

**Priporočila za nadomeščanje holekalciferola (vitamina D3) v obdobjih
respiratornih okužb in za nadomeščanje holekalciferola pri posameznikih s
COVID-19**

	PREVENTIVA	Odmerjanje		
ODRASLI	Zdravi	800 [‡] -2.000 IE [#] /dan Od začetka oktobra do konca aprila		
OGROŽENI	<ul style="list-style-type: none"> • Kronični bolniki • Starejši od 70 let • Zdravstveni delavci • Svojci obolelih v istem gospodinjstvu • Tvegani stiki s Covid-19 pozitivnimi pacienti • Nosečnice 	1.000-2.000 IE/dan ali 10.000-14.000 IE/teden	Vse leto Vsaj en mesec oz. od oktobra do aprila	Dnevni odmerek se poveča: do 4.000 IE/dan ob nizki izmerjeni konc. vit D ₃ (manj kot 50 nmol/l) do izmerjene konc vsaj 75 nmol/l na 2.000-4.000 IE/dan pri vseh z ITM >25 kg/m ²
OTROCI	0-1 leta 1-18 let	400-1.000* IE/dan 600-1.000* IE/dan		
BOLNI	ZDRAVLJENJE	Odmerjanje		
Covid19	VSI čim prej po potrditvi okužbe s SARS-CoV-2 (asimptomatski ali z blago klinično sliko)	14.000 IE/dan 4 dni zapored, če prej niso jemali (dovolj) vitamina D, Nato 2000 IE/dan ali 14.000 IE/teden		
	Hospitalizirani	Določitev 25(OH)D3...če < 75 nmol/l		
	Hospitalizirani, premestitev v EIT	Nadaljevati po zgornji shemi		

[#] IE – mednarodne enote, 1000 IE = 25mcg holekalciferola

[‡] Referenčne vrednosti za vnos Vitaminov in mineralov – tabelarična priporočila za otroke, mladostnike, odrasle in starejše, NIJZ, 2013; povzeto po D-A-CH: New Reference Values for Vitamin D. Ann Nutr Metab 2012; 60: 241-246.

*Holick M et al. Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline, J Clin Endocrinol Metab 2011; 96: 1911–1930

2.000 IE holekalciferola = Plivit D3 10 kapljic ALI Oleovit 5 kapljic

14.000 IE holekalciferola = Plivit D3 70 kapljic ALI Oleovit 35 kapljic

Meje preskrbljenosti^a z vitaminom D		
Optimalna raven 25(OH)D:	>75 nmol/L	>30 ng/ml
Mejne vrednosti 25(OH)D:	50 – 75 nmol/L	20 – 30 ng/ml
Pomanjkanje 25(OH)D:	<50 nmol/L	<20 ng/ml
Hudo pomanjkanje	<30 nmol/L	<12 ng/ml

Opomba: ^a 25(OH)D: serumska koncentracija 25-hidroksi-vitamina D

RAZLAGA NAVODIL V TABELAH

1. Preventiva

- Pri vseh zdravih posameznikih v obdobju respiratornih okužb od oktobra do aprila svetujemo zagotavljanje dnevnega vnosa vitamina D3 v odmerku 800-2.000 IE/dan.
- Pri vseh posameznikih, ki spadajo v visoko ogroženo skupino za pomanjkanje vitamina D in hkrati v skupino z visokim tveganjem za višjo obolevnost in smrtnost zaradi COVID-19 v vseh letnih časih svetujemo zagotavljanje vnosa vitamina D3 v odmerku 1.000-2.000 IE na dan ali 10.000 – 14.000 IE enkrat na teden.

2. Pri vseh posameznikih z novo dokazano okužbo s SARS-CoV-2 svetujemo nadomeščanje vitamina D3 po naslednji shemi:

- 4 dni 14.000 IE (350 mcg) holekalciferola za normalizacijo ravni 25(OH)D3 – »loading«: Plivit D3 70 kapljic ali Oleovit 35 kapljic.
- Nato 2.000 E (50 mcg) holekalciferola/dan: Plivit D3 10 kapljic ali Oleovit 5 kapljic ali enkrat tedensko 14.000 E holekalciferola: Plivit D3 70 kapljic ali Oleovit 35 kapljic

3. Bolnikom s COVID-19, ki potrebujejo hospitalizacijo, naj se ob sprejemu določi serumska raven 25(OH)D, če je pod 75 nmol/l, svetujemo korekcijo in sledenje shemi iz točke 2.

Bolnikom, ki potrebujejo premestitev v enoto intenzivne terapije (EIT), naprej nadomeščati holekalciferol po isti shemi.

OPOMBA: Vsi čezmerno prehranjeni in debeli (ITM>25 kg/m²) potrebujejo dvojne ali celo trojne odmerke holekalciferola.

UTEMELJITEV

Visoka prevalenca pomanjkanja vitamina D v slovenski populaciji

Nedavna nacionalno raziskava Nutrihealth, ki so jo opravili na reprezentativnem vzorcu zdravih Slovencev starih 18 do 74 let, je ugotovila, da ima v jesensko-zimskem obdobju (med novembrom in aprilom) približno **80%** odraslih Slovencev **pomanjkanje vitamina D** – raven 25(OH)D <50 nmol/L) in **40%** zdravih Slovencev **hudo pomanjkanje** vitamina D – raven 25(OH)D <30 nmol/L (1). Ista skupina raziskovalcev je v pilotni raziskavi oskrbovancev Domov starejših občanov (DSO), ki niso dodajali vitamin D, ugotovila, da ima pozimi **84%**

oskrbovancev DSO hudo pomanjkanje (25(OH)D – ravni pod 30 nmol/L) (še neobjavljeni podatki Inštituta za nutricionistiko).

Naša država torej sodi med tiste z izjemno visoko prevalenco pomanjkanja vitamina D.

Vitamin D dokazano zmanjša pojavnost akutnih okužb dihal

Leta 2019 objavljena meta-analiza individualnih podatkov udeležencev v 25 dvojno slepih randomiziranih, s placebom kontroliranih raziskav (10.900 preiskovancev starih od 0 do 95 let), ki so proučevale učinke nadomeščanja vitamina D na pojavnost akutnih okužb dihal (ARI), je pri preiskovancih, ki so imeli pred nadomeščanjem raven 25(OH)D pod 25 nmol/L in so prejeli vitamin D enkrat dnevno ali enkrat tedensko, ugotovila **70% manj ARI** kot v placebo skupini (RR 0,30), pri tistih s koncentracijo 25(OH)D večjo od 25 nmol/L, pa **25% zmanjšanje incidence ARI** ob enakem režimu jemanja vitamina D3 (RR 0,75) (2). Režim nadomeščanja vitamina D z odmerki večjimi od 30.000 IE, ki so jih preiskovanci prejeli v razmikih enega ali več mesecev, ni bil učinkovit.

Mehanizmi delovanja vitamina D na imunski sistem

Vitamin D povečuje **naravno odpornost** (prirojeno imunost) proti okužbam. Znano je, da celice imunskega sistema lahko aktivirajo neaktivni 25(OH)D v aktivni steroidni hormon D (1,25(OH)₂D – kalcitriol), ker imajo inducibilno 1 alfa-hidroksilazo (3). V makrofagih, ki jih napade virus, pod vplivom hormona D nastajajo endogeni antimikrobni peptidi katelicidin in defenzin beta, ki pospešijo avtofagijo virusov in njihovo uničenje. Učinkovitost makrofagov, da tvorijo katelicidin, je odvisna od ravni 25(OH)D (3). Epitelijske celice dihal imajo konstitutivno aktivno 1-alfa-hidroksilazo in prav tako lahko 25(OH)D aktivirajo v hormon D, ki na podoben način uničuje viruse (3) in vzdržuje tesne, presledkovne in priležne stike med epitelimi celicami, tudi alveolarnimi, in s tem povečuje protimikrobno bariero.

Vitamin D je znan kot **imunomodulator pridobljene imunosti**. Umirja čezmerno aktivacijo imunskega sistema z antigeni in vnetni odgovor, tako da zavira zorenje dendritičnih celic in prenos antigenov na limfocite, regulira ravnovesje med T limfociti (zvečuje kohorto protivnetnih Th2 in Treg ter zavira provnetne Th1 in Th17), spodbuja izločanje protivnetnih interleukinov (IL 10) in zavira izločanje provnetnih cito- in kemokinov (TNF-alfa, IL 1, IL 6, IF-gama...)(3).

Vitamin D **zavira tvorbo renina** in aktivnost sistema renin-angiotenzin. Angiotenzin II je ob okužbi s SARS-CoV2 v pljučih močno povečan, saj virus zmanjša izražanje ACE2 na celicah, ki jih napade, zato prevlada ACE, ki angiotenzin I pretvarja v angiotenzin II. ACE2 namreč zmanjšuje nastajanje in proinflamatorno ter vazokonstriktorno delovanje angiotenzina II preko AT1 receptorjev, ker katalizira pretvorbo angiotenzina I v angiotenzin 1-7. Slednji ima povsem nasprotno učinke kot angiotenzin II, veže se na ATR2 in deluje protivnetno, spodbuja nastajanje NO in vazodilatacijo. Vitamin D povečuje izražanje ACE2 in nastajanje angiotenzina 1-7 (4).

Pomanjkanje vitamina D poveča tudi tveganje za nastanek akutnega respiratornega distres sindroma (ARDS) (5), calcitriol pa patogenetski proces ublaži (4,5).

Pomanjkanje vitamina D je povezano z večjim tveganjem za COVID-19

Načeloma imajo v državah, kjer imajo nižje povprečne ravni 25(OH)D, večjo incidenco okužb s SARS CoV2 in večjo smrtnost (Italija, Francija, Španija, Švica)(6). Na testiranju za COVID-19 v Chicagu so imeli tisti z ravnmi 25(OH)D pod 50 nmol/L za 1,77 krat večje tveganje za pozitiven test – okužbo. Vitamin D so pri njih določali v času do enega leta, preden so zboleli oz. se testirali (7). Podobno razliko v ravni 25(OH)D med pozitivnimi in negativnimi preiskovanci so ugotavljali tudi v švicarski raziskavi, kjer so imeli tisti s pozitivnim testom povprečno raven 25(OH)D le 27 nmol/L (8), tisti z negativnim, pa 61 nmol/L. Tudi v Izraelu so prikazali, da nižja raven vitamina D poveča tveganje za okužbo s SARS CoV2 (9).

Pomanjkanje vitamina D je povezano s slabšimi izidi COVID-19

Z več opazovalnimi študijami so med novo pandemijo ugotovili povezavo med nizkimi ravnmi 25(OH)D in pogostejšim zbolevanjem ter hujšim potekom oz. slabimi izidi COVID-19, vendar vzročne povezanosti med nizko ravniyo vitamina D in zbolevanjem te študije še ne dokazujejo.

V Iranu (10), Nemčiji in Italiji so imeli v opazovalnih raziskavah tisti bolniki s COVID, ki so imeli nižje ravni 25(OH)D, slabše izide. V Bariju so proučevali 42 bolnikov na EIT. Po desetih dneh je bila smrtnost pri tistih s 25(OH)D pod 25 nmol/L (raven, ki jo ima večina oskrbovancev DSO v Sloveniji, če vitamina D ne dodajajo) 50%, pri tistih z višjimi ravnmi pa 5% (11). V Heidelbergu so proučevali povezavo med ravnmi 25(OH)D in izidi COVID pri 185 bolnikih. Po utežitvi glede na starost, spol in spremljajoče bolezni, so imeli tisti z ravniyo 25(OH)D pod 30 nmol/L šestkrat večje tveganje (HR 6,12; 95% CI 2,79–13,42; p < 0,001) za mehansko ventilacijo in smrt skupaj in skoraj 15-krat večje tveganje (HR 14,73; 95% CI 4,16–52,19; p < 0,001) za smrt v primerjavi s tistimi z večjimi ravnmi vitamina D; podobna razmerja so bila očitna tudi, ko so postavili mejo 25(OH)D pri 50 nmol/L (12).

Interventna raziskava z visokimi odmerki 25(OH)D je dramatično izboljšala izide pri bolnikih s COVID-19 pljučnico

Nedavno so objavili rezultate interventne randomizirane raziskave, kjer so 50 bolnikom s potrjeno COVID pljučnico dajali relativno visoke odmerke vitamina D (25(OH)D – calcifediola), 26 bolnikom pa ne. Polovica slednjih je potrebovala umetno predihavanje v enoti intenzivne terapije, dva sta umrla. V skupini, ki je prejemale 25(OH)D, pa je potreboval premestitev v intenzivno enoto le en bolnik, nihče ni umrl (13). Rezultati so prepričljivi, čeprav skupini nista bili izenačeni glede prisotnosti arterijske hipertenzije. Po uravnoteženju glede na hipertenzijo in sladkorno bolezen so ostali rezultati še vedno statistično močno značilni. Slabost študije je bila, da ni bila dvojno slepa in s placebom kontrolirana, in da niso merili ravni vitamina D.

Ugodni izid te interventne raziskave z vitaminom D lahko razložimo z védenjem, da vitamin D pri bolnikih z virusnimi okužbami dihal umirja pretirano vnetje v pljučih (citokinski vihar), ki je tako pogubno za nekatere bolnike s COVID-19. Številne druge interventne raziskave z vitaminom D še tečejo, rezultatov še ni.

Kakšni odmerki vitamina D so optimalni

Uveljavljeno je, da se v primeru odsotnosti UVB-inducirane biosinteze vitamina D lahko preskrbljenost z vitaminom D pri zdravih odraslih ohranja s prehranskim vnosom med 600 in 800 IU vitamina D (14, 15). Ob tem je potrebno izpostaviti, da to ne velja za posameznike, ki že imajo pomanjkanje vitamina D, ter da takšni odmerki zadoščajo za doseganje mejne vrednosti za preskrbljenosti za skeletne in mišične funkcije (50 nmol/L), ne pa tudi za doseganje višjih koncentracij serumskega 25(OH)D (npr. 75 nmol/L). Več raziskav ugotavlja, da so za ugodne učinke na imunski sistem in za druge zunajskeletne učinke vitamina D potrebne višje ravni 25(OH)D, kot za skeletne in mišične učinke. Tako so v skupini 198 zdravih opazovancev dvakrat manj zbolevali za virusnimi ARI in hitreje okrevali tisti, ki so imeli ravni 25(OH)D nad 95 nmol/L v primerjavi s tistimi, ki so imeli nižje ravni ($p < 0,0001$) (16). V retrospektivni raziskavi 14.108 oseb (*National Health and Nutrition Examination Survey*) so tisti z ravnimi 25(OH)D pod 75 nmol/L 58% pogosteje zbolevali za ARI (17). Nadomeščanje vitamina D v dnevni odmerkih 1.000 IE je pri preiskovancih, ki so imeli pred uvedbo vitamina D ravni 25(OH)D med 30 in 50 nmol/L, privedlo do zvečanja ravni nad 50 nmol/L po dveh mesecih pri 88%, vendar jih je 78% ostalo pod optimalno ravno 75 nmol/L. Tisti z večjim ITM so imeli manjši porast ravni vitamina D kot vitki.

Ker želimo doseči v čim krajšem času po okužbi s SARS CoV2 optimalne ravni 25(OH)D, da vitamin D zavre pretiran vnetni odziv, predlagamo zgoraj opisan režim polnjena zalog štiri dni z odmerki, ki bi jih sicer dajali enkrat tedensko, nato pa priporočamo, da se nadaljuje z 2.000 IE na dan, pri ljudeh z ITM nad 25 pa s 3.000 ali 4.000 IE. Toksična koncentracija 25(OH)D, ko se pojavi hiperkalcemija z značilnimi kliničnimi znaki, nefrokalcinozo, ledvičnimi kamni, je pri 375 nmol/L (18). To raven je praktično zelo težko doseči, z odmerki, ki jih priporočamo, praktično nikoli. V velikih multicentričnih interventnih študijah z vitaminom D ali placebo, kjer so dajali 5 let 2.000 IE holekalciferola na dan (VITAL), ali dve in pol leti 4.000 IE na dan (D2d študija) (19), niso opisali nobenih stranskih učinkov, ki bi bili posledica jemanja vitamina D v primerjavi s placebo skupino. Holekalciferol ima namreč zelo široko terapevtsko okno, saj je neaktiven, dokler ga ledvice ali druge celice (imunske, epiteljske) ne aktivirajo v hormon D v takšni meri, kot ga potrebujejo. Aktivacija v ledvicah je sistemsko nadzorovana z ravnjo serumskega kalcija, fosfata, s parathormonom, z FGF-23, z ravnijo kalcitriola, medtem ko je aktivacija v imunskih in epiteljskih celicah, v katerih nastali hormon D deluje avtokrino (se načeloma ne izloča v krvni obtok), odvisna le od ravni 25(OH)D. Čim višja je, tem bolj učinkoviti so zunajskeletni učinki vitamina D. Ciljna raven je nad 75 nmol/L, po nekaterih izsledkih nad 100 nmol/L (19).

Rutinsko nadomeščanje vitamina D v nekoliko višjih odmerkih so uvedli v protokole obravnave COVID bolnikov v več institucijah, tudi v Eastern Virginia Medical School – Medical Group Critical Care (20).

Kot zgornji varni dnevni odmerek vitamina D za zdrave odrasle po priporočilih EFSA in po vseh drugih smernicah je 100 mcg oz. 4.000 IE (21).

Previdnost pri nadomeščanju vitamina D

Granulomatoze kot so tuberkuloza, sarkoidoza, lepra: imunske celice v granulomih lahko nenadzorovano aktivirajo 25(OH)D v hormon D, katerega povečana koncentracija lahko povzroči hiperkalcemijo in ledvične kamne. Podobno lahko učinkujejo tudi nekatere limfomske celice. Zato pri bolnikih s temi boleznimi vitamin D nadomeščamo zelo previdno, varno je šele tedaj, ko je osnovna bolezen v remisiji.

Zaključek

Epidemija COVID je v neslutnem razmahu. Vitamin D ima dokazane mehanizme delovanja na imunski sistem, s katerimi lahko izboljša naravno odpornost proti akutnim virusnim (in drugim) okužbam dihal in z zaviranjem pretiranega vnetnega odgovora ublaži njihov potek. Prva interventna raziskava z večjimi odmerki vitamina D pri zbolelih s COVID pljučnico je pokazala izjemno ugodne učinke na potek bolezni.

V Sloveniji je jeseni in pozimi visoka prevalenca pomanjkanja in hudega pomanjkanja vitamina D, slednje še posebej pri najbolj ogroženi skupini za zbolevanje za COVID, oskrbovancih DSO.

Zato svetujemo nadomeščati vitamin D v obliki holekalciferola po zgornjih priporočilih, da zmanjšamo pojavljanje okužb s SARS CoV2, in da ublažimo potek bolezni COVID pri že okuženih bolnikih, še posebej pri tistih s pomanjkanjem vitamina D in dejavniki tveganja za hujši potek in slabe izide bolezni.

Dokument smo pripravili za čas pandemije COVID-19 zaradi odsotnosti nacionalnih priporočil; priporočamo, da se ga uporablja do sprejema nacionalnih smernic na tem področju.

Prof. dr. Marija Pfeifer, dr. med.,
specialistka internistka, endokrinologinja
Predsednica Združenja endokrinologov Slovenije pri SZD

Asist. Darko Siuka, dr. med.,
specialist gastroenterolog
Interna klinika UKC Ljubljana

Prof. dr. Igor Pravst, univ. dipl. kem.,
vodja raziskovalnega programa »Prehrana in javno zdravje« in raziskave Nutrihealth
Inštitut za nutricionistiko, Ljubljana

Prof. dr. Alojz Ihan, dr. med.
Predstojnik Katedre za mikrobiologijo in imunologijo
Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani

Ljubljana, 29. 10. 2020

Literatura

1. Hribar M et al. Nutrihealth Study: Seasonal Variation in Vitamin D Status Among the Slovenian Adult and Elderly Population. *Nutrients* 2020; 12, 1838; doi:10.3390/nu12061838
2. Martineau AR et al. Vitamin D supplementation to prevent acute respiratory infections: individual participant data meta-analysis. *Health Technology Assessment* 2019; 23(2), 1-43.
3. Bilezikian JP et al. Accepted Manuscript published as *European Journal of Endocrinology* EJE-20-0665.R1. Accepted for publication: 04-Aug-2020.
4. Xu J, Yang J, Chen J, Luo Q, Zhang Q and Zhang H. Vitamin D alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via regulation of the renin-angiotensin system. *Molecular Medicine Reports* 2017;16:7432-7438.
5. Dancer RC, Parekh D, Lax S, D'Souza V, Zheng S, Bassford CR, Park D, Bartis DG, Mahida R, Turner AM et al. Vitamin D deficiency contributes directly to the acute respiratory distress syndrome (ARDS). *Thorax*. 2015;70:617-624.
6. Laird E et al. Vitamin D and Inflammation: Potential Implications for Severity of Covid-19. *Irish Medical Journal* 2020;113(5):81
7. Meltzer DO, Best TJ, Zhang H et al. Association of Vitamin D Status and Other Clinical Characteristics With COVID-19 Test Results. *JAMA Network Open*. 2020;3(9):e2019722.
8. D'Avolio A, Avataneo V, Manca A et al. 25-Hydroxyvitamin D concentrations are lower in patients with positive PCR for SARS-CoV-2. *Nutrients* 2020;12(5):1359.
9. Merzon E, Tworowski D, Gorohovski A et al. Low plasma 25(OH) vitamin D level is associated with increased risk of COVID-19 infection: an Israeli population-based study. doi: 10.1111/FEBS.15495.

10. Merzon E, Tworowski D, Gorohovski A e tal. Low plasma 25(OH) vitamin D level is associated with increased risk of COVID-19 infection: an Israeli population-based study. doi: 10.1111/FEBS.15495
11. Carpagnano, G.E., Di Lecce, V., Quaranta, V.N. *et al.* Vitamin D deficiency as a predictor of poor prognosis in patients with acute respiratory failure due to COVID-19. *J Endocrinol Invest* (2020). <https://doi.org/10.1007/s40618-020-01370-x>
12. Radujkovic A, Hippchen T, Tiwari-Heckler S e tal. Vitamin D Deficiency and Outcome of COVID-19 Patients. *Nutrients* 2020;12:2757; doi:10.3390/nu12092757.
13. Entrenas Castillo M, Entrenas Costa LM, Vaquero Barrios JM, Alcalá Díaz JF, López Miranda J, Bouillon R, Quesada Gomez JM. Effect of calcifediol treatment and best available therapy versus best available therapy on intensive care unit admission and mortality among patients hospitalized for COVID-19: A pilot randomized clinical study. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2020;203:105751.
14. EFSA NDA Panel (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies), 2016. Scientific opinion on dietary reference values for vitamin D. *EFSA Journal* 2016; 14(10):4547, 145 pp. doi:10.2903/j.efsa.2016.4547
15. German Nutrition Society, New Reference Values for Vitamin D (D-A-CH). *Ann Nutr Metab* 2012;v60:241–246. doi: 10.1159/000337547
16. Sabetta JR, DePetrillo P, Cipriani RJ, Smardin J, Burns LA, Landry ML. Serum 25-Hydroxyvitamin D and the Incidence of Acute Viral Respiratory Tract Infections in Healthy Adults. *PLoS ONE* 2010;5(6): e11088. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011088>
17. Monlezun DJ, Bittner EA, Christopher KB, Camargo CA, Quraishi SA. Vitamin D status and acute respiratory infection: cross sectional results from the United States National Health and Nutrition Examination Survey, 2001-2006. *Nutrients.* 2015;7:1933-1944.
18. Pilz S, Zittermann A, Trummer C et al. Vitamin D testing and treatment: a narrative review of current evidence *Endocrine Connections* 2019; 8, R27–R43.
19. Bess Dawson-Hughes B, Staten MA, Knowler WC e tal. Intratrial Exposure to Vitamin D and New-Onset Diabetes Among Adults With Prediabetes: A Secondary Analysis From the Vitamin D and Type 2 Diabetes (D2d) Study. *Diabetes Care* Publish Ahead of Print, published online October 5, 2020. [/doi.org/10.2337/dc20-1765](https://doi.org/10.2337/dc20-1765).
20. https://www.evms.edu/covid-19/covid_care_for_clinicians/ dostonp 26.10.2020
21. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA); Scientific Opinion on the Tolerable Upper Intake Level of vitamin D. *EFSA Journal* 2012; 10(7):2813. [45 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2012.2813.