

VERSUCHSTIERE, MATERIAL UND METHODEN

3.1 Versuchstiere

Acht weibliche Rinder der Rasse „Deutsche Schwarzbunte“ mit einem Anteil an Holstein Friesien von mindestens 87,5% standen für diese Studie zur Verfügung. Die Kühe waren nicht laktierend, nicht trächtig und konnten nach der üblichen klinischen Untersuchung als gesund beurteilt werden. Das Alter sowie das Körpergewicht der Versuchstiere ist der **Tabelle 5** zu entnehmen; alle Tiere hatten mindestens drei vorangegangene Laktationen. Um eine Kontrolle über die Gewichtsentwicklung zu erhalten, wurden die Kühe über den gesamten Versuchszeitraum alle drei Wochen gewogen. Aufgestallt waren die Tiere in Mittellangständen mit Kettenanbindung und Fressfanggittern. Der Boden der Standplätze war mit Stroh bedeckt. Allen acht Versuchstieren wurde vor Beginn der Versuche eine Eingewöhnungszeit von mindestens drei Wochen zugestanden.

Tab. 5: Charakterisierung der Versuchstiere anhand von Alter und Gewicht zu Versuchsbeginn

	Kuh 1	Kuh 2	Kuh 3	Kuh 4	Kuh 5	Kuh 6	Kuh 7	Kuh 8
Alter [a]	7	13	6	7	8	6	8	5
Gewicht [kg]	670	575	716	825	765	742	646	594

3.2 Fütterung der Versuchstiere

Die Kühe wurden rationiert mit Kraftfutter (**Tab. 6**) und Heu (**Tab. 7**) gefüttert, Wasser stand *ad libitum* zur Verfügung. Die individuelle Fütterung wurde durch Einzelfressplätze gesichert. Die tägliche Ration bestand aus 2 kg Kraftfutter und 8 kg Heu. Die Fütterung erfolgte in zwei äquivalenten Portionen täglich um 7 Uhr und 14 Uhr. Bei dem Kraftfutter handelte es sich um ein handelsübliches Rinderkraftfutter, dem werkseitig 7200 IU Vitamin A, 1800 IU Vitamin D₃, 0,50 mg Selen und 10 mg Kupfer zugesetzt wurden. Die Zusammensetzung des Kraftfutters wurde über seine mitgelieferte Inhaltsstoffliste sowie drei Stichproben, die durch das Analytiklabor für Landwirtschaft und Umwelt in Parchim (Blgg Deutschland) analysiert wurden, verifiziert. Aufgrund mangelnder Lagerkapazität war es nicht möglich, Heu einer einzigen Charge über den gesamten Versuchszeitraum zu füttern. So wurde jeder verfütterten Heucharge eine Probe entnommen und diese zur Analyse der relevanten Futterinhaltsstoffe in das oben genannte Institut gesandt.

Futterkomponente	Min	Max	Mittel
Rohasche [g/kg TS]	64,80	81,54	73,78
Rohprotein [g/kg TS]	188,83	216,00	204,40
Rohfaser [g/kg TS]	82,68	115,52	100,73
Calcium [g/kg TS]	8,40	10,60	9,39
Phosphat [g/kg TS]	6,09	7,19	6,55
Magnesium [g/kg TS]	3,54	3,59	3,57
Kalium [g/kg TS]	9,39	13,82	11,95
Natrium [g/kg TS]	1,56	5,04	3,34
Chlorid [g/kg TS]	2,94	7,25	5,46
Schwefel [g/kg TS]	1,16	2,04	1,49
DCAB [meq/kg TS]	149,42	224,00	191,29

Tab. 6: Analysenwerte des Kraftfutters, bezogen auf ein Kilogramm Trockensubstanz (TS). *Dietary-cation-anion-balance* berechnet als $DCAB [meq/kg TS] = (Na+K) - (Cl+S)$

Futterkomponente	Min	Max	Mittel
Rohasche [g/kg TS]	51,00	86,00	70,57
Rohprotein [g/kg TS]	71,00	174,00	108,29
Rohfaser [g/kg TS]	252,00	359,00	331,86
Calcium [g/kg TS]	2,45	8,87	6,02
Phosphat [g/kg TS]	1,74	3,38	2,40
Magnesium [g/kg TS]	0,21	7,07	2,39
Kalium [g/kg TS]	14,09	28,34	19,03
Natrium [g/kg TS]	0,10	1,22	0,46
Chlorid [g/kg TS]	2,61	16,60	7,46
Schwefel [g/kg TS]	0,38	1,64	1,10
DCAB [meq/kg TS]	7,20	462,00	227,17

Tab. 7: Analysenwerte des Heus, bezogen auf ein Kilogramm Trockensubstanz (TS). *Dietary-cation-anion-balance* berechnet als $DCAB [meq/kg TS] = (Na+K) - (Cl+S)$

3.3 Versuchsgestaltung

Ziel der Tierversuche war, den Einfluss der oralen Supplementierung von $25(\text{OH})\text{D}_3$ auf den Calciumstoffwechsel des Rindes näher zu charakterisieren. Die erste Versuchsserie diente der Ermittlung der Dosis-Wirkungskurve. Anschließende Versuchsserien wurden als Calciummobilisierungsversuche konzipiert.

3.3.1 Dosis-Wirkungskurve

Die Versuche wurden von Januar bis April des Jahres 2004 durchgeführt. Zur Ermittlung der Dosis-Wirkungskurve standen vier der acht Versuchstiere zur Verfügung. Der Versuchsaufbau entsprach dem Muster des lateinischen Quadrates mit vier sich wiederholenden Einheiten.

Jede Einheit setzte sich aus zwei aufeinander folgenden Zeitabschnitten zusammen. In einem zehntägigen Supplementierungszeitraum erhielten die Kühe zusammen mit der Grundration eine bestimmte Menge $25(\text{OH})\text{D}_3$, während in einer anschließenden 21-tägigen Ruhephase nur die Grundration verfüttert wurde. Diese Phase wurde eingehalten, um *carry-over*-Effekte zu vermeiden.

Während der ersten zehntägigen Supplementierungsphase betrug die tägliche Dosis für Kuh 1 10 mg $25(\text{OH})\text{D}_3$, für Kuh 2 20 mg $25(\text{OH})\text{D}_3$, für Kuh 3 40 mg $25(\text{OH})\text{D}_3$, während Kuh 4 keine $25(\text{OH})\text{D}_3$ -Supplementierung erhielt. In den anschließenden drei Supplementierungsphasen wechselten die Tagesdosierungen dem Muster des lateinischen Quadrates entsprechend zyklisch, so dass jedes Tier jede Dosierung einmal zehn Tage lang erhielt (**Tab. 8**). Die jeweilige Kuh, die kein $25(\text{OH})\text{D}_3$ erhielt, diente als Kontrolltier.

Tab. 8: Tägliche supplementierte Menge $25(\text{OH})\text{D}_3$ in mg für die Kühe 1, 2, 3 und 4 der Dosis-Wirkungskurve im jeweiligen zehntägigen Supplementierungszeitraum (SZ).

SZ	Kuh 1	Kuh 2	Kuh 3	Kuh 4
1	10,0	20,0	40,0	0,0
2	20,0	40,0	0,0	10,0
3	40,0	0,0	10,0	20,0
4	0,0	10,0	20,0	40,0

Die Tagesdosis 25(OH)D₃ wurde in das Kraftfutter eingemischt und zu gleichen Teilen auf die zwei Fütterungen verteilt. Um die Wirkung der 25(OH)D₃-Supplementierung auf ausgewählte Blutparameter zu erfassen, wurden Blutproben aus der Schwanzvene entnommen. Die Tage vor und während eines Supplementierungszeitraumes, an denen Blutproben gesammelt wurden, sind in **Tabelle 9** gekennzeichnet. Die jeweilige Probenentnahme erfolgte an diesen Tagen um ca. 9 Uhr.

Tab. 9: Schema der Blutprobenentnahme vor, während und nach einem Supplementierungszeitraum (SZ). Die Tage, an denen Blutproben (BP) entnommen wurden, sind mit einem x markiert. An den mit einem * gekennzeichneten Tag fand die Blutentnahme nur während der Calciummobilisierung statt.

	Tage vor SZ				SZ										Nach SZ	
Tag	-4	-3	-2	-1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
BP	x		x		x	x	x	x*	x		x			x	x*	x*

3.3.2 Calciummobilisierung

Die aus der Dosis-Wirkungskurve ermittelten Dosierungen wurden in den Calciummobilisierungsversuchen auf ihre Wirksamkeit überprüft. Der Aufbau der Mobilisierungsversuche entsprach im zeitlichen Ablauf der Dosis-Wirkungskurve, d.h. einer zehntägigen Supplementierungsphase folgten 21 Tage Ruhe. Die erste Versuchsserie fand von Mai bis August 2004 statt und wurde den Versuchen der Dosis-Wirkungskurve direkt angeschlossen. Anschließend gab es einen Wechsel der Versuchstiere und die Calciummobilisierungsversuche wurden mit vier weiteren Kühen durchgeführt. Auf eine erneute Durchführung der Dosis-Wirkungskurvenversuche wurde, ihrer Natur als Vorversuch entsprechend, verzichtet. Diese zweite Versuchsserie dauerte von Dezember 2004 bis April 2005. Während der Supplementierungsphasen erhielten die Kühe 15 mg bzw. 40 mg 25(OH)D₃ pro Tag, während eine Kuh als Kontrolltier kein 25(OH)D₃ erhielt und das vierte Tier ohne weitere Manipulation pausierte (lateinisches Quadrat, **Tab. 10** und **Tab. 11**).

Tab. 10: Täglich supplementierte Menge 25(OH)D₃ in mg für die Kühe 1, 2, 3 und 4 der ersten Versuchsserie der Calciummobilisierung im jeweiligen zehntägigen Supplementierungszeitraum (SZ). Die in einem Supplementierungszeitraum pausierende Kuh ist in der Tabelle durch x gekennzeichnet.

SZ	Kuh 1	Kuh 2	Kuh 3	Kuh 4
1	15,0	40,0	0,0	x
2	40,0	0,0	x	15,0
3	0,0	x	15,0	40,0
4	x	15,0	40,0	0,0

Tab. 11: Täglich supplementierte Menge 25(OH)D₃ in mg für die Kühe 1, 2, 3 und 4 der zweiten Versuchsserie der Calciummobilisierung im jeweiligen zehntägigen Supplementierungszeitraum (SZ). Die in einem Supplementierungszeitraum pausierende Kuh ist in der Tabelle durch x gekennzeichnet.

SZ	Kuh 5	Kuh 6	Kuh 7	Kuh 8
5	15,0	40,0	0,0	x
6	40,0	0,0	x	15,0
7	0,0	x	15,0	40,0
8	x	15,0	40,0	0,0

Im Gegensatz zu den Versuchen der Dosis-Wirkungskurve erhielten die Versuchstiere am dritten und zehnten Tag des Supplementierungszeitraumes eine Infusion mit Dinatrium-Ethylen-Diamintetraacetat, Na₂EDTA (AppliChem). Zu Beginn eines Versuchstages wurde den aktiven Versuchstieren zunächst eine Venenverweilkanüle (MT 8 cm, Braun) in beide Jugularvenen gelegt. Anschließend erhielten die Kühe mindestens eine Stunde Ruhe ohne weitere Manipulation. Eine halbe Stunde vor Infusionsbeginn wurde eine Blutprobe entnommen. Die linke Kanüle diente der Blutprobenentnahme, die rechte der Infusion. Verwendet wurde eine 4,7 %ige Na₂EDTA-Lösung, die durch Beigabe von Natriumhydroxid (AppliChem) mit einem pH-Wert von 7 angesetzt wurde. Jedes Tier erhielt 1 ml der Infusionslösung pro Kilogramm Körpergewicht über drei Stunden. Die Lösung wurde unter aseptischen Bedingungen bei konstanter Rate mit Hilfe einer volumetrischen Pumpe (MCM 500) infundiert. Die Blutprobenentnahme erfolgte mit dem Zeitpunkt des Infusionsbeginns in der ersten Stunde in Abständen von 15 Minuten, danach in halbstündigen Intervallen bis zum Ende der dreistündigen Infusion. Ein analoges Schema wurde für die Blutproben nach Beendigung der Infusion gewählt. Zusätzlich wurden Proben fünf und sieben Stunden nach Infusionsende entnommen.

Die Kühe standen über den gesamten Zeitraum der Blutprobenentnahme unter Beobachtung. Zeigte ein Versuchstier klinische Anzeichen der Hypocalcämie (abwechselnde Entlastung der Hintergliedmaße, fibrilläre Muskelzuckungen in Schultergegend und Flanke), wurde die Infusion vorzeitig abgebrochen. Die linke Venenverweilkanüle wurde zwischen den Blutprobenentnahmen mit isotonischer Kochsalzlösung (Braun) gefüllt, der 100 IU/ml Heparin (Heparin-Calcium-20000-ratiopharm) zugesetzt wurde, um diese durchgängig zu halten. Nach der letzten Blutprobenentnahme bzw. nach Infusionsende wurde die entsprechende Venenverweilkanüle wieder entfernt, um die Gefahr von Venenirritationen möglichst gering zu halten.

Mit Ausnahme von Tag 3 und 10 erfolgten Blutprobenentnahmen in einem Supplementierungszeitraum entsprechend den Versuchen der Dosis-Wirkungskurve (Abb. 4). Weitere Proben wurden am Tag 4 und 24 h und 48 h nach Beendigung der Supplementierung gesammelt (Tag 11 und 12, in **Tab. 9** mit * gekennzeichnet).

3.4 Blutproben

3.4.1 Aufbereitung und Lagerung der Blutproben

Bei jeder Blutprobenentnahme wurden 10 ml venöses Blut mit Hilfe von Serumröhrchen (Röhrchen für Serum, 10 ml; Fa. Kabe Labortechnik) gesammelt. Das Blut wurde nach der Entnahme auf Eis zwischengelagert und nach vollständiger Koagulation 10 min bei einer Beschleunigung von 4000 g zentrifugiert (Laborfuge 400, Heraeus Instruments). Das so gewonnene Serum wurde in Probenröhrchen (Reaktionsgefäße, 2 ml, Biozym) bei -18 °C bis zur Analyse tiefgefroren.

3.4.2 Serumanalyse

Die Bestimmung von Calcium, Phosphat und Magnesium im Serum des Dosis-Wirkungskurvenversuchs und der ersten Versuchsserie der Calciummobilisierung erfolgte im Institut für Veterinärmedizinische Diagnostik in Berlin Steglitz. Die Proben der zweiten Versuchsserie wurden im Labor der Rinderklinik der Tierärztlichen Hochschule Hannover analysiert.

Die Messung der Konzentration von ionisiertem Calcium wurde im Labor des Institutes für Veterinär-Physiologie, Freie Universität Berlin, vorgenommen. Die Analyse des Vitamin D-Metaboliten 25(OH)D₃ erfolgte im Analytical Research Center der Firma DSM Nutritional Products in Basel. Die Analysemethoden zur Bestimmung der Elektrolyte sowie die verwendeten Laborgeräte und deren signifikante Daten sind in den **Tabellen 12 - 15** zusammengestellt.

Tab. 12: Hinsichtlich der im Institut für Veterinärmedizinische Diagnostik (Berlin Steglitz) untersuchten Probenparameter verwendete Analysemethoden, Laborgeräte mit Angabe des entsprechenden Variationskoeffizienten.

Parameter	Analysemethode	Verwendetes Laborgerät	Variationskoeffizient
Gesamtcalcium	Kresolphalein- Komplex	Roche/Hitachi MODULAR, Fa. Roche Diagnostics	2,25%
Phosphat	Ammonium-molybdatkomplex		2,72%
Magnesium	Flammenabsorptionsspektrometrie	Flammen AAS 4100 plus, Fa. Perkin Elmer	2,58%

Tab. 13: Hinsichtlich der im Institut für Veterinär-Physiologie (Freie Universität Berlin) untersuchten ionisierten Calciumproben verwendete Analysemethode, Laborgerät mit Angabe des entsprechenden Variationskoeffizienten.

Parameter	Analysemethode	Verwendetes Laborgerät	Variationskoeffizient
Ionisiertes Calcium	Ionensensitive Elektrode	Electrolyte 8 Analyzer, Fa. NOVA Biomedical	2,0%

Tab. 14: Hinsichtlich der im Labor der Rinderklinik der Tierärztlichen Hochschule Hannover untersuchten Probenparameter verwendete Analysemethoden, Laborgeräte mit Angabe des entsprechenden Variationskoeffizienten.

Parameter	Analysemethode	Verwendetes Laborgerät	Variationskoeffizient
Gesamtcalcium	Photometrischer Farbtest unter Verwendung von Methylthymolblau	Cobas Mira Plus Fa. Hoffmann La Roche & Co. AG, Diagnostica, Basel Schweiz	1,9%
Phosphat	Photometrischer UV-Test		2,46%
Magnesium	Photometrischer Farbtest unter Verwendung von Xylidylblau		3,49%

Tab. 15: Hinsichtlich der im Analytical Research Center (Basel) untersuchten 25(OH)D₃-Proben verwendete Analysemethode und Laborgerät.

Parameter	Analysemethode	Verwendetes Laborgerät
25(OH)D ₃	<i>High-Pressure-Liquid-Chromatography-Massenspektrometrie</i>	Agilent 1100 LC/MSD-System mit APCI-Quelle

3.5 Statistische Auswertung

Bei den aufgeführten Mittelwerten handelt es sich um arithmetische Mittelwerte. Zusätzlich wurde der jeweilige Standardfehler (S.E.M.) angegeben.

Die graphischen Darstellungen wurden mit dem Computerprogramm SigmaPlot Version 8.0 der Firma SPSS Inc. erstellt.

Dargestellt sind die absoluten Serumelektrolytkonzentrationen mit entsprechendem Referenzwert sowie die relativen Δ Elektrolytkonzentrationen. Aufeinanderfolgende Datenpunkte wurden zur Veranschaulichung interpoliert.

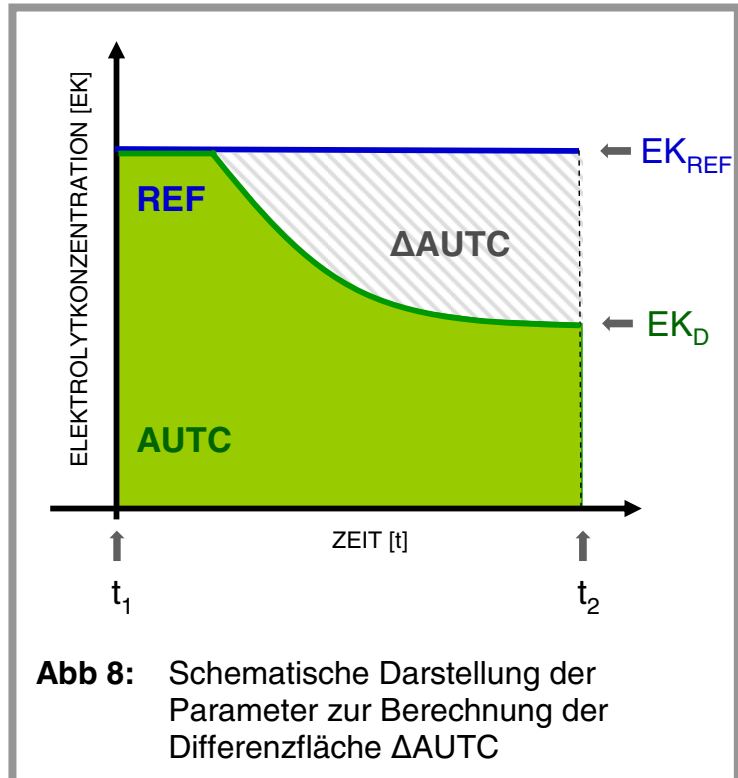
Um neben der graphischen Darstellung einen aussagekräftigen Zahlenwert hinsichtlich des mittleren Verhaltens des Elektrolytspiegels in einem Zeitraum an der Hand zu haben, wird an dieser Stelle eine Größe, der Elektrolytkoeffizient $\varepsilon_{\text{Elektrolyt}}$, eingeführt.

Dieser setzt die Änderung der Elektrolytkonzentration (EK) innerhalb eines Zeitraumes in Relation zu einem geeignet gewählten Referenzwert. Der Referenzwert darf dabei nicht niedriger als der Wert der Elektrolytkonzentration zu Beginn des betrachteten Zeitintervalls gewählt werden.

Dazu wird zunächst die *Area under the curve* (AUTC) für die Datenkurve EK_D und das Referenzniveau REF in dem betrachteten Zeitintervall bestimmt.

$$(1) \quad AUTC = \int_{t_1}^{t_2} EK_D$$

$$(2) \quad REF = \int_{t_1}^{t_2} EK_{REF}$$



Anschließend erfolgt die Bestimmung der Differenzfläche $\Delta AUTC$.

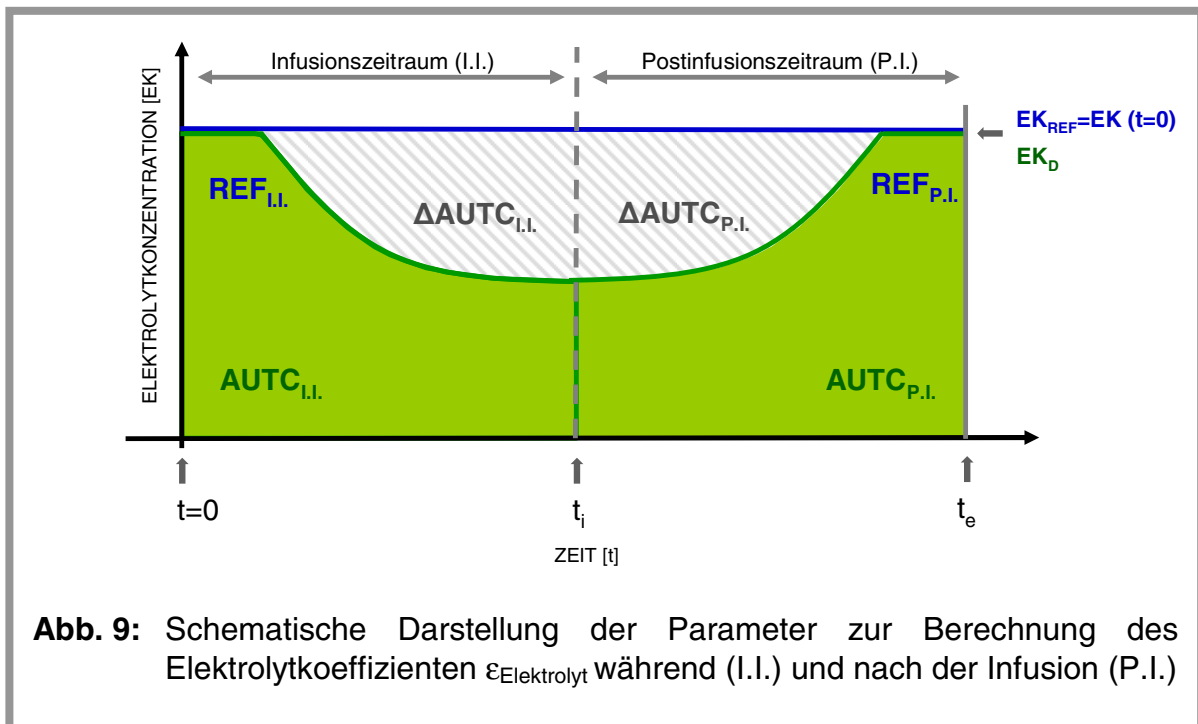
$$(3) \quad \Delta AUTC = REF - AUTC$$

Der Elektrolytkoeffizient $\varepsilon_{\text{Elektrolyt}}$ ergibt sich nun als dimensionsloses Verhältnis der Differenzfläche $\Delta AUTC$ zur Referenzfläche REF .

$$(4) \quad \varepsilon_{\text{Elektrolyt}} = \frac{\Delta AUTC}{REF}$$

Dabei indiziert $\varepsilon_{\text{Elektrolyt}} = 0$ keine Änderung der Elektrolytkonzentration, während $\varepsilon_{\text{Elektrolyt}} > 0$ einen Absinken und entsprechend ein $\varepsilon_{\text{Elektrolyt}} < 0$ ein Anstieg bedeutet. Ein $\varepsilon_{\text{Elektrolyt}} \geq 1$ ist physiologisch nicht möglich, da dies einen Abfall der Elektrolytkonzentration unter Null bedingen würde.

Für den konkreten Fall der durchgeführten Calciummobilisierungsversuche wurden der Zeitraum während der Infusion I.I. und der sich anschließende Zeitraum P.I. bis zum Ende der einzelnen Versuche sowohl für die Mittelwerte als auch für die einzelnen Versuchstiere getrennt ausgewertet. Für die Bestimmung der entsprechenden Calciumkoeffizienten $\varepsilon_{\text{Calcium, I.I.}}$ und $\varepsilon_{\text{Calcium, P.I.}}$ wurde das Referenzniveau für beide Zeiträume auf das normierte Calciumniveau zu Beginn der Infusion festgelegt (**Abb 9**).



Mit Gleichungen 5 – 8 ergeben sich damit für die Calciumkoeffizienten $\varepsilon_{\text{Calcium, I.I.}}$ und $\varepsilon_{\text{Calcium, P.I.}}$ während und nach der Infusion.

<p>(5) $AUTC_{I.I.} = \int_{t=0}^{t_i} EK_D$</p> <p>(6) $REF_{I.I.} = \int_{t=0}^{t_i} EK_{REF}$ $= EK(t=0) \cdot t_i$</p> <p>(7) $\Delta AUTC_{I.I.} = REF_{I.I.} - AUTC_{I.I.}$</p> <p>(8) $\varepsilon_{\text{Calcium, I.I.}} = \frac{\Delta AUTC_{I.I.}}{REF_{I.I.}}$</p>		<p>$AUTC_{P.I.} = \int_{t_i}^{t_e} EK_D$</p> <p>$REF_{P.I.} = \int_{t_i}^{t_e} EK_{REF}$ $= EK(t=0) \cdot (t_e - t_i)$</p> <p>$\Delta AUTC_{P.I.} = REF_{P.I.} - AUTC_{P.I.}$</p> <p>$\varepsilon_{\text{Calcium, P.I.}} = \frac{\Delta AUTC_{P.I.}}{REF_{P.I.}}$</p>
---	--	---

Rechenbeispiel:

Die Berechnung des Calciumkoeffizienten erfolgt exemplarisch für die Kontrollgraphen der Kuh 1 am Tag 3 der Calciummobilisierungsversuche (siehe **Abb. 26**). Um den Calciumkoeffizienten während der Infusion $\varepsilon_{\text{Calcium, I.I.}}$ zu bestimmen, erfolgt zunächst die Bestimmung der *AUTC* des abfallenden Graphen der Calciumkonzentration vom Zeitpunkt $t = 0$ min bis Ende der Infusion zum Zeitpunkt $t = 180$ min. Im Beispiel beträgt die $AUTC_{I.I.}$ 369,08 (mmol x min)/l (siehe **Abb. 10**; grüne Fläche). Die Calciumkonzentration zum Zeitpunkt $t = 0$ min des einzelnen Graphen wird ferner als Referenzniveau festgelegt (hier 2,50 mmol/l) und es folgt die Bestimmung der Fläche unter dem Referenzniveau für den oben genannten Zeitabschnitt (hier: $REF_{I.I.} = 450,00$ (mmol x min)/l; Fläche unter der blauen Linie). Durch Subtraktion „der Fläche unter dem Graphen“ von der „Fläche unter dem Referenzniveau“ errechnet sich die Differenzfläche $\Delta AUTC_{I.I.} = 80,92$ (mmol x min)/l (schraffierte Fläche). Abschließend wird der Calciumkoeffizient berechnet, indem die Differenzfläche durch das Integral der Referenzgrenze dividiert wird. Dadurch heben sich die gleichartigen Einheiten in

Zähler und Nenner auf und man erhält eine dimensionslose Größe. Für dieses Beispiel berechnet sich ein Calciumkoeffizient von $\epsilon_{\text{Calcium,I.I.}} = 0,18$.

Die Ermittlung des Calciumkoeffizienten nach der Infusion $\epsilon_{\text{Calcium,P.I.}}$ erfolgt in analoger Weise für den Zeitraum der sieben Stunden nach Infusionsende. Zur Veranschaulichung des Verhaltens der Elektrolytkonzentrationen während und nach der Infusion sind die ermittelten Graphen in einem Diagramm dargestellt. Aus diesem Grund entspricht der Zeitpunkt $t = 180 \text{ min}$ während der Infusion bzw. Infusionsende dem Zeitpunkt $t = 0$ nach der Infusion. Der Calciumkoeffizient $\epsilon_{\text{Calcium,P.I.}}$ wird dementsprechend mit Hilfe der Graphen und ihrer darunter liegenden Flächen für das Zeitintervall von $t = 0 \text{ min}$ nach (!) der Infusion bis $t = 420 \text{ min}$ berechnet. Für das Rechenbeispiel wurde ein Calciumkoeffizient von $\epsilon_{\text{Calcium,P.I.}} = 0,12$ bestimmt

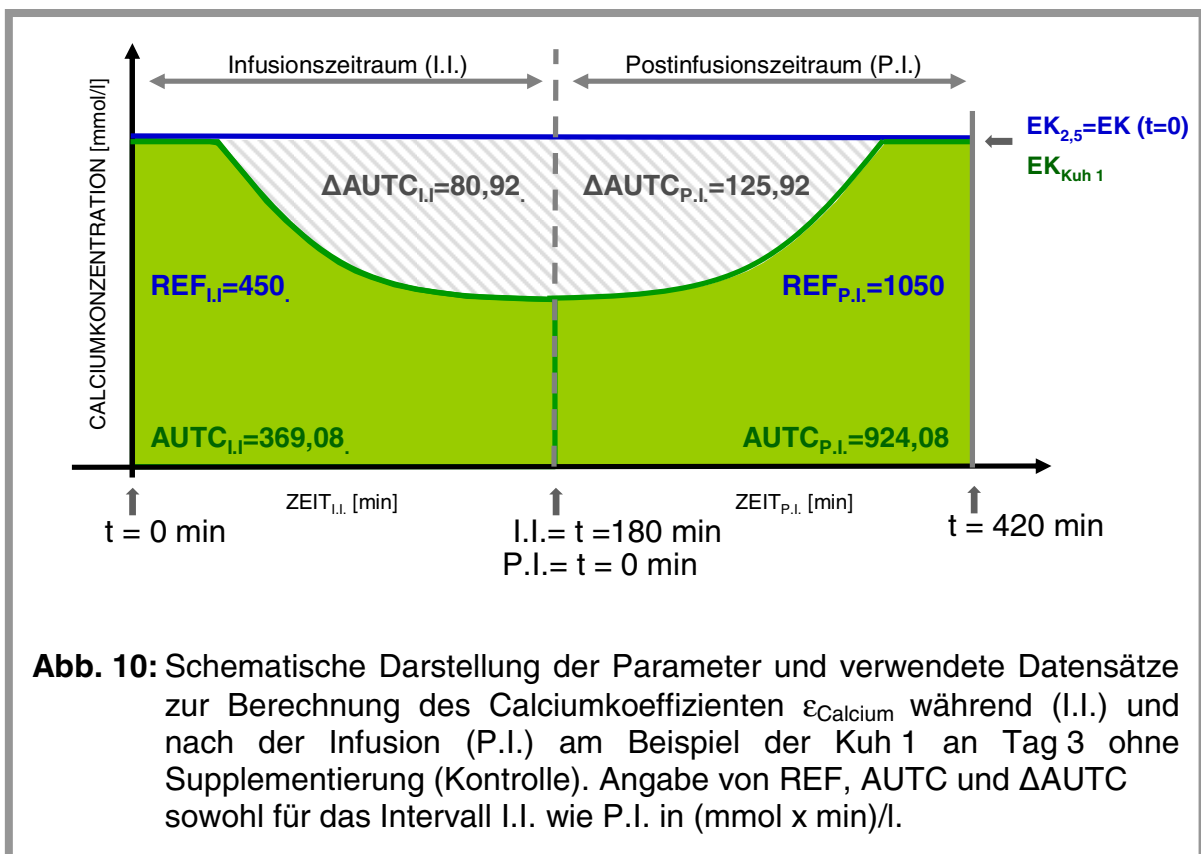


Abb. 10: Schematische Darstellung der Parameter und verwendete Datensätze zur Berechnung des Calciumkoeffizienten $\epsilon_{\text{Calcium}}$ während (I.I.) und nach der Infusion (P.I.) am Beispiel der Kuh 1 an Tag 3 ohne Supplementierung (Kontrolle). Angabe von REF, AUTC und $\Delta AUTC$ sowohl für das Intervall I.I. wie P.I. in (mmol x min)/l.

Um Aussagen über Zusammenhänge von zwei Serumparametern treffen zu können, wurde der Produkt-Moment-Korrelationskoeffizient r nach Pearson errechnet.

Für r gilt $-1 \leq r \leq 1$.

Die statistische Bearbeitung der Daten erfolgte mit SPSS 12.0 der Firma SPSS Inc. unter Windows. Als statistischer Test wurde der Rangsummentest nach Wilcoxon verwendet. Dieser Test ist ein nicht-parametrischer Test zum Vergleich zweier verbundener Stichproben quantitativer Merkmale. Berechnet wird dabei die Prüfgröße aus den Rangzahlen der Differenzen der Stichprobenwerte. Er wurde hier im Sinne einer explorativen Statistik angewandt, um Hypothesen zu generieren. Bei einer Verallgemeinerung ist zu berücksichtigen, dass die acht Versuchstiere nicht als repräsentatives Abbild einer Grundgesamtheit gesehen werden können. Für die Testentscheidung wurde ein Signifikanzniveau von 5 % festgelegt.