 1878, Theodor Weyl, chimiste berlinois, décrit la réaction entre la créatinine urinaire, le nitroprussiate de soude et la soude caustique (hydroxyde de sodium) ajoutée goutte à goutte, qui donne à l'urine une couleur rouge rubis évoluant rapidement vers le

jaune paille. Cette réaction, beaucoup plus simple que celle décrite par Neubauer, portera le nom de Weyl et sera aussi utilisée quelques années pour quantifier la créatinine. Pour l'auteur, la réaction est très sensible et spécifique [20]. La spécificité de la réaction de Weyl sera cependant rapidement mise en cause [21].

Max Jaffe (pour la petite histoire, Jaffe s'écrit sans accent) est né en 1841 à Grünberg en Silésie (actuelle Pologne) dans une modeste famille juive. Interniste, il sera nommé Professeur de pharmacologie à Königsberg (actuelle Kaliningrad en Russie) et décédera à Berlin en 1911. Il est aussi reconnu pour ses travaux sur la bile (il a découvert l'urobilin et l'urobilinogène) [8, 22, 23]. En 1886, il publie un article dont nous pouvons traduire le titre comme suit : « À propos des précipitations produites par l'acide picrique dans l'urine normale et à propos d'une nouvelle réaction avec la créatinine » [24]. Jaffe, comme il l'indique lui-même au début de son article, n'est pas le premier à s'intéresser à la réaction entre l'urine et l'acide picrique. Parmi d'autres, Henri-Étienne Beaunis, physiologiste et psychologue à la faculté de Strasbourg, puis de Nancy (après 1870), décrit que l'acide picrique réagit avec l'urine et « en précipite des cristaux d'acide urique » [25]. Jaffe décrit dans la première partie de son article le composé qui réagit avec l'acide picrique dans les urines (et qui n'est donc pas l'acide urique). Il écrit : « Ces recherches ont montré que la substance précipitée par l'acide picrique à partir de l'urine humaine et cristallisant en cristaux aciculaires (en forme d'aiguille), est dérivée d'un double sel de créatinine picrique et de potassium picrique ». Dans la seconde partie de son article intitulé « Une nouvelle réaction avec la créatinine », il décrit comment ladite réaction pourrait conduire à la quantification de la créatinine dans les urines (ce que, *sensu stricto*, il ne fait pas lui-même [8]) : « Si une solution de créatinine est mélangée avec un peu de solution aqueuse d'acide picrique et quelques gouttes de potassium dilué et de soude caustique, elle devient immédiatement intensément rouge, même par temps froid. L'intensité de la couleur, qui varie de l'orange rougeâtre au rouge sang foncé selon les concentrations de la solution, augmente considérablement en quelques minutes et reste inchangée pendant des heures. Ce n'est que si un excès de solution alcaline a été appliqué que la solution, en particulier lorsqu'elle est exposée à la lumière, devient jaune après un certain temps. » Pour Jaffe, la réaction avec l'acide picrique est spécifique à la créatinine, car une telle réaction n'est pas obtenue avec l'urée, l'acide urique et le glucose (pour ce dernier, une réaction similaire est observée mais seulement à température d'ébullition). Jaffe émet tout de même un doute pour ce qui est de l'acétone. L'auteur conclut son article : « Dans l'urine des humains, des chiens et des lapins, la

présence de créatinine peut être facilement détectée par la nouvelle réaction, ainsi que par celle de Weyl » [24]. Le premier dosage de la créatinine dans le sang remonterait, selon nos recherches, à 1896. Percy Cooper Colls, qui travaille dans le laboratoire de physiologie du King's College à Londres, publie une note dans le *Journal of Physiology* [26]. Pour mesurer la créatinine, il utilise une méthode complexe, utilisée pour le dosage urinaire et décrite en 1888 par Sir George Johnson (médecin de Sa Majesté) et basée sur la précipitation en cristaux sphériques de la créatinine par une solution de chlorure de mercure (pour la petite histoire, bien que publié dans un journal en anglais, Johnson utilise le terme « *Kreatinin* »). Les cristaux sont ensuite pesés et la concentration de créatinine en est déduite [27]. La mesure dans le sang par Colls est réalisée en utilisant 2 litres de sang défibriné de mouton ! De manière intéressante, Colls utilise les réactions de Weyl et de Jaffe pour prouver que ces cristaux sont bien composés de créatinine (ces réactions ne sont donc pas utilisées pour quantifier la concentration de créatinine). La conclusion de Colls est sans équivoque « *De ce travail, je tire la conclusion générale que le sang contient une faible mais pondérable quantité de créatinine* » [26]. Il faudra cependant encore attendre quelques années avant qu'une méthode plus accessible soit développée pour prétendre à un dosage sanguin quantitatif qui nécessite une quantité moindre de sang prélevé...

Otto Folin : le père de la chimie clinique

Otto Knut Olof Folin (né à Asheda, Suède en 1867 et décédé à Boston en 1934) est un des nombreux Suédois ayant effectué le voyage vers les États-Unis au XIX^e siècle. Son parcours est pourtant assez original puisqu'après avoir débuté son travail de thèse en chimie organique à l'université de Chicago, il retournera dans son pays natal à l'université d'Uppsala. Il s'intéresse d'emblée à la chimie clinique. Otto Folin parle d'ailleurs à l'époque de « *chimie physiologique* », tant il est vrai qu'il s'agit autant d'analyser ce qu'on retrouve dans le sang ou les urines que de comprendre la signification physiologique des résultats mesurés. Après un passage à la Charité de Berlin où il sera initié à l'étude du métabolisme et catabolisme des protéines (il s'intéresse à la détermination de l'acide urique), il passera quelque temps à Marburg où il découvre la colorimétrie alors utilisée dans l'industrie brassicole. Son intérêt pour la colorimétrie (voir ci-après) sera une étape majeure de son parcours de chimiste. En 1898, Folin retourne définitivement travailler aux États-Unis. Après des passages dans différents établissements où il poursuivra ses études sur le catabolisme des protéines (mesure et étude de la créatinine, de la créatine, de l'urée, de l'acide urique et de l'ammoniaque), il sera finalement nommé Professeur

de biochimie à Harvard en 1907. Entre-temps, la chimie clinique est devenue une vraie discipline médicale, dont Otto Folin aura été un des pères fondateurs [8, 28-32].

En 1904, Folin publie son premier article sur la quantification de la créatinine urinaire en langue allemande. Il y décrit la méthode de dosage de la créatinine obtenue et validée sur 150 échantillons d'urine. Il se base sur la réaction décrite par Jaffe. Il en confirme tout d'abord la spécificité, même s'il décrit des réactions croisées possibles avec l'acétone (ce que Jaffe suspectait déjà) et avec l'acide acétoacétique [33]. La quantification de la créatinine est ensuite réalisée grâce au colorimètre inventé par l'ingénieur parisien Jules Dubosq en 1854 (figure 2). L'utilisation de cet appareil représente une étape majeure dans la carrière d'Otto Folin et dans le développement et la simplification de la chimie clinique en général. Le colorimètre apparaît d'ailleurs, en toile de fond, sur le portrait officiel d'Otto Folin à Harvard (figure 1) [28]. Ce colorimètre est un instrument de mesure basé sur la comparaison visuelle de l'intensité de couleur entre une solution étalon et une solution à analyser. Son fonctionnement repose sur le principe de la loi de Beer-Lambert, selon laquelle l'absorbance d'une solution est proportionnelle à la concentration de l'espèce colorée et à la longueur du trajet parcouru par la lumière dans la solution. Il fonctionne selon une méthode de comparaison visuelle entre une solution étalon de concentration connue et une

solution à analyser. L'instrument est composé de deux cuves cylindriques coulissantes, contenant respectivement l'échantillon et la solution étalon, et placées dans un trajet optique commun. Dans le cas de la mesure de la créatinine par la réaction de Jaffe, on commence par préparer une solution étalon contenant une concentration connue de créatinine, obtenue par pesée, à laquelle on applique la réaction de Jaffe. Cette réaction produit un complexe coloré dont l'intensité dépend de la concentration de créatinine. L'étalon est placé dans une cuve du colorimètre à une hauteur fixe. Simultanément, la même réaction de Jaffe est appliquée à l'échantillon de concentration inconnue, qui est placé dans la seconde cuve du colorimètre. En tournant la molette du colorimètre, on ajuste la hauteur de la colonne de solution dans la cuve contenant l'échantillon jusqu'à ce que l'intensité de couleur perçue soit identique à celle de l'étalon. La concentration de l'échantillon est ensuite déterminée par la relation suivante :

$$C(\text{échantillon}) = \frac{h(\text{étalon}) \times C(\text{étalon})}{h(\text{échantillon})}$$

où : $h(\text{étalon})$ est la hauteur de la colonne de l'étalon, $C(\text{étalon})$ est la concentration connue de l'étalon, $h(\text{échantillon})$ est la hauteur ajustée de l'échantillon et $C(\text{échantillon})$ la concentration inconnue de l'échantillon.



Figure 2 • Colorimètre de Dubosq (collection privée du Professeur Étienne Cavalier).

Folin s'assure de la stabilité de la réaction (il confirme une stabilité de la réaction colorimétrique d'au moins une demi-heure), puis de sa linéarité (pas d'impact de différentes dilutions) [33]. La méthode originale de Folin permettait un dosage de créatinine urinaire en 10 à 15 minutes et ne nécessitait que 10 à 20 mL d'urines [33, 34]. Dans ses premières expériences, l'étalon utilisé par Folin pour la mesure colorimétrique était du dichromate de potassium (aujourd'hui utilisé dans les éthylo-tests), qui a une couleur orangée. En effet, la créatinine avait déjà été synthétisée en 1885 par Jan Horbaczewski (chimiste d'origine ukrainienne, ayant travaillé dans les universités de Vienne et de Prague) [8, 35] mais restait trop coûteuse à l'emploi. En 1914, travaillant alors à Harvard et la synthèse de créatinine s'étant simplifiée, Folin propose d'utiliser de la créatinine directement comme étalon, ce qui permet d'améliorer la sensibilité et la précision de la mesure [36]. Dans le même volume, Folin décrit également ses premières tentatives de dosages de la créatinine dans le sang, mesure rendue possible par l'utilisation du standard de créatinine dans le colorimètre [37]. Il mesure la créatinine sanguine chez plus de 200 malades hospitalisés, notamment des patients avec des « *néphrites* » et des patients « *urémiques* ». Même s'il décrit une concentration élevée de créatinine chez les patients « *extrêmes* » en « *anurie* », Folin interprète la stabilité des valeurs de créatinine chez la plupart des patients comme une indication que « *les reins excrètent la créatinine du sang avec une facilité et une certitude remarquables* » [38]. En 1919, Folin publie en tant que premier auteur, les résultats du travail de thèse de son jeune associé chinois Hsien Wu qui était arrivé aux États-Unis en 1911 dans le cadre d'un programme éducatif proposé par Théodor Roosevelt afin d'améliorer les relations sino-américaines après la révolte des Boxers [39]. Cet article fera date dans l'histoire de la chimie clinique [40]. Il y est décrit l'intérêt d'utiliser du sang déprotéiné (avec de l'acide tungstique) pour mesurer, entre autres paramètres, la créatinine avec un volume de sang de 10 mL. Après avoir montré l'intérêt du colorimètre, l'utilisation du sang déprotéiné permettant des mesures plus précises sur une quantité moindre de sang prélevé est l'autre apport fondamental de Folin à la biologie clinique. Ces méthodes seront d'ailleurs utilisées jusque dans les années 50 et le début de l'automatisation des dosages [32, 40].

La polémique : la créatinine est-elle présente dans le sang ?

Parallèlement aux progrès dans le dosage de la créatinine en biochimie, des progrès sont également réalisés en physiologie dans les deux premières décades du XX^e siècle. Ainsi, l'excrétion urinaire de créatinine

commence à être décrite comme constante chez un même individu (indépendamment du volume urinaire) et un parallèle est établi entre la quantité de créatinine excrétée et la masse musculaire ; il est progressivement démontré que la créatinine est le catabolite de la créatinine musculaire [41-47]. Concomitamment, est progressivement évoquée l'idée que les symptômes de l'urémie pourraient être liés à l'accumulation dans le sang de toxines urémiques comme l'urée, l'acide urique, ou la créatinine [48-50]. Le rôle que la mesure de la créatinine pourrait jouer en clinique reste encore assez vague à cette époque et elle est finalement assez peu étudiée. Ce peu d'intérêt relatif est illustré par les différentes orthographes utilisées dans la littérature anglo-saxonne à cette époque (*kreatinin*, *creatinin* ou *creatinine*).

Au niveau analytique, différents auteurs démontrent que les résultats des mesures de créatinine varient en fonction des conditions de température, des concentrations et de la pureté des réactifs et des standards utilisés mais aussi en fonction du temps écoulé entre la réaction avec l'acide picrique et la lecture colorimétrique du résultat [51-55]. La spécificité du dosage est encore remise en cause dès le début du siècle, notamment vis-à-vis des protéines, de l'acétone et de l'acide acétoacétique. Présents dans les urines des patients diabétiques, ces deux derniers composés réagissent avec l'acide picrique, ce qui diminue « faussement » la concentration de créatinine [51, 53, 54, 56, 57]. La créatinine sanguine n'est pas encore du tout utilisée dans un but diagnostique car son dosage reste délicat [49, 57-63] avec des concentrations (exprimées alors en mg par 100 cc de sang) qui sont, bien entendu, beaucoup plus faibles que dans les urines. Les concentrations retrouvées dans le sang des sujets normaux varient alors selon les auteurs de 0,1 [57, 58] à 2,0 mg [38, 45]. De nouveau, ces différences sont expliquées tant par des raisons techniques (temps de lecture, pureté et concentration des réactifs) que par des raisons de spécificité. Ainsi, plusieurs auteurs démontrent des réactions entre les composés de Jaffe et le glucose ou les protéines, ce qui aboutira, notamment, à la recommandation de ne pas mesurer la créatinine sur du sang complet mais bien du sang déprotéiné [49, 57, 60, 64, 65]. Dès 1916 et jusqu'au milieu des années 1930, une polémique, assez vive d'ailleurs, se développe car plusieurs auteurs remettent en cause la présence même de créatinine dans le sang, suggérant que ce qui est dosé est un groupe de « substances chromogènes » autres que la créatinine [59, 61, 66-70]. Sans rentrer dans les détails techniques de l'époque, plusieurs auteurs parviendront à réfuter les arguments de leurs collègues pour démontrer que la créatinine est bien présente dans le sang [71-75]. Cette polémique est finalement une excellente illustration de l'importance

de la sensibilité et de la spécificité pour le dosage de la créatinine sérique.

Le rôle de la créatinine dans l'évaluation de la fonction rénale débute réellement avec les publications fondamentales de Poul Kristian Brandt Rehberg (né à Middelfart en 1895 et décédé à Copenhague en 1989), physiologiste danois travaillant à l'université de Copenhague, qui fut, par ailleurs, un grand résistant, participant notamment au sauvetage des Juifs danois vers la Suède en 1943 (dans un autre registre, il a aussi participé activement, en 1970, à la fusion des brasseries Tuborg et Carlsberg... la physiologie mène à tout) [8]. En 1926, il publie sa thèse de doctorat sur la physiologie rénale en deux articles [2, 3]. Son idée est de démontrer le rôle de filtration du rein. Il utilise la créatinine comme marqueur et est le premier à suggérer que la créatinine est filtrée par les glomérules et concentrée dans les tubules, sans réabsorption ni sécrétion (plus tard, il sera démontré qu'il y a bien une sécrétion tubulaire de créatinine). Comme la créatinine sanguine est basse, Rehberg ingère de la créatinine (5 g) pour en augmenter la concentration sanguine (toutes les expériences de son doctorat sont en effet réalisées sur lui-même). La clairance de créatinine est ensuite calculée sur base de la créatinine mesurée dans le sang et les urines (selon la méthode de Folin). Dans les années 1930, trois pionniers de la physiologie rénale new-yorkais, James A. Shannon, Benjamin F. Miller et Homer W. Smith, s'inspirant des publications de Rehberg, travaillent sur la clairance de l'inuline et de la créatinine. Ces travaux fondamentaux représentent les premiers pas vers la reconnaissance de l'intérêt (mais aussi des limitations) de la créatinine sérique pour l'estimation du débit de filtration glomérulaire [76-80].

La mesure enzymatique de la créatinine : il faut parfois être patient

Toujours dans les années 1930, nous retrouvons Benjamin F. Miller qui travaille alors au *Rockefeller Institute for Medical Research* et collabore avec René Dubos. René Dubos est un médecin et agronome français, né à Saint-Brice-sous-Forêt au nord de Paris et qui sera naturalisé américain en 1938. C'est un bactériologiste très renommé, précurseur et visionnaire dans la recherche sur les antibiotiques [81]. Miller et Dubos vont publier en 1937 et 1938 trois articles sur la mesure de la créatinine sanguine [82-84]. À cette époque, la présence de créatinine dans le sang est encore débattue. L'idée de Dubos et Miller est de trouver des bactéries pouvant produire des enzymes capables de digérer la créatinine. Dans un de leurs premiers articles, les auteurs détaillent les quatre souches de bactéries produisant ce type d'enzyme.

À partir de ces souches, ils extraient deux préparations enzymatiques qui semblent digérer spécifiquement la créatinine et non les autres chromogènes connus et réagissant avec l'acide picrique [83]. Ensuite, les auteurs vont mesurer par méthode de Jaffe la créatinine dans le sang avant et après application de la solution enzymatique. Ils confirment ainsi que la majorité des chromogènes réagissant avec l'acide picrique est bien constituée de créatinine [82, 84]. Les expériences de Dubos et Miller prouvent d'une part, qu'il y a de la créatinine mesurable dans le sang et, d'autre part, que la spécificité de la réaction de Jaffe n'est pas de 100 %. Enfin, Dubos et Miller mettent au point, un peu sans le vouloir, le concept de mesure spécifique de la créatinine par une méthode enzymatique... qui ne sera développée puis utilisée en clinique qu'à partir des années 1980 [85-87]. Aujourd'hui, la supériorité analytique de la mesure enzymatique de la créatinine n'est plus à prouver, en termes de sensibilité et surtout de spécificité [88].

Évolution du dosage de la créatinine : de l'automatisation à la standardisation

L'automatisation a profondément transformé le dosage de la créatinine en optimisant la rapidité, la précision et la reproductibilité des analyses [89]. Dès les années 1960, le dosage de la créatinine par réaction de Jaffe, a été intégré aux auto-analyseurs en flux continu comme l'AutoAnalyzer développé par Technicon et qui sera utilisé de 1956 jusqu'aux années 1970 [90]. L'apparition des analyseurs à accès aléatoire comme le SMAC (*Sequential Multiple Analyzer with Computer*) en 1974 a permis de tester simultanément plusieurs analytes (dont la créatinine), améliorant encore le débit et la flexibilité des laboratoires [91-93]. Si les efforts portés par l'industrie sur l'automatisation étaient bien réels, il faut cependant constater que l'amélioration des réactifs passait au second plan. Un des soucis majeurs en chimie clinique réside dans le fait que très peu de dosages sont standardisés, malgré, parfois, la disponibilité de méthodes de référence internationalement reconnues. Le dosage de la créatinine n'est pas une exception mais le problème de la standardisation était d'autant plus important que la créatinine est utilisée dans des formules d'estimation du débit de filtration glomérulaire (DFG). En effet, la relation créatinine-DFG étant hyperbolique, dans les valeurs normales basses de créatinine, une petite variation de la concentration de créatinine, comme celle due à une différence de calibration, sera associée à une très grande variation de DFG [94, 95]. Il fallut attendre 2002 et un article de Joseph Coresh pour que la communauté médicale se rende compte de l'impact du manque de standardisation des dosages, notamment sur l'estimation du DFG [96]. Ceci était

d'autant plus regrettable que des méthodes utilisant la spectrométrie de masse considérées comme méthodes de référence étaient déjà disponibles depuis de nombreuses années [97-100]. Néanmoins, cette prise de conscience fut salutaire et la nécessité d'une harmonisation mondiale a conduit à des initiatives telles que celles menées par le *National Kidney Disease Education Program* (NKDEP), qui a souligné l'importance de l'alignement des dosages de créatinine sur les valeurs de méthodes de référence utilisant la dilution isotopique (IDMS) pour améliorer l'estimation du DFG [101]. Depuis 2012, toutes les méthodes de dosage de la créatinine (Jaffe ou enzymatiques) sont censées être traçables au matériel de référence 967a fourni par le *National Institute of Standards & Technology* (NIST), disponible depuis 2007, qui est constitué de deux étalons dont la concentration a été déterminée par la méthode de référence développée par le NIST [102]. Toutes les équations aujourd'hui validées par les recommandations internationales ont été développées pour être utilisées avec des dosages standardisés de créatinine [94, 103]. Tous les dosages enzymatiques de créatinine peuvent être considérés comme alignés sur l'IDMS à notre époque et donc standardisés [102], mais des doutes persistent pour ce qui est de certains dosages basés sur la méthode de Jaffe [104].

Que retenir de cette histoire en 2025 ?

La réaction dite de Jaffe est, aujourd'hui encore, la plus largement utilisée dans le monde médical pour mesurer la créatinine sanguine [105, 106]. La réaction entre la créatinine et l'acide picrique n'est cependant pas spécifique, comme l'illustre très bien le fait que, au début de l'histoire, la présence même de créatinine dans le sang ait été remise en question. La réaction de Jaffe a été étudiée dans les moindres détails. Comme nous l'avons vu, plusieurs auteurs, déjà dans les années 1920 et 1930, décrivaient l'influence du temps écoulé entre la réaction et la mesure colorimétrique. En effet, il est apparu plus tard que certains chromogènes réagissaient soit plus tôt soit plus tard avec l'acide picrique par rapport à la créatinine. Dès lors, si le temps de lecture était réalisé après un temps précis (variant selon les auteurs et les automates), on diminuait l'interaction avec les autres chromogènes. Cette observation a abouti au développement de ce qu'on appelle les méthodes de Jaffe « cinétiques » [107, 108].

Les méthodes enzymatiques sont plus spécifiques et la meilleure illustration réside dans le fait que, historiquement, ce sont ces réactions enzymatiques qui ont permis de trancher définitivement en faveur de la présence de créatinine dans le sang. Si les méthodes enzymatiques sont les plus utilisées en France, les disparités en Europe

sont encore très importantes (le problème étant principalement économique) [105].

L'histoire des sciences nous rappelle que chaque avancée repose sur le travail acharné de chercheurs qui ont souvent dû confronter leurs idées, débattre et parfois affronter le scepticisme de leurs pairs. Les méthodes de dosage de la créatinine ne font pas exception : elles sont le fruit d'un long processus d'expérimentation, d'erreurs, de controverses et d'améliorations successives. Aujourd'hui, alors que la science continue d'évoluer dans un monde où l'information est instantanée et souvent perçue comme une vérité absolue, il est essentiel de préserver l'esprit critique qui a toujours animé la démarche scientifique. Les faits doivent l'emporter sur les croyances, et le dernier mot doit toujours revenir à la rigueur expérimentale et à la validation par les pairs, garantissant ainsi que la vérité scientifique n'est jamais dictée, mais toujours démontrée.

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

- 1 • Wearn JT. Physiology of the kidney. *Bost Med Surg J* 1925 ; 192 : 43-4.
- 2 • Rehberg PB. Studies on kidney function: the rate of filtration and reabsorption in the human kidney. *Biochem J* 1926 ; 20 : 447-60.
- 3 • Rehberg PB. Studies on kidney function: the excretion of urea and chlorine analysed according to a modified filtration-reabsorption theory. *Biochem J* 1926 ; 20 : 461-82.
- 4 • Cushny A. *The secretion of urine in Monographs on physiology*. In: Starling E (ed). London : Longmans, Green and Co ; 1917.
- 5 • Ohler WR. Clinical studies in nephritis. *Bost Med Surg J* 1925 ; 192 : 44-8.
- 6 • Jackson HJ. Blood chemistry in chronic nephritis. *Bost Med Surg J* 1925 ; 192 : 48-50.
- 7 • Delanaye P, Cavalier E, Pottel H. Serum creatinine: not so simple! *Nephron* 2017 ; 136 : 302-8.
- 8 • Delanghe JR, Speeckaert MM. Creatinine determination according to Jaffe-what does it stand for? *NDT Plus* 2011 ; 4 : 83-6.
- 9 • Blondel-Mégrelis M. Justus Liebig (1803-1873) tout est chimie. *Actual Chim* 2003 : 50-9.
- 10 • Liebig J. Kreatin und Kreatinin, Bestandtheile des Harns der Menschen. *J Prakt Chem* 1847 ; 40 : 288-92.
- 11 • Evans AS. Pettenkofer revisited: the life and contributions of Max von Pettenkofer (1818-1901). *Yale J Biol Med* 1973 ; 46 : 161-76.
- 12 • Pettenkofer M. Vorläufige Notiz über einen neuen stickstoffhaltigen Körper im Harn. *Justus Liebig Ann Chem* 1844 : 97-100.
- 13 • Chevreul ME. Sur la composition chimique du bouillon de viandes. *J Pharm Sci* 1835 : 231-48.
- 14 • Malloizel G. *Œuvres scientifiques de Michel-Eugène Chevreul, doyen des étudiants de France*. Rouen, Imp. Paris : 1886.
- 15 • Heintz W. Beiträge zur Kenntnifs des Kreatins und Kreatinins. In: Poggendorff JC (ed). *Ann Phys Chem*, Leipzig : Verlag von Johann Ambrosius Barth, 1849, p. 125-42.
- 16 • Dessaignes V. *Recherches sur quelques produits de transformation de la créatine*. Vendôme : Typographie Lemerrier, 1886.
- 17 • Neubauer C. Ueber kreatinin. *Ann Chem Pharm* 1861 ; 1 : 27-52.

- 18 • Yvon P. *L'urine normale et pathologique au niveau clinique: créatinine*. In: Goupy V (ed). Paris : 1875, p. 113-7.
- 19 • Yvon P. *Manuel clinique de l'analyse des urines : créatinine*. Paris : Octave Doin, 1893, p. 113-7.
- 20 • Weyl T. Ueber eine neue Reaction auf Kreatinin und Kreatin. *Ber Dtsch Chem Ges* 1878 ; 11 : 2175-7.
- 21 • Hofmeister F. Nitroprussidnatrium als Reagens auf Kreatinin und Aceton im Harn. *Z Anal Chem* 1883 : 464-6.
- 22 • Max Jaffé. *Nature* 1941 ; 148 : 110.
- 23 • Lohs K. Max Jaffe zum 150. Geburtstag. *Z Arztl Fortbild* 1991 ; 85 : 687-9.
- 24 • Jaffe M. Ueber den Niederschlag, welchen Pikrinsäure in normalem Harn erzeugt und über eine neue Reaktion des Kreatinins. *Z Physiol Chem* 1886 ; 10 : 391-400.
- 25 • Beauvais H. Réactions chimiques de l'urine. In: *Nouveaux éléments de physiologie humaine* 1888 ; p. 161.
- 26 • Colls PC. Notes on creatinine. *J Physiol* 1896 ; 20 : 107-11.
- 27 • Johnson GS. On kreatinins. Part I. On the kreatinin of urine as distinguished from that obtained from flesh kreatin. *Proc R Soc Lond* 1888 ; 43 : 493-517.
- 28 • Shaffer PA. *Otto Folin 1867-1934. Biographical memoir by Philipp Andersson Shaffer*. Washington DC : National Academy of Sciences, 1952.
- 29 • Meites S. Otto Folin's decade in Minnesota, 1882-1892: a brief review. *Clin Chem* 1982 ; 28 : 2173-7.
- 30 • Meites S. The first call for clinical chemists in the United States. *Clin Chem* 1983 ; 29 : 1852-3.
- 31 • Meites S. Otto Folin's medical legacy. *Clin Chem* 1985 ; 31 : 1402-4.
- 32 • Rosenfeld L. Otto Folin and Donald D. Van Slyke: pioneers of clinical chemistry. *Bull Hist Chem* 1999 ; 24 : 40-7.
- 33 • Folin O. Beitrag zur Chemie des Kreatinins und Kreatins im Harne. *Z Physiol Chem* 1904 ; 41 : 223-42.
- 34 • Folin O. Approximately complete analyses of thirty "normal" urines. *Am J Physiol* 1905 ; 13 : 45-65.
- 35 • Horbaczewski J. Neue Synthese des Kreatins. *Wien Med Jahrb* 1885 ; 15 : 459.
- 36 • Folin O, Morris JL. On the determination of creatinine and creatine in urine. *J Biol Chem* 1914 ; 17 : 469-73.
- 37 • Folin O. On the determination of creatinine and creatine in blood, milk and tissues. *J Biol Chem* 1914 ; 17 : 475-81.
- 38 • Folin O, Denis W. On the creatinine and creatine content of blood. *J Biol Chem* 1914 ; 17 : 487-91.
- 39 • Annesley TM. We know Folin, but who was Wu? *Clin Chem* 2020 ; 66 : 1577-8.
- 40 • Folin O, Wu H. A system of blood analysis. *J Biol Chem* 1919 ; 38 : 81-110.
- 41 • Shaffer P. The excretion of kreatinine and kreatin in health and disease. *Am J Physiol* 1908 ; 23 : 1-22.
- 42 • Folin O. Laws governing the chemical composition of urine. *Am J Physiol* 1905 ; 13 : 66-115.
- 43 • Folin O. The clinical applications of pathological chemistry. *Lancet* 1913 ; 182 : 468-70.
- 44 • Mendel LB. The physiological significance of creatin and creatinine. *Science* 1909 ; 745 : 584-91.
- 45 • Myers VC, Fine MS. The creatine content of muscle under normal conditions. Its relation to the urinary creatinine. *J Biol Chem* 1913 ; 14 : 9-26.
- 46 • Shaffer PA. Observations on creatine and creatinine. *J Biol Chem* 1914 ; 18 : 525-40.
- 47 • Hunter A. The physiology of creatine and creatinine. *Physiol Rev* 1922 ; 2 : 586-626.
- 48 • Le Fevre E. The treatment of uraemia. *BMJ* 1906 : 1449-52.
- 49 • Gaebler OH, Keltch AK. On the nature of blood creatinine. *J Biol Chem* 1928 ; 76 : 337-59.
- 50 • Patch FS, Rabinowitch I. Urea and creatinine contents of the blood in renal disease. *JAMA* 1928 ; 90 : 1091-5.
- 51 • Chapman AH. On Jaffé's colorimetric method for the estimation of creatinine. *Analyst* 1909 ; 34 : 475-83.
- 52 • Mellanby E. Creatin and kreatinin. *J Physiol* 1908 ; 36 : 447-87.
- 53 • Cook F. Factors which influence the creatinine determination. *J Am Chem Soc* 1909 ; 31 : 673-93.
- 54 • Taylor AE. The sources of error in the Folin method for the estimation of creatinine. *J Biol Chem* 1911 ; 9 : 19-20.
- 55 • Hunter A, Campbell WR. A hitherto neglected factor affecting the determination of minute quantities of creatinine. *J Biol Chem* 1916 ; 28 : 335-48.
- 56 • Thompson WH, Wallace TA, Clotworthy HRS. Observations on the use of the Folin method for the estimation of creatine and creatinine. *Biochem J* 1913 ; 7 : 445-65.
- 57 • Gettler AO, Oppenheimer R. Factors involving the accuracy of creatinine determinations in human blood. *J Biol Chem* 1917 ; 29 : 47-56.
- 58 • Gettler AO, Baker WJ. Chemical and physical analysis of blood in thirty normal cases. *J Biol Chem* 1916 ; 25 : 211-22.
- 59 • Hunter A, Campbell WR. The probable accuracy, in whole blood and plasma, of colorimetric determinations of creatinine and creatine. *J Biol Chem* 1917 ; 32 : 195-231.
- 60 • Wilson DW, Plass ED. Creatine and creatinine in whole blood and plasma. *J Biol Chem* 1917 ; 29 : 413-23.
- 61 • Greenwald I, McGuire JB. The estimation of creatinine and of creatine in the blood. *J Biol Chem* 1918 ; 33 : 103-9.
- 62 • Edgar G. Preparation and comparison of standards for the estimation of creatine and creatinine. *J Biol Chem* 1923 ; 56 : 1-6.
- 63 • Greenwald I, Gross J. The chemistry of Jaffé's reaction for creatinine. A red tautomer of creatinine picrate. *J Biol Chem* 1924 ; 59 : 601-12.
- 64 • Hunter A, Campbell WR. Creatine and creatinine in whole blood and plasma. *J Biol Chem* 1917 ; 29 : 413-23.
- 65 • Denis W. The determination of creatinine and creatine in blood. *J Biol Chem* 1918 ; 35 : 513-6.
- 66 • McCrudden FH, Sargent CS. The influence of the color from the sodium picrate in the determination of creatinine in blood and urine. *J Biol Chem* 1916 ; 26 : 527-33.
- 67 • Behre JA, Benedict SR. Studies in creatine and creatinine metabolism. IV. On the question of the occurrence of creatinine and creatine in blood. *J Biol Chem* 1922 ; 52 : 11-33.
- 68 • Gaebler OH. Further studies of blood creatinine. *J Biol Chem* 1930 ; 89 : 451-66.
- 69 • Benedict SR, Behre JA. Some applications of a new color reaction for creatinine. *J Biol Chem* 1936 ; 114 : 515-32.
- 70 • Behre JA, Benedict SR. On the presence of creatinine in blood. *J Biol Chem* 1935 ; 110 : 245-8.
- 71 • Danielson IS. On the presence of creatinine in blood. *J Biol Chem* 1936 ; 113 : 181-95.
- 72 • Achard C, Lévy J, Potop I. Sur la créatinine ultrafiltrable. *C R Seances Soc Biol Fil* 1933 ; 113 : 658-60.
- 73 • Ferro-Luzzi G. Über das sogenannte "wahre Kreatinin" des Blutes. *Biochem Z* 1935 ; 375 : 422-9.
- 74 • Lieb H, Zacherl MK. Untersuchungen über den Kreatin- und Kreatinstoffwechsel. I. Mitteilung. Zur Methodik der Kreatininbestimmung in Harn und Blut. *Wien Klin Wochenschr* 1934 ; 223 : 169-79.
- 75 • Hayman JM, Johnston SM, Bender JA. On the presence of creatinine in blood. *J Biol Chem* 1935 ; 108 : 675-91.
- 76 • Shannon JA. The renal excretion of creatinine in man. *J Clin Invest* 1935 ; 14 : 403-10.
- 77 • Shannon JA, Smith HW. The excretion of inulin, xylose, and urea by normal and phlorizinized man. *J Clin Invest* 1935 ; 14 : 393-401.
- 78 • Smith HW. The reliability of inulin as a measure of glomerular filtration. In : *The Kidney: Structure and function in health and disease*. New York : Oxford University Press Inc, 1951, p. 231-8.
- 79 • Miller BF, Winkler AW. The renal excretion of endogenous creatinine in man. Comparison with exogenous creatinine and inulin. *J Clin Invest* 1938 ; 17 : 31-40.
- 80 • Delanaye P, Cavalier E, Maillard N, et al. La créatinine : d'hier à aujourd'hui. *Ann Biol Clin (Paris)* 2010 ; 68 : 531-43.
- 81 • Honigsbaum M. Antibiotic antagonist: the curious career of René Dubos. *Lancet* 2016 ; 387 : 118-9.
- 82 • Miller BF, Dubos R. Determination by a specific enzymatic method of the creatinine content of blood and urine from normal and nephritic individuals. *J Biol Chem* 1937 ; 121 : 457-64.
- 83 • Dubos R, Miller BF. The production of bacterial enzymes capable of decomposing creatinine. *J Biol Chem* 1937 ; 121 : 429-45.
- 84 • Miller BF, Dubos R. Studies on the presence of creatinine in human blood. *J Biol Chem* 1937 ; 121 : 447-56.
- 85 • Fossati P, Prencipe L, Berti G. Enzymic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. *Clin Chem* 1983 ; 29 : 1494-6.

- 86** • Spencer K. Analytical reviews in clinical biochemistry: the estimation of creatinine. *Ann Clin Biochem* 1986 ; 23 : 1-25.
- 87** • Suzuki M. Purification and some properties of sarcosine oxidase from *Corynebacterium* sp. U-96. *J Biochem* 1981 ; 89 : 599-607.
- 88** • Panteghini M. Enzymatic assays for creatinine: time for action. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 2008 ; 241 : 84-8.
- 89** • Armbruster D, Overcash D, Reyes J. Clinical chemistry laboratory automation in the 21st century - *Amat victoria curam* (victory loves careful preparation). *Clin Biochem Rev* 2014 ; 35 : 143-53.
- 90** • Arant BS, Edelmann CM, Spitzer A. The congruence of creatinine and inulin clearances in children: use of the Technicon AutoAnalyzer. *J Pediatr* 1972 ; 81 : 559-61.
- 91** • Toffaletti J, Blosser N, Hall T, Smith S, Tompkins D. An automated dry-slide enzymatic method evaluated for measurement of creatinine in serum. *Clin Chem* 1983 ; 29 : 684-7.
- 92** • Westgard JO, Carey RN, Feldbrugge DH, Jenkins LM. Performance studies on the Technicon "SMAC" analyzer: precision and comparison of values with methods in routine laboratory service. *Clin Chem* 1976 ; 22 : 489-96.
- 93** • Skeggs LT. Persistence... and prayer: from the artificial kidney to the AutoAnalyzer. *Clin Chem* 2000 ; 46 : 1425-36.
- 94** • Stehlé T, Vidal-Petiot E, Flamant M, Delanaye P. Actualités et perspectives dans l'estimation du débit de filtration glomérulaire. *Nephrol Ther* 2023 ; 19 : 13-22.
- 95** • Delanaye P, Cohen E. Formula-based estimates of the GFR: equations variable and uncertain. *Nephron Clin Pract* 2008 ; 110 : c48-53.
- 96** • Coresh J, Astor BC, McQuillan G, et al. Calibration and random variation of the serum creatinine assay as critical elements of using equations to estimate glomerular filtration rate. *Am J Kidney Dis* 2002 ; 39 : 920-9.
- 97** • Welch MJ, Cohen A, Hertz H, et al. Determination of serum creatinine by isotope dilution mass spectrometry as a candidate definitive method. *Anal Chem* 1985 ; 58 : 1681-5.
- 98** • Thienpont LM, Van Landuyt KG, Stöckl D, De Leenheer AP. Candidate reference method for determining serum creatinine by isocratic HPLC: validation with isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry and application for accuracy assessment of routine test kits. *Clin Chem* 1995 ; 41 : 995-1003.
- 99** • Stokes P, O'Connor G. Development of a liquid chromatography-mass spectrometry method for the high-accuracy determination of creatinine in serum. *J Chromatogr B Anal Sci* 2003 ; 794 : 125-36.
- 100** • Stöckl D, Reinauer H. Candidate reference methods for determining target values for cholesterol, creatinine, uric acid, and glucose in external quality assessment and internal accuracy control. I. Method setup. *Clin Chem* 1993 ; 39 : 993-1000.
- 101** • Myers GL, Miller WG, Coresh J, et al. Recommendations for improving serum creatinine measurement: a report from the laboratory working group of the National Kidney Disease Education Program. *Clin Chem* 2006 ; 52 : 5-18.
- 102** • Piéroni L, Delanaye P, Boutten A, et al. A multicentric evaluation of IDMS-traceable creatinine enzymatic assays. *Clin Chim Acta* 2011 ; 412 : 2070-5.
- 103** • KDIGO 2024 Clinical Practice Guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl* 2024 ; 105 : S1-314.
- 104** • Boutten A, Bargnoux AS, Carlier MC, et al. Enzymatic but not compensated Jaffe methods reach the desirable specifications of NKDEP at normal levels of creatinine. Results of the French multicentric evaluation. *Clin Chim Acta* 2013 ; 419 : 132-5.
- 105** • Cavalier E, Makris K, Portakal O, et al. Assessing the status of European laboratories in evaluating biomarkers for chronic kidney diseases (CKD) and recommendations for improvement: insights from the 2022 EFLM Task Group on CKD survey. *Clin Chem Lab Med* 2024 ; 62 : 253-61.
- 106** • El-Khoury JM, Karger AB, Cavalier E, et al. International perspectives on GFR estimation and race-based adjustments. *Clin Chem* 2023 ; 69 : 796-802.
- 107** • Bowers LD, Wong ET. Kinetic serum creatinine assays. II. A critical evaluation and review. *Clin Chem* 1980 ; 26 : 555-61.
- 108** • Fabiny DL, Ertingshausen G. Automated reaction-rate method for determination of serum creatinine with the CentrifChem. *Clin Chem* 1971 ; 17 : 696-700.