

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 16 février 2015

## **EXTRAIT de l'AVIS** **de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,** **de l'environnement et du travail**

**relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché d'un nouvel ingrédient : la L-ergothionéine synthétique**

*Le présent document est un extrait de l'avis du 16 février 2015 après suppression des parties confidentielles qui relèvent du secret industriel ou commercial.*

---

*L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.*

*L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.*

*Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.*

*Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).*

*Ses avis sont rendus publics.*

---

L'Anses a été saisie le 25 novembre 2013 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (Dgccrf) pour la réalisation de l'expertise des compléments d'information liée à la: « Demande d'avis relatif à la demande d'autorisation de mise sur le marché d'un nouvel aliment : la L-ergothionéine synthétique ».

### **1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE**

L'Anses a été saisie le 6 juin 2013 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (Dgccrf) pour la réalisation de l'expertise suivante : « Demande d'avis relatif à la demande d'autorisation de mise sur le marché d'un nouvel aliment : la L-ergothionéine synthétique ». Cette demande s'inscrit dans le cadre du règlement (CE) N°258/97 du Parlement Européen et du Conseil (27 janvier 1997) relatif aux nouveaux aliments et aux nouveaux ingrédients alimentaires.

Le pétitionnaire propose dans cette première demande, la mise sur le marché de la L-ergothionéine synthétique, comme nouvel ingrédient (NI) dans les aliments conventionnels en Europe, y compris dans les compléments alimentaires. Le pétitionnaire prévoit d'introduire le NI dans différentes denrées alimentaires consommées couramment par la population excepté par les femmes enceintes ou allaitantes, du fait de l'absence d'évaluation de la toxicité pour la reproduction sur deux générations. À ce jour, cette molécule n'a pas été utilisée comme ingrédient au sein des aliments généralement consommés par la population de l'UE et s'inscrit, selon le pétitionnaire, dans le premier article (chapitre 2) du règlement (CE) n ° 258/97 : « aliments et ingrédients alimentaires pour lesquels la consommation humaine est restée négligeable jusqu'alors ». Suite à la recommandation de la Commission du 29 juillet 1997 97/618/CE, le pétitionnaire considère la L-ergothionéine synthétique comme appartenant aussi à la classe (1) « produit chimique pur ou mélange simple issu de sources non génétiquement modifiées » et plus précisément à la sous-classe (1.2) « produit chimique pur issu de sources non génétiquement modifiées et dont la source n'a jamais été utilisée comme aliment dans la Communauté ».

Suite à cette demande, l'Anses, sur la base des conclusions du CES « Nutrition Humaine » (NUT) a rendu un avis le 17 octobre 2013. Dans cet avis, il a été soulevé la nécessité de fournir des éléments d'information complémentaires.

L'Anses a été de nouveau saisie le 25 novembre 2013 pour évaluer les compléments d'information fournis par le pétitionnaire. Sur demande du CES NUT, de nouveaux éléments ont été intégrés au dossier le 10 juillet 2014.

## **2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE**

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise collective a été réalisée par le Comité d'experts spécialisé (CES) « Nutrition humaine », (NUT), réuni le 11 avril 2014, le 12 septembre 2014 et le 16 octobre, et le groupe de travail (GT) pérenne « Evaluation des substances et procédés soumis à autorisation en alimentation humaine (ESPA) » réuni le 20 février 2014. Les travaux ont été adoptés par le CES le 10 octobre 2014. Cette expertise a été réalisée sur la base de rapports initiaux rédigés indépendamment par quatre rapporteurs.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques *via* le site internet de l'Anses ([www.anses.fr](http://www.anses.fr)).

## **3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES**

### **3.1. Effet du procédé de production appliqué au NI**

La L-ergothionéine est un composé naturel identifié pour la première fois dans l'ergot de seigle par un pharmacien français Charles Tanret en 1909. Chimiquement, il s'agit d'un dérivé de thiohistidine, la 2-thio-L-histidine bétaine. Cette molécule est synthétisée naturellement par des bactéries et des champignons comestibles. Elle est absorbée par l'Homme au travers de son alimentation et pénètre dans les tissus grâce à un transporteur spécifique, commun avec la carnitine, l'OCTN1 (*Organic Cation Transporter*).

Le procédé de fabrication de la L-ergothionéine synthétique est un procédé chimique inspiré de la biosynthèse de cette molécule. Il suit les normes de bonne pratique de fabrication (GMP) et repose sur les indications du brevet EP 2486020 A1 publié le 15 août 2012, détaillé également dans une publication (Erdelmeier *et al.* 2012).

La synthèse s'effectue à partir de la L-hercynine (Herc) qui réagit avec la cystéine (Cys) en présence de brome. L'intermédiaire obtenu est transformé en L-ergothionéine par chauffage en présence de l'acide 3-mercaptopropionique. Le produit final, la L-ergothionéine, est ensuite isolée par cristallisation, après séparation préalable des sels et de l'excès de cystéine utilisée. Lors de sa précédente analyse, le CES remarquait que pour former la L-ergothionéine, le pétitionnaire utilise l'acide 3-mercaptopropionique en large excès, soit 10 équivalents. Après extraction par l'acétate d'éthyle, qui doit enlever l'excès de l'acide 3-mercaptopropionique et les produits secondaires de sa réaction, la L-ergothionéine est obtenue sous forme solide.

Le pétitionnaire a apporté des éléments complémentaires permettant d'attester une vérification, dans le produit final, de l'absence de l'acide 3-mercaptopropionique, produit toxique en cas d'ingestion et corrosif. Il fournit également des analyses permettant également de s'assurer de l'innocuité et de l'absence des produits résultant de la réaction de l'acide 3-mercaptopropionique sur l'adduit Herc-Cys dans le NI.

Ainsi, le pétitionnaire a analysé les éventuels reliquats d'acide 3-mercaptopropionique et de ses métabolites par analyse 1H-RMN (RMN du proton), et a vérifié que la concentration de ces impuretés soit inférieure à 0,2% dans le produit fini.

**Le CES note que le pétitionnaire a apporté tous les éléments de réponse demandés. Le Comité estime que ces nouveaux éléments répondent aux interrogations soulevées et accepte les conclusions du pétitionnaire quant aux analyses d'impuretés fournies. Le Comité considère comme nécessaire que le pétitionnaire assure un suivi régulier et systématique de la pureté des produits issus de la synthèse du NI.**

### **3.2. Utilisation antérieure de l'organisme utilisé comme source de NI**

#### **3.2.1. Sources**

Le pétitionnaire apporte des éléments de réponse aux remarques du CES concernant le turnover (c.-à-d. la vitesse de renouvellement) de la L-ergothionéine dans l'organisme. Il signale que la demi-vie de 30 jours de la *L-ergothionéine*, rappelée par le CES NUT, est une valeur citée par Kato *et al.*, (2010) référencée d'une publication de Kawano *et al.* (1982) qui elle, ne mentionne pas une telle valeur. Le pétitionnaire développe cette question de turnover dans le paragraphe relatif aux données nutritionnelles.

**Les commentaires du CES au sujet des données relatives au turnover sont consignés au paragraphe relatif aux données nutritionnelles (3.4.).**

#### **3.2.2. Information relative à l'exposition antérieure au NI ou à sa source**

Le pétitionnaire confirme qu'il existe bien des discordances entre études sur les teneurs en L-ergothionéine, à l'instar de certains auteurs (Kawano *et al.*, 1982 ; Cheah and Halliwell, 2012), du fait des modes de culture et de préparation des échantillons (relatif notamment aux concentrations en histidine dans les milieux de culture des champignons) et des méthodes d'analyse considérées.

En réponse aux interrogations du CES concernant la possibilité de quantifier, selon les méthodes d'analyses différentes, dans les tissus et les aliments, le NI associé à des protéines et que ceci pourrait modifier le calcul de l'exposition au NI, le pétitionnaire précise qu'il a choisi d'utiliser dans le dossier présenté lors de la saisine précédente (n°2013-SA-0102), des valeurs issues de dosages prenant en considération à la fois les formes libres et les formes liées aux protéines. Le pétitionnaire déclare avoir utilisé la méthode de préparation de Ey *et al.*, (2007), en milieu acide (utilisant de l'acide perchlorique dénaturant et précipitant), ainsi que la quantification par LC-MS/MS ; seules les valeurs ainsi obtenues ont été utilisées pour estimer les teneurs des aliments et procéder au calcul de l'exposition.

**Le CES prend note de ces nouveaux éléments mais s'interroge sur la nature des liaisons entre l'ergothionéine et les protéines : selon la nature de ces liaisons, ioniques ou covalentes, une dénaturation et une précipitation des protéines pourraient ne pas être suffisantes pour libérer l'ergothionéine et sous-estimer ainsi l'exposition.**

### **3.3. Consommation/niveau d'utilisation prévu du NI**

Le pétitionnaire rappelle que les denrées alimentaires auxquelles la L-ergothionéine pourrait être ajoutée sont les boissons rafraichissantes sans alcool, les barres céréalières, le lait, les produits laitiers ultra-frais (comme les crèmes fraîches, les yaourts et fromages blancs), les chocolats, certaines denrées alimentaires destinées à une alimentation particulière (DADAP), ainsi que des compléments alimentaires.

Le pétitionnaire sollicite l'autorisation d'utiliser le NI à la hauteur de 5 mg par portion. Concernant les compléments alimentaires, la dose journalière recommandée par le demandeur est jusqu'à 30 mg/j chez l'adulte et 20 mg/j chez l'enfant. Dans le dossier complémentaire du pétitionnaire, il est précisé que l'évaluation des niveaux de consommation prévus pour la population française a été réalisée sur la base de l'enquête de consommation INCA 2 et de l'outil de calcul mis en place par l'Anses (2010).

Cet outil a été validé par l'Anses sur 4 additifs alimentaires et considéré comme « suffisamment protecteur » ; le pétitionnaire a choisi de l'utiliser pour estimer les niveaux d'utilisation prévus dans la population française.

**Le CES estime l'utilisation de l'outil de l'Anses recevable pour évaluer les niveaux de consommation du NI.**

### **3.4. Informations d'ordre nutritionnel sur le NI**

Le pétitionnaire a réalisé une courte description d'articles scientifiques portant sur le sujet et mentionnés par le CES dans l'avis précédent.

Concernant l'accumulation tissulaire, le pétitionnaire signale que Kato *et al.* 2010 ont rapporté que la concentration de l'ergothionéine se maintient à un niveau relativement constant pendant les 14 jours suivant une administration orale d'une dose unique chez la souris et avec une excrétion urinaire, au bout de 14

jours, représentant moins de 10% de la dose administrée. Le pétitionnaire précise que cette étude de cinétique de distribution tissulaire montrent que la L-ergothionéine s'accumule progressivement et à des vitesses différentes dans les organes et dans le sang.

De plus, après une nouvelle recherche bibliographique, il s'avère que les données, issues d'articles très anciens (Heath, 1952; Mackenzie et Mackenzie, 1957; Kawano, 1982a; Kato *et al.*, 2010 ; Mayumi, 1978), montrent que la molécule est encore présente chez le rongeur à des taux très élevés dans le sang et les tissus, 14 jours après une prise unique. Ainsi, à titre d'exemple, un travail mené en 1952 par Heath montre que la L-ergothionéine conserve, au bout de 14 jours, la même concentration tissulaire qu'elle ait été apportée dans l'alimentation durant toute la période ou simplement par une injection unique.

Le pétitionnaire ajoute que l'absorption orale répétée de L-ergothionéine à une teneur constante dans l'alimentation montre que la concentration tissulaire en L-ergothionéine atteint un plateau, comme cela a été mis en évidence dans le foie (Kawano, 1982a) et dans le sang (Mackenzie and Mackenzie, 1957; Kawano, 1982a). D'après le pétitionnaire, ces éléments soulignent l'importance du rôle du transporteur OCTN1, récepteur saturable de la L-ergothionéine en tant qu'élément régulateur de son accumulation dans les tissus.

Concernant l'accumulation de la L-ergothionéine dans l'organisme associée aux statuts hormonaux, en particulier aux concentrations sanguines de testostérone, le pétitionnaire décrit très brièvement l'étude de Mackenzie (1957) et, à l'instar du CES NUT, signale qu'une accumulation plus importante de la molécule a été observée chez des rats mâles et que la testostérone serait à l'origine de ce phénomène. Les auteurs rappellent qu'aucune autre étude n'a confirmé cette observation.

Concernant le rôle potentiel de la L-ergothionéine dans la modulation de la glycolyse au sein de certaines cellules, les érythrocytes notamment, le pétitionnaire décrit à nouveau les éléments développés par le CES NUT.

Concernant les conséquences potentielles des capacités chélatrices de la L-ergothionéine des cations métalliques, en particulier du zinc, sur les capacités de stockage de l'insuline qui nécessitent la présence de ce cation, le pétitionnaire reprend les différents articles publiés à ce sujet. Il rappelle que le rôle diabétogène de la *L-ergothionéine* est très discuté, certaines études ayant observé une augmentation de la concentration de ce composé chez les patients diabétiques (Epanand 1982, Fraser and Jegard 1950), d'autres n'ayant pas mis en évidence de différence significative entre les taux sanguins de patients et de sujets sains contrôles (Epanand 1988, Salt 1931). Le pétitionnaire concède que les conséquences métaboliques de la capacité de la L-ergothionéine à chélater des cations métalliques restent à évaluer.

Enfin, le pétitionnaire souligne les incohérences entre ces études datant de plusieurs dizaines d'années et observe que l'effet de la L-ergothionéine sur l'homéostasie du métabolisme glucidique reste à être évalué.

Concernant l'impact potentiel du polymorphisme du gène OCTN1, transporteur de la L-ergothionéine sur les capacités d'absorption et la captation de la L-ergothionéine et sur le développement des pathologies inflammatoires telles que la maladie de Crohn ou l'arthrite rhumatoïde, le pétitionnaire mentionne les observations, parfois contradictoires, qui ont été rapportées chez l'Homme :

- diminution de la concentration érythrocytaire chez des patients atteints de leucémie myéloïde chronique (McMenamy *et al.*, 1960) ;
- diminution de la concentration dans le cristallin de l'œil de patients atteints de cataracte, et ceci d'autant plus que le degré de cataracte est élevé (Shukla *et al.*, 1981) ;
- diminution (Reglinski *et al.*, 1991) et augmentation (Taubert *et al.*, 2006) de la concentration érythrocytaire chez des patients atteints d'arthrite rhumatoïde ;
- augmentation de la concentration en L-ergothionéine dans les érythrocytes maternels chez des femmes en situation de pré-éclampsie (Turner *et al.*, 2009) ;
- diminution de la concentration érythrocytaire (Kato *et al.*, 2010) et augmentation de la concentration dans des biopsies de muqueuse intestinale inflammatoire (Taubert *et al.*, 2009) chez des patients atteints de la maladie de Crohn.

D'après le pétitionnaire, si Taubert *et al.* suggèrent un rôle causal de la L-ergothionéine dans le développement de l'arthrite rhumatoïde (2006) et de la maladie de Crohn (2009), les travaux de Kato, plus récents, suggèrent à l'inverse un rôle anti-inflammatoire de la L-ergothionéine (Kato *et al.*, 2010).

Par ailleurs, le pétitionnaire précise que le polymorphisme du gène codant le transporteur OCTN1 de la L-ergothionéine a fait l'objet de nombreuses études, dont celles de Tokuhiko *et al.* (2003), Peltekova *et al.*

(2004) et Leung *et al.* (2006). Ces dernières mettent en évidence, d'après le pétitionnaire, une association de certains variants avec l'arthrite rhumatoïde et la maladie de Crohn. Le variant 503F qui augmente le potentiel de transport de cette molécule dans les cellules, serait associée à une plus forte capacité de survie de ces cellules provoquant des conditions inflammatoires chroniques (Taubert D, 2005, 2009). Cependant, des travaux récents remettent en cause l'idée d'un rôle pathogène du variant 503F en montrant que son expression est en fait liée à un phénomène dit « hitchhiking » génétique (Huff *et al.*, 2012). Le pétitionnaire conclut que, dans l'état actuel, le rôle exact de la L-ergothionéine dans les maladies inflammatoires reste donc en toute rigueur à établir (Cheah et Halliwell, 2012).

**Le CES note que le pétitionnaire reconnaît que la L-ergothionéine présente une vitesse d'élimination très lente. Dans le cas d'une consommation régulière de la L-ergothionéine, la lenteur des processus d'élimination pourrait conduire dans certains tissus à des niveaux tels, qu'ils pourraient faire craindre des effets indésirables même si, à ce jour, aucune toxicité liée à l'accumulation tissulaire du composé n'a été révélée dans les études chez l'animal.**

**Les données disponibles à ce jour et présentées par le pétitionnaire ne permettent pas de lever les interrogations concernant :**

- l'association possible entre un faible statut en L-ergothionéine et le développement de la maladie de Crohn ;
- l'effet de la L-ergothionéine sur l'homéostasie glucidique.

**Par ailleurs, le pétitionnaire ne précise pas que le transporteur OCTN1 assure également le transfert d'autres composés comme la carnitine. Or, l'effet métabolique d'une éventuelle compétition de ces molécules et de la saturation du récepteur induit par de fortes doses de L-ergothionéine est actuellement inconnu.**

### **3.5. Informations d'ordre toxicologique sur le NI**

Dans l'avis de l'Anses du 17 octobre 2013 sur la L-ergothionéine synthétique, il était conclu que les DSEIO proposées étaient acceptables au vu des données toxicologiques obtenues avec le NI.

Dans les compléments d'information fournis par le pétitionnaire le 25 novembre 2013, des explications d'ordre toxicologique ont été fournies à la suite des observations générales formulées sur ces aspects dans l'avis de l'Anses du 17 octobre 2013.

**Le GT ESPA estime que dans ces compléments d'information le pétitionnaire a étayé les argumentaires scientifiques et répondu globalement de manière acceptable aux observations formulées. Le GT ESPA observe que l'étude combinée de toxicité à doses répétées et de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement conduite avec la L-ergothionéine synthétique montre des résultats négatifs. En conséquence, le GT ESPA confirme ses conclusions formulées dans l'avis du 17 octobre 2013 suscité, à savoir que les données de toxicologie obtenues avec la L-ergothionéine synthétique et présentées dans le dossier du pétitionnaire ne présentent aucun signe évocateur de risque sanitaire pour le consommateur, aux doses d'emploi préconisées.**

### **Allergénicité**

Cette question nécessitait d'être étayée.

Le pétitionnaire tire des éléments rassurants de l'étude OCDE 422 mentionnée plus haut dans laquelle aucune altération histopathologique des organes de l'immunité n'a été détectée lors des examens microscopiques (tissu lymphoïde intestinal, ganglions lymphatiques mandibulaires et mésentériques, thymus, rate et moelle osseuse). Par ailleurs, les paramètres hématologiques étudiés ne montrent pas de variation significative, en comparaison aux témoins, du rapport albumines/globulines, indicateur du taux global d'immunoglobulines et d'une éventuelle capacité de réponse immunologique. Le pétitionnaire fait valoir aussi que la L-ergothionéine est une molécule de faible masse moléculaire (environ 229 Daltons), qui ne comporte pas de groupements chimiques susceptibles de réagir avec les protéines et s'y combiner et enfin que le procédé de synthèse ne conduit pas à la présence de contaminants de nature protéique.

### **3.6. Conclusions du CES « Nutrition Humaine » et du GT « ESPA »**

Le CES « Nutrition Humaine » estime que le pétitionnaire a apporté tous les éléments de réponse demandés et que les nouveaux éléments apportés répondent aux interrogations soulevées. Toutefois, le Comité considère comme nécessaire que le pétitionnaire assure un suivi régulier et systématique de la pureté des produits issus de la synthèse du NI.

Le GT ESPA estime que le pétitionnaire a étayé les argumentaires scientifiques et répondu globalement de manière acceptable aux interrogations d'ordre toxicologique soulevées dans l'avis du 17 octobre 2013.

Le GT ESPA observe que l'étude combinée de toxicité à doses répétées et de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement conduite avec la L-ergothionéine synthétique n'a pas montré d'effets indésirables.

Concernant les considérations d'ordre nutritionnel, le CES note que le pétitionnaire reconnaît que la L-ergothionéine présente une vitesse d'élimination très lente. Dans le cas d'une consommation régulière de la L-ergothionéine, la lenteur des processus d'élimination pourrait conduire dans certains tissus à des niveaux tels, qu'ils pourraient faire craindre des effets indésirables même si, à ce jour, aucune toxicité liée à l'accumulation tissulaire du composé n'a été révélée dans les études chez l'animal.

Les données disponibles à ce jour et présentée par le pétitionnaire ne permettent pas de lever les interrogations concernant :

- les conséquences de la vitesse d'élimination lente de la L-ergothionéine, tendant à son accumulation dans les tissus ;
- l'association possible entre un faible statut en L-ergothionéine et le développement de la maladie de Crohn ;
- l'effet de la L-ergothionéine sur l'homéostasie du métabolisme glucidique.

Le CES « Nutrition Humaine » conclut pour sa part que les éléments disponibles à ce jour ne permettent pas de lever les interrogations quant à la sécurité nutritionnelle du NI.

## **4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE**

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions du CES, en particulier sur le fait que les données disponibles à ce jour et fournies par le pétitionnaire, ne permettent pas de lever les interrogations quant à la sécurité nutritionnelle du NI. L'Anses reconnaît cependant que les données d'ordre toxicologique présentes dans le dossier du pétitionnaire ne présentent aucun signe évocateur de risque sanitaire pour le consommateur, aux doses d'emploi préconisées.

Marc Mortureux

**MOTS-CLES**

Nouvel ingrédient, ergothionéine, OCTN1, antioxydant.

**BIBLIOGRAPHIE**

**AFSSA.** Etude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires (INCA 2). 2006.

**Cheah IK, Halliwell B.** Ergothioneine; antioxidant potential, physiological function and role in disease. *Biochim Biophys Acta*. 2012 May;1822(5):784-93.

**Endelmeier I., Daunay S., Lebel R., Faescour L., Yadan J-C.** Cysteine as a sustainable sulfur reagent for the protecting-group-free synthesis of sulfur amino acids: biomimetics synthesis of L-ergothioneine in water. *Green chemistry*. 2012; 14(8):2256-2265.

**Eband RM.** The role of dietary ergothioneine in the development of diabetes mellitus. *Med Hypotheses*. 1982 Aug;9(2):207-13.

**Eband R.M., Eband R.F., and Wong S.C.** Study of the ergothioneine concentration in the blood of individuals with diabetes mellitus. *Journal of Clinical Chemistry & Clinical Biochemistry*, 1988;26(10):623-626.

**Ey J, Schömig E, Taubert D.** Dietary sources and antioxidant effects of ergothioneine. *J Agric Food Chem*. 2007 Aug 8;55(16):6466-74.

**Fraser R, Jegard S.** Blood ergothioneine levels in diabetes mellitus. *J Lab Clin Med*. 1950 Jun;35(6):960-7.

**Heath H, Rimington C, Searle CE, Lawson A.** Some effects of administering ergothioneine to rats. *Biochem J*. 1952 Feb;50(4):530-3.

**Huff C.D., Witherspoon D.J., Zhang Y., Gatenbee C., Denson L.A., Kugathasan S., Hakonarson H., Whiting A., Davis C.T., Wu W., Xing J., Watkins W.S., Bamshad M.J., Bradfield J.P., Bulayeva K., Simonson T.S., Jorde L.B., Guthery S.L.** Crohn's disease and genetic hitchhiking at IBD5. *Molecular Biology and Evolution*, 2012;29(1):101-111.

**Kato Y, Kubo Y, Iwata D, Kato S, Sudo T, Sugiura T, Kagaya T, Wakayama T, Hirayama A, Sugimoto M, Sugihara K, Kaneko S, Soga T, Asano M, Tomita M, Matsui T, Wada M, Tsuji A.** Gene knockout and metabolome analysis of carnitine/organic cation transporter OCTN1. *Pharm Res*. 2010 May;27(5):832-40

**Kawano H., Otani M., Takeyama K., Kawai Y., Mayumi T., and Hama T.** Studies on ergothioneine. VI. Distribution and fluctuations of ergothioneine in rats. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 1982a;30(5):1760-1765.

**Kawano H, Higuchi F, Mayumi T, Hama T.** Studies on ergothioneine. VII. Some effects on ergothioneine on glycolytic metabolism in red blood cells from rats. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 1982b Jul;30(7):2611-3.

**Leung E, Hong J, Fraser AG, Merriman TR, Vishnu P, Krissansen GW.** Polymorphisms in the organic cation transporter genes SLC22A4 and SLC22A5 and Crohn's disease in a New Zealand Caucasian cohort. *Immunol Cell Biol*. 2006 Apr;84(2):233-6.

**Mackenzie JB, Mackenzie CG.** The effect of age, sex, and androgen on blood ergothioneine. *J Biol Chem*. 1957 Apr;225(2):651-7.

**Mayumi T, Kawano H, Sakamoto Y, Suehisa E, Kawai Y, Hama T.** Studies on ergothioneine. V. Determination by high performance liquid chromatography and application to metabolic research. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 1978 Dec;26(12):3772-8.

**McMenamy R.H., Lund C.C., and Wallach D.F.H.** Unbound amino acid concentrations in plasma, erythrocytes, leukocytes and urine of patients with leukemia. *Journal of Clinical Investigation*, 1960; **39**(11):1688-1705.

**OCDE.** Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques. Essai n°422 : Etude combinée de toxicité à doses répétées et de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement. Adoptée le 22 Mars 1996.

**Peltekova VD, Wintle RF, Rubin LA, Amos CI, Huang Q, Gu X, Newman B, Van Oene M, Cescon D, Greenberg G, Griffiths AM, St George-Hyslop PH, Siminovitch KA.** Functional variants of OCTN cation transporter genes are associated with Crohn disease. *Nat Genet.* 2004 May;**36**(5):471-5.

**Reglinski J., Smith W.E., Wilson R., Buchanan L.M., McKillop J.H., Thomson J.A., Brzeski M., Marabani M., and Sturrock R.D.** Clinical analysis in intact erythrocytes using 1H spin echo NMR. *Clinica Chimica Acta*, 1991; **201**(1-2):45-57

**Salt HB.** The ergothioneine content of the blood in health and disease. *Biochem J.* 1931;**25**(5):1712-9.

**Shukla Y., Kulshrestha O.P., and Khuteta K.P.** Ergothioneine content in normal and senile human cataractous lenses. *Indian Journal of Medical Research*, 1981;**73**: 472-473.

**Taubert D, Grimberg G, Jung N, Rubbert A, Schömig E.** Functional role of the 503F variant of the organic cation transporter OCTN1 in Crohn's disease. *Gut.* 2005 Oct;**54**(10):1505-6.

**Taubert D, Lazar A, Grimberg G, Jung N, Rubbert A, Delank KS, Perniok A, Erdmann E, Schömig E.** Association of rheumatoid arthritis with ergothioneine levels in red blood cells: a case control study. *J Rheumatol.* 2006 Nov;**33**(11):2139-45.

**Taubert D, Jung N, Goeser T, Schömig E.** Increased ergothioneine tissue concentrations in carriers of the Crohn's disease risk-associated 503F variant of the organic cation transporter OCTN1. *Gut.* 2009 Feb;**58**(2):312-4.

**Tokuhiro S, Yamada R, Chang X, Suzuki A, Kochi Y, Sawada T, Suzuki M, Nagasaki M, Ohtsuki M, Ono M, Furukawa H, Nagashima M, Yoshino S, Mabuchi A, Sekine A, Saito S, Takahashi A, Tsunoda T, Nakamura Y, Yamamoto K.** An intronic SNP in a RUNX1 binding site of SLC22A4, encoding an organic cation transporter, is associated with rheumatoid arthritis. *Nat Genet.* 2003 Dec;**35**(4):341-8.

**Turner E., Brewster J.A., Simpson N.A., Walker J.J., and Fisher J.** Imidazole-based erythrocyte markers of oxidative stress in preeclampsia: An NMR investigation. *Reproductive Sciences*, 2009;**16**(11):1040-1051.