

Aus dem

Forensisch Toxikologischen Centrum GmbH

Geschäftsführer: Prof. Dr. rer. nat. Frank Mußhoff

Einsatz der Einzelhaaranalytik in der forensischen Toxikologie

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Naturwissenschaften

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Christopher Wiedfeld

aus

Marl

2024

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Betreuer: Prof. Dr. rer. nat. Frank Mußhoff

Zweitgutachterin: Prof. Dr. rer. nat. Tanja Bange

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 08. Mai 2025

Affidavit



LUDWIG-
MAXIMILIANS-
UNIVERSITÄT
MÜNCHEN

Promotionsbüro
Medizinische Fakultät



Eidesstattliche Versicherung

Wiedfeld, Christopher

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

Einsatz der Einzelhaaranalytik in der forensischen Toxikologie

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 19.05.2025

Ort, Datum

Christopher Wiedfeld

Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand

Inhaltsverzeichnis

Affidavit.....	3
Inhaltsverzeichnis	4
Abkürzungsverzeichnis	6
Publikationsliste.....	7
1. Beitrag zu den Veröffentlichungen.....	9
1.1 Veröffentlichung 1	9
1.2 Veröffentlichung 2	10
1.3 Veröffentlichung 3 (Anhang A)	11
1.4 Veröffentlichung 4 (Anhang B)	12
2. Einleitung.....	13
2.1 Forensische Toxikologie.....	13
2.2 Nachweisbarkeit von Fremdstoffen in biologischen Matrices	13
2.3 Das menschliche Haar	14
2.3.1 Morphologie und Aufbau	14
2.3.2 Haarwachstum	15
2.3.3 Einlagerung von Fremdschubstanzen.....	16
2.4 Forensisch-toxikologische Haaranalytik	17
2.4.1 Entnahme und Aufbereitung von Haarproben	17
2.4.2 Instrumentelle Analytik	18
2.4.3 Interpretation und Grenzen von routinemäßig durchgeführten Haaranalysen.....	20
2.4.4 Einzelhaaranalytik	21
2.5 K.-o.-Mittel-Fälle – Prävalenz, Substanzen und Nachweis.....	22
2.6 Gamma-Hydroxybuttersäure – ein kritischer Analyt	23
2.7 Zielsetzung.....	24
3. Zusammenfassung.....	26
4. Abstract (English)	28
5. Veröffentlichung 1.....	30
6. Veröffentlichung 2.....	31
7. Literaturverzeichnis	32
Anhang A: Veröffentlichung 3.....	36
Anhang B: Veröffentlichung 4.....	37

Anhang C: Beispielbilder zur Einzelhaaranalytik	38
Danksagung.....	41

Abkürzungsverzeichnis

BtMG	Betäubungsmittelgesetz
Da	Dalton (atomare Masseneinheit)
DFC	drug facilitated crime
DFSA	drug facilitated sexual assault
ESI	Elektrospray-Ionisation
GHB	Gamma-Hydroxybuttersäure
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
m/z	Masse-zu-Ladung-Verhältnis
MRM	Multiple-Reaction-Monitoring
MS	Massenspektrometrie
MS/MS	Tandem-Massenspektrometrie
StGB	Strafgesetzbuch
StVG	Straßenverkehrsgesetz

Publikationsliste

Publikationen in Fachzeitschriften und Büchern:

1. Franz T, Wiedfeld C, Skopp G, Musshoff F (2024) Opiode – Nicht überprüfte Einnahme oder nicht entdeckter Fehlgebrauch bei Abstinenzkontrollen im Rahmen der Fahreignungsdiagnostik. Blutalkohol (eingereicht)
2. Wiedfeld C, Franz T, Skopp G, Musshoff F (2023) Z-Substanzen vs. Benzodiazepine – Prävalenz nicht überprüfter Medikation oder nicht entdeckten Missbrauchs bei chemisch-toxikologischen Abstinenzkontrollen im Rahmen der Fahreignungsdiagnostik. Blutalkohol 60(3):86-92.
3. Wiedfeld C, Musshoff F (2023) Drug testing in hair for the estimation of the time since death. In: Madea B (ed.) Estimation of the Time Since Death (4. Ed.), CRC Press, Boca Raton, FL, pp 371-373.
4. Gleich S, Krüger J, Fels H, Skopp G, Musshoff F, Roider G, Schöpfer J, Graw M, Wiedfeld C (2021) Medikamente als freiheitsentziehende Maßnahme in stationären Pflegeeinrichtungen? Eine kritische Analyse. Rechtsmedizin 31(2):101-109.
5. Gleich S, Skopp G, Fels H, Wiedfeld C, Mußhoff F, Graw M, Schäffer B (2021) Polypharmazie als Risiko: Eine rechtsmedizinische Untersuchung verstorbener Altenheimbewohner. Rechtsmedizin 31(2):91-100.
6. Wiedfeld C, Krueger J, Skopp G, Musshoff F (2019) Comparison of concentrations of drugs between blood samples with and without fluoride additive – important findings for Δ -9-tetrahydrocannabinol and amphetamine. Int J Legal Med 133(1):109-116.
7. Sydow K, Wiedfeld C, Musshoff F, Madea B, Tschoepe D, Stratmann B, Hess C (2018) Evaluation of 1,5-anhydro-d-glucitol in clinical and forensic urine samples. Forensic Sci Int 287:88-97.
8. Wiedfeld C, Krüger J, Musshoff F (2018) Vergleich der Drogenkonzentration (§ 24a StVG) in Blutproben mit und ohne Zusatz von Fluorid. Z. f. Verkehrssicherheit 64(2):185.

Vorträge und Poster:

1. Wiedfeld C (2023) Einzelhaaranalytik. Vortrag im Rahmen des GTFCh Journal-Clubs, 02. Juni 2023, online.
2. Wiedfeld C, Skopp G, Musshoff F (2023) Single hair analysis for GHB - Development, validation, and application of an LC-MS/MS method. Vortrag auf dem XXIII. GTFCh-Symposium, 30. März – 01. April 2023 in Mosbach.
3. Wiedfeld C (2022) Einsatz der Einzelhaaranalytik in der forensischen Toxikologie – Wozu die Haarspalterei? Vortrag auf dem 5. Symposium „Fachübergreifende moderne Analytik – innovative Nutzung analytischer Verfahren“, 23. September 2022 in Holzkirchen.
4. Wiedfeld C, Skopp G, Musshoff F (2022) Single hair analysis – Application to a doping case. Vortrag auf dem 26. jährlichem Meeting der „Society of Hair Testing“ (SoHT), 08. – 10. Juni 2022 in Verona, Italien.

5. Wiedfeld C, Franz T, Skopp G, Musshoff F (2021) Prävalenz nicht überprüfter Medikation oder nicht entdeckten Missbrauchs bei Abstinenzkontrollen durch Haarproben im Rahmen der Fahreignungsdiagnostik. Vortrag auf der 100. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 13. – 16. September 2021 in München.
6. Wiedfeld C, Skopp G, Musshoff F (2021) Einzelhaaranalytik auf zentral wirksame Substanzen – Methodenentwicklung und Anwendungen. Vortrag auf der 100. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 13. – 16. September 2021 in München.
7. Franz T, Wiedfeld C, Skopp G, Musshoff F (2020) Opiode – Prävalenz nicht überprüfter Medikation oder nicht entdeckten Missbrauchs bei chemisch-toxikologischen Abstinenzkontrollen im Rahmen der Fahreignungsdiagnostik. Vortrag auf dem Forum für Verkehrssicherheit, 06. – 07. März 2020 in München.
8. Wiedfeld C, Franz T, Skopp G, Musshoff F (2020) Z-Substanzen – Prävalenz nicht überprüfter Medikation oder nicht entdeckten Missbrauchs bei chemisch-toxikologischen Abstinenzkontrollen im Rahmen der Fahreignungsdiagnostik. Vortrag auf dem Forum für Verkehrssicherheit, 06. – 07. März 2020 in München.
9. Gleich S, Krüger J, Wiedfeld C, Skopp G, Musshoff F, Roeder G, Schöpfer J, Graw M, Fels H (2019) Medikamentennachweise bei bayerischen Altenheimbewohnern – Untersuchungsergebnisse von Urin-, Blut- und Haarproben. Vortrag auf der 98. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 17. – 21. September 2019 in Hamburg.
10. Wiedfeld C, Skopp G, Musshoff F (2019) Single hair analysis – Application in special forensic cases. Vortrag auf dem XXI. GTFCh-Symposium, 11. – 13. April 2019 in Mosbach.
11. Wiedfeld C, Skopp G, Musshoff F (2018) Einzelhaaranalyse nach Einmalgaben – Vorläufige Ergebnisse. Poster auf der 97. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 12. – 15. September 2018 in Halle.
12. Wiedfeld C, Skopp G, Musshoff F (2018) Single hair analysis after single doses – Preliminary results. Vortrag auf dem 56. jährlichem Meeting „The International Association of Forensic Toxicologists“ (TIAFT), 26. – 30. August 2018 in Gent, Belgien.
13. Wiedfeld C, Krüger J, Musshoff F (2017) Vergleich der Drogenkonzentration (§ 24a StVG) in Serumproben mit und ohne Zusatz von NaF. Poster auf dem 13. Gemeinsamen Symposium der Deutschen Gesellschaft für Verkehrsmedizin e.V. (DGVM) und der Deutschen Gesellschaft für Verkehrspsychologie e.V. (DGVP), 6. – 7. Oktober 2017 in Leipzig.
14. Wiedfeld C, Krüger J, Musshoff F (2017) Comparison of concentrations of drugs between serum samples with and without NaF additive. Vortrag auf der 96. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin, 11. – 15. September 2017 in Düsseldorf.

1. Beitrag zu den Veröffentlichungen

1.1 Veröffentlichung 1

„Single hair analysis: Validation of a screening method for over 150 analytes and application on documented single-dose cases”

Wiedfeld, Christopher; Skopp, Gisela; Musshoff, Frank

In: Drug Testing and Analysis (2021) 13(4): 817-832.

DOI: 10.1002/dta.2997

Die jeweiligen Arbeitsanteile der einzelnen Autoren sind in der folgenden Tabelle aufgeführt. Der Eigenanteil ist entsprechend hervorgehoben.

Anteil der Autoren

Wiedfeld, Christopher (Erstautor)	A, B, C, F, G, H
Skopp, Gisela	A, E, H
Mußhoff, Frank	A, D, E, H

Experimente und Auswertung:	A: Idee, Entwicklung und Design
	B: Durchführung
	C: Datenanalyse und Auswertung
	D: Bereitstellung von Materialien
	E: wissenschaftliche Unterstützung
Manuskript:	F: Erstentwurf
	G: Erstellen von Grafiken und Tabellen
	H: interne Revision, Überarbeitung

1.2 Veröffentlichung 2

„Single hair analysis for gamma-hydroxybutyric acid – Method optimization, validation, and application”

Wiedfeld, Christopher; Skopp, Gisela; Musshoff, Frank

In: Drug Testing and Analysis (2024) Epub ahead of print: 1-9.

DOI: 10.1002/dta.3683

Die jeweiligen Arbeitsanteile der einzelnen Autoren sind in der folgenden Tabelle aufgeführt. Der Eigenanteil ist entsprechend hervorgehoben.

Anteil der Autoren

Wiedfeld, Christopher (Erstautor)	A, B, C, F, G, H
Skopp, Gisela	A, E, H
Mußhoff, Frank	A, D, E, H

Experimente und Auswertung:	A: Idee, Entwicklung und Design
	B: Durchführung
	C: Datenanalyse und Auswertung
	D: Bereitstellung von Materialien
	E: wissenschaftliche Unterstützung
Manuskript:	F: Erstentwurf
	G: Erstellen von Grafiken und Tabellen
	H: interne Revision, Überarbeitung

1.3 Veröffentlichung 3 (Anhang A)

Correspondence Case Report:

“Application of single hair analysis reveals multiple administration of a drug mixture in a case of drug-facilitated sexual assault of a child”

Wiedfeld, Christopher; Skopp, Gisela; Kuepper, Uta; Musshoff, Frank

In: Drug Testing and Analysis (2021) 13(8): 1580-1584.

DOI: 10.1002/dta.3057

Die jeweiligen Arbeitsanteile der einzelnen Autoren sind in der folgenden Tabelle aufgeführt. Der Eigenanteil ist entsprechend hervorgehoben.

Anteil der Autoren

Wiedfeld, Christopher (Erstautor)	A, B, C, F, G, H
Skopp, Gisela	A, E, H
Küpper, Uta	H, I
Mußhoff, Frank	A, D, E, H

Experimente und Auswertung:	A: Idee, Entwicklung und Design
	B: Durchführung
	C: Datenanalyse und Auswertung
	D: Bereitstellung von Materialien
	E: wissenschaftliche Unterstützung
Manuskript:	F: Erstentwurf
	G: Erstellen von Grafiken und Tabellen
	H: interne Revision, Überarbeitung
	I: Bereitstellung von Fallinformationen

1.4 Veröffentlichung 4 (Anhang B)

Case Report:

“Application of single hair analysis in a doping case involving amphetamine”

Wiedfeld, Christopher; Skopp, Gisela; Thieme, Detlef; Musshoff, Frank

In: Drug Testing and Analysis (2022) 14(4): 781-784.

DOI: 10.1002/dta.3217

Die jeweiligen Arbeitsanteile der einzelnen Autoren sind in der folgenden Tabelle aufgeführt. Der Eigenanteil ist entsprechend hervorgehoben.

Anteil der Autoren

Wiedfeld, Christopher (Erstautor)	A, B, C, F, G, H
Skopp, Gisela	A, E, H
Thieme, Detlef	H, I
Mußhoff, Frank	A, D, E, H

Experimente und Auswertung:	A: Idee, Entwicklung und Design
	B: Durchführung
	C: Datenanalyse und Auswertung
	D: Bereitstellung von Materialien
	E: wissenschaftliche Unterstützung
Manuskript:	F: Erstentwurf
	G: Erstellen von Grafiken und Tabellen
	H: interne Revision, Überarbeitung
	I: Bereitstellung von Fallinformationen

2. Einleitung

2.1 Forensische Toxikologie

Die forensische Toxikologie beschäftigt sich mit dem Nachweis und der Quantifizierung von Betäubungsmitteln, Medikamentenwirkstoffen und Giften in verschiedenen Matrices und deren Bewertung im Zusammenhang mit rechtlichen Fragestellungen mit dem Ziel, möglichst valide und damit gerichtsverwertbare Ergebnisse und Aussagen zu erhalten.

Typische Fragestellungen ergeben sich im Zusammenhang mit Verstößen gegen das Betäubungsmittelgesetz (BtMG), dem Straßenverkehrsgesetz (StVG) (z.B. § 24a) oder dem Strafgesetzbuch (StGB) (z.B. §§ 20, 21, 315c oder 316). Darüber hinaus werden Analysen auch bei Fragen im Familienrecht (z.B. Sorgerecht), Fahrerlaubnisrecht (z.B. Fahreignung), Waffen- und Gaststättenrecht oder zur Überprüfung von Bewährungsaufgaben beauftragt. Untersuchungen von Proben bei Todesursachenermittlungen sowie von Opfern anderer Straftaten (z.B. gefährliche Körperverletzung durch Substanzbeibringung; § 224 StGB) gehören ebenfalls in den Aufgabenbereich.

2.2 Nachweisbarkeit von Fremdstoffen in biologischen Matrices

Die Wahl der richtigen Matrix für eine forensisch-toxikologische Untersuchung richtet sich immer nach der Fragestellung. Die Matrices unterscheiden sich in der Möglichkeit und Dauer der Nachweisbarkeit von verschiedenen Substanzen, der Probenahme und der Aussagekraft der Ergebnisse.

Substanzen lassen sich je nach Aufnahmeweg (intravenös, oral oder inhalativ) schon innerhalb von Sekunden bis Minuten im Blut bzw. Serum nachweisen und verbleiben dort je nach substanzspezifischer Abbaugeschwindigkeit für einige Stunden bis zu wenigen Tagen.¹ Anhand der Konzentration der aktiven (Ausgangs-)Substanzen ist eine Aussage zur akuten Beeinflussung des Probanden zum Zeitpunkt der Blutentnahme möglich. Einige Zeit nach der Aufnahme sind vor allem Metaboliten nicht nur im Blut, sondern vermehrt im Urin nachweisbar. Aufgrund der zeitversetzten Ausscheidung ist der Nachweis nach einmaliger Aufnahme einer Substanz im Urin für ca. einen bis mehrere Tage und damit deutlich länger als im Blut möglich, allerdings sind anhand der Urinkonzentration keine Aussagen zur akuten Beeinflussung der Person möglich. Jedoch stellt die Entnahme einer Urinprobe im Gegensatz zu einer Blutentnahme keinen invasiven Eingriff dar. Je nach Dauer und Intensität des vorangegangenen Konsums sowie den pharmakologischen Eigenschaften der Substanz können Metaboliten auch noch bis zu mehreren Wochen im Urin nachweisbar sein.¹

Ist in Blut und Urin kein Nachweis mehr möglich, können aufgenommene Substanzen retrospektiv noch in Haaren untersucht werden. Aufgrund der Einlagerung in die wachsenden Haare sind die Substanzen vor weiterer Elimination geschützt und somit nach einigen Tagen bis zu mehreren Monaten nachweisbar. Auch hier stellt die Entnahme keinen invasiven Eingriff dar. Aus diesen Gründen hat sich die Haaranalytik in der forensischen Toxikologie etabliert, um weiter zurückliegende Substanzaufnahmen zu untersuchen und ggf. zu belegen.² Als neuere, alternative Matrix zu Blut eignet sich auch Speichel für einen Nachweis zeitnaher Substanzaufnahmen¹. Finger- bzw. Zehennägel stellen als weitere Hautanhangsgebilde eine alternative Matrix zu Haaren dar.³

2.3 Das menschliche Haar

Bei Haaren handelt es sich um sogenannte trockene Hautanhangsgebilde. Bis auf die Handinnenflächen und Fußsohlen ist nahezu der gesamte menschliche Körper zumindest mit dünnen und weichen Vellushaaren bedeckt; auf dem Kopf befinden sich bei haargesunden Erwachsenen ca. 90.000–150.000 Terminalhaare.⁴

2.3.1 Morphologie und Aufbau

Menschliche Haare sind komplexe, teilkristallin orientierte, polymere Strukturen. Sie bestehen zu 65–95% aus Proteinen, hauptsächlich aus Faserproteinen (Keratine), zu 15–35% aus Wasser und zu wenigen Prozenten aus Lipiden und Mineralien.^{4,5} Der von außen sichtbare Teil eines Haares besteht aus abgestorbenen Zellen und wird als Haarschaft bezeichnet. Grundsätzlich lassen sich morphologisch fünf verschiedene Komponenten unterscheiden:⁴

Die äußerste Schicht besteht aus flachen Cuticulazellen, welche sich gegenseitig mehrfach überlappen und so die charakteristische Schuppenschicht bilden. Die so entstehende Cuticula bildet eine Schutzschicht gegenüber äußeren Einflüssen. Darunter folgt der Cortex, auch Haarfaserstamm genannt. Dieser besteht aus spindelförmigen Zellen, welche sich zu größeren Filamenten und weiter zu Makrofibrillen bündeln und somit die faserartige Kernstruktur des Haares bilden. Vor allem in Haaren mit großem Durchmesser befindet sich ganz im Inneren noch eine zusätzliche Struktur, die Medulla. Dieses aus spezifischen Zellen und Proteinen gebildete Haarmark verleiht dem Haar zusätzliche Stabilität und sorgt durch Lufteinschlüsse für eine bessere Isolationsfähigkeit. Diese drei konzentrisch angeordneten Elemente bilden die Hauptstruktur des Haares. Eingebettet in den Cortex befinden sich die Melaningranula. Diese parallel zur Faserrichtung angeordneten Pigmentkörnchen enthalten Melanine und bestimmen somit die Farbe des Haares. Hierbei unterscheidet man zwischen dem Eumelanin, welches hauptsächlich in schwarzen und braunen Haaren enthalten ist, und dem Phäomelanin, welches in blonden bis rötlichen Haaren dominiert. Das letzte Element ist der Zellmembrankomplex, welcher sich netzwerkartig zwischen allen Zelltypen des Haares erstreckt, diese wie einen „Kitt“ miteinander verbindet und für zusätzliche Stabilität sorgt.⁴

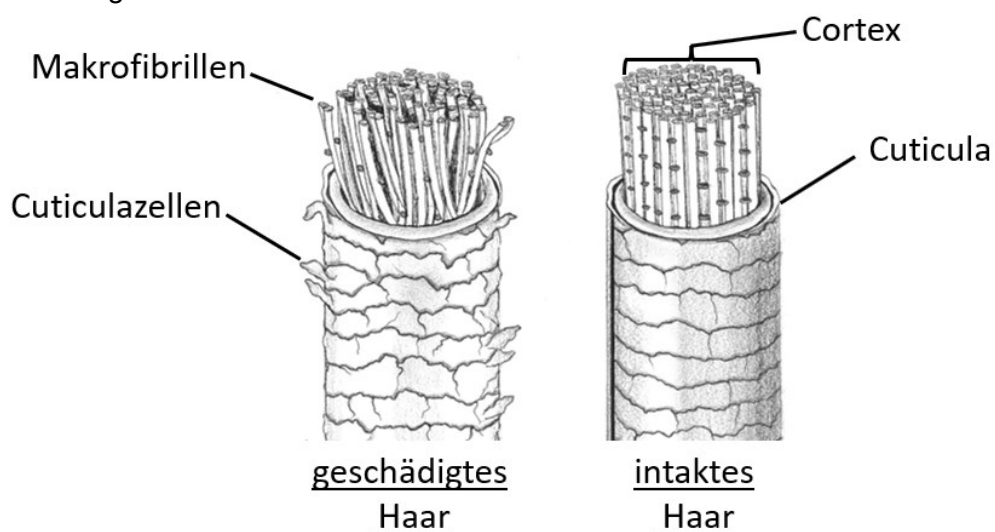


Abbildung 1: Aufbau eines menschlichen Haares (ohne Medulla) im durch Umwelteinflüsse geschädigten und intakten Zustand. (Zeichnung: Forensisch Toxikologisches Centrum GmbH)

2.3.2 Haarwachstum

Das Haarwachstum kann in drei Phasen unterteilt werden, die mit Anagen-, Katagen- und Telogenphase bezeichnet werden.⁴

Während der Anagenphase werden die Haare in Haarfollikeln gebildet, welche als taschenartige Vertiefung ca. 4 mm in die Haut hineinragen. Über die innerhalb des Follikels befindliche Haarwurzel ist das Haar fest in der Haut verankert. Am unteren Ende ist die Haarwurzel kolbenförmig verdickt und wird als Haarzwiebel oder Bulbus bezeichnet. Dieser Teil umschließt die kegelförmig hineinragende Haarpapille, welche ein ausgeprägtes Gefäß- und Nervenplecht besitzt. In dem Bereich zwischen Papille und Bulbus sitzen spezialisierte Haarmatrixzellen, die Trichozyten, welche durch eine hohe Zellteilungsrate die eigentliche Haarsubstanz bilden. Die entstandenen Matrixzellen werden nach oben geschoben, nehmen durch die ebenfalls im Bereich der Papille befindlichen Melanozyten Pigmente auf und verlängern sich. In der Keratinisierungs- und Aushärtungszone sterben die Zellen unter Verlust des Zellkerns und von Wasser ab und bilden den fertigen Haarschaft. Aus Talgdrüsen, die in den Follikel münden, wird das Haar mit Sebum benetzt.⁴ Während dieser mindestens ca. 2–5 Jahre andauernden genetisch determinierten Phase wächst das Kopfhaar kontinuierlich zwischen ca. 0,2–0,5 mm/Tag, was ein durchschnittliches Haarwachstum von etwa 1,1 cm/Monat ergibt, wobei interindividuelle Schwankungsbereiche von rund 0,6–1,5 cm/ Monat angegeben werden.^{4,6}

In der sich anschließenden, nur wenige Wochen andauernden Katagenphase wird die Zellteilung und Keratinisierung eingestellt und das Haar von der Blutzufuhr abgekoppelt. Es verändert sich zum sogenannten Kolbenhaar und wird bis zu einem Bereich unterhalb der Talgdrüse befördert. Dort verweilt es während der Telogenphase für bis zu 6 Monate, bevor es ausfällt und sich ein neues Haar ausbildet.⁴

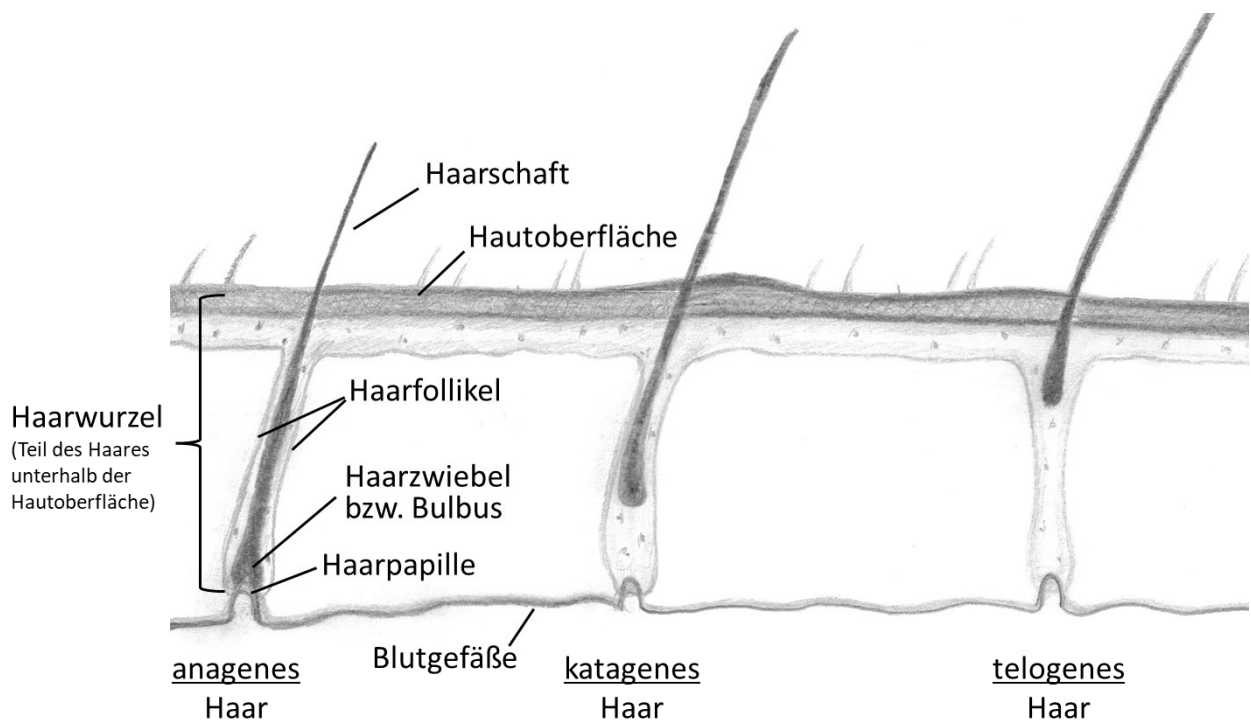


Abbildung 2: Darstellung eines menschlichen Haares in den drei verschiedenen Wachstumsphasen mit Bezeichnung der wichtigsten Strukturen. (Zeichnung: Forensisch Toxikologisches Centrum GmbH)

Bei gesunden Personen befinden sich ungefähr 85–90% der Kopfhare in der anagenen, nur 1–3% in der katagenen und ca. 7–9% in der telogenen Phase.⁴ Die größten Unterschiede bei Körperhaaren wie Achsel- und Schamhaaren im Vergleich zu Kopfharen ergeben sich bei nur geringfügig langsameren Wachstumsraten hauptsächlich durch eine viel kürzere Anagenphase (zwischen 44–77 Wochen), eine deutlich längere Telogenphase (zwischen 48–73 Wochen) und einen hohen Anteil telogener Haare von über 50%. Bei Barthaaren ist sowohl die Wachstumsrate (ca. 0,25–0,29 mm/Tag) als auch der gesamte Wachstumszyklus (zwischen 2–11 Wochen) deutlich kürzer, bei einem Anteil von etwa 24–45% telogener Haare.^{4,6}

2.3.3 Einlagerung von Fremdsubstanzen

Die genaue Einlagerung von Substanzen in bzw. Antragung an Haare ist ein sehr komplexer Vorgang, der bisher noch nicht vollständig geklärt ist. Am ehesten können die Vorgänge durch eine Kombination verschiedener Prozesse erklärt werden.

Der Haupteinlagerungsweg von aufgenommenen Substanzen erfolgt über die Blutversorgung des anagenen Haarfollikels über die Papille direkt in die sich entwickelnden Matrixzellen und die Melanozyten bzw. über den papillären Plexus. Aufgrund der anschließenden Dehydratisierung und Keratinisierung sind die Fremdstoffe in dem sich entwickelnden Haar fixiert und werden als Substanzbande entsprechend dem Haarwachstum mit transportiert.⁴ Eine Rückdiffusion aus dem Haar bzw. Längsdiffusion innerhalb des Haarschaftes sind nun nicht mehr ohne weiteres möglich. Da die Zellen über Membranen mit dem Blutsystem in Verbindung stehen, ist die Einlagerung einer Fremdschubstanz abhängig von der jeweiligen Membrangängigkeit. So werden lipophile Substanzen mit hoher Melaninbindung, geringer Plasmaproteinbindung und einer Molekülgröße von <800 Da bis maximal ca. 1200 Da bevorzugt eingelagert.^{7,8} Aufgrund eines intrazellulär leicht sauren pH-Wertes in den Melanozyten erfolgt aufgrund des bestehenden pH-Gradienten vor allem für basische Substanzen eine bevorzugte Einlagerung über die Melaningranula in pigmentierte Haare.⁴

Neben einer direkten Fremdstoffaufnahme aus dem Blut ist zusätzlich auch eine Aufnahme aus dem interzellulären Flüssigkeitssystem der Haut möglich. Speziell im Bereich der Keratinisierungszone können die noch nicht vollständig differenzierten Zellen einfach Substanzen aufnehmen. Aber auch nach der Keratinisierung können vor allem im intradermalen Bereich noch Fremdstoffe in das Haar gelangen.⁴

Aufgenommene Substanzen werden nach wenigen Stunden sowohl über den Schweiß und nach ca. 2–3 Wochen auch über den Talg ausgeschieden. Auf der Kopfhaut befinden sich neben den in die Haarfollikel mündenden Talgdrüsen auch etwa 900 Schweißdrüsen pro cm², sodass die Haare zumindest kopfhautnah mit den ausgeschiedenen Substanzen versetzt werden.⁴ Auch hierüber ist eine Aufnahme möglich.

Die Haare können darüber hinaus auch durch eine Antragung von außen mit Substanzen in Berührung kommen, z.B. durch Aerosole wie Cannabisrauch oder pulverförmige Substanzen wie Cocain. Bei einer derartigen Exposition spricht man von einer externen Kontamination der Haare, bei der die Substanzen von außen auf die Haare aufgelagert und zum Teil an- bzw. eingelagert werden können.⁴

Eine schematische Übersicht über die verschiedenen Einlagerungswege von Fremdschubstanzun gibt Abbildung 3.

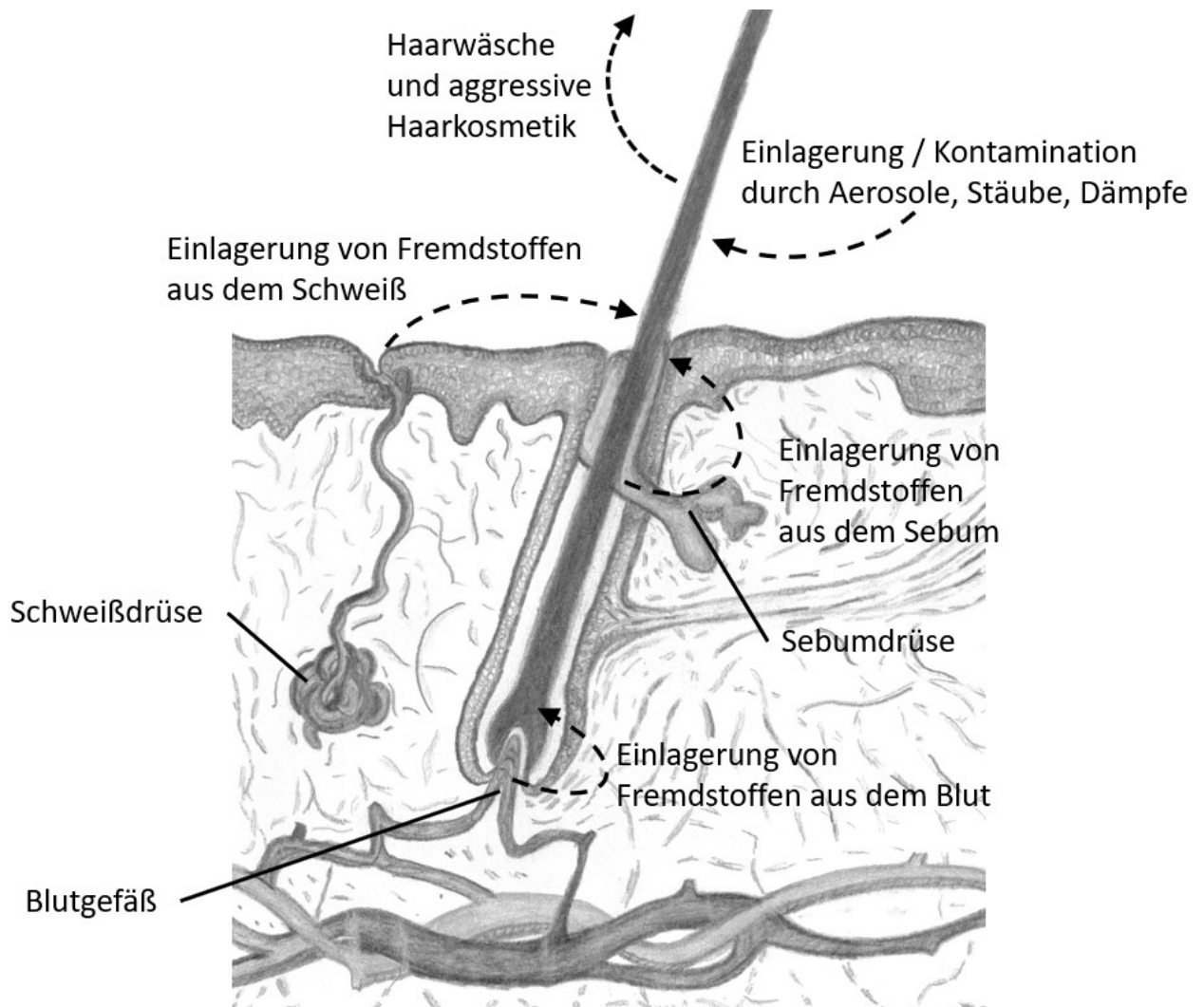


Abbildung 3: Darstellung der verschiedenen Einlagerungswege von Fremdstoffen in ein menschliches Haar. (Zeichnung: Forensisch Toxikologisches Centrum GmbH)

2.4 Forensisch-toxikologische Haaranalytik

Um möglichst valide und reproduzierbare Ergebnisse bei forensisch-toxikologischen Fragestellungen zu erhalten, sind bei einer Haaranalyse von der Probenahme bis zur Interpretation der Ergebnisse bestimmte Vorgaben und Richtlinien einzuhalten.^{5,9-11}

2.4.1 Entnahme und Aufbereitung von Haarproben

Aufgrund eines hohen Anteils anagener Haare und vergleichsweise langer und gleichmäßiger Wachstumsphasen des Kopfhaares werden Haarproben bevorzugt am Hinterkopf in der „posterior vertex“ Region entnommen. Hierzu werden etwa 2–3 Strohalm-dicke Haarbündel fixiert und mit einer Schere möglichst gerade und kopfhautnah abgeschnitten. Die Haare sollten hierbei nicht gegeneinander verrutschen und die verbleibende Resthaarlänge nicht mehr als 1–3 mm betragen. Nach Markierung der Schnittstelle werden die Proben in Aluminiumfolie verpackt und können so ohne weitere Vorkehrungen per Post verschickt und vor Licht und Feuchtigkeit geschützt bei Raumtemperatur ohne weiteres für mehrere Jahre asserviert werden.

Die Untersuchung beginnt mit der Bestimmung der Haarlänge, Haarfarbe und Textur sowie der Dokumentation einer offensichtlichen Haarbehandlung wie einer Coloration oder Bleichung. Im Anschluss erfolgt die Segmentierung entsprechend dem Auftrag oder der Fragestellung und Einwaage der zu untersuchenden Abschnitte. In der Regel wird das proximale (kopfhautnahe) 3- bzw. 6 cm-Segment untersucht. Je nach verwendeter Methode liegt die Solleinwaage bei etwa 20–50 mg.¹² Zur Entfernung anhaftender Verschmutzungen, von Haartalg und insbesondere möglicher Drogenrückstände, werden die Proben in mehreren Schritten mit wässrigen und organischen Lösungsmitteln gewaschen. Die Proben werden dann entweder manuell mittels Scheren oder maschinell in Kugelmøhlen zerkleinert, um für die Extraktion eine möglichst große Oberfläche zu schaffen. Die Extraktion erfolgt nach Zugabe geeigneter Lösungsmittel und interner Standards meist unter Einfluss von Wärme und Ultraschall. Alternativ kann durch eine alkalische Hydrolyse auch die Haarmatrix weitestgehend aufgelöst werden, wodurch die Extraktionsausbeute gesteigert wird, jedoch auch deutlich mehr Matrixbestandteile im Extrakt vorhanden sind. Je nach Methode muss das Extrakt anschließend noch aufgereinigt, derivatisiert oder aufkonzentriert werden, bevor es der Analyse zugeführt werden kann.¹²

2.4.2 Instrumentelle Analytik

Die bei der forensisch-toxikologischen Haaranalytik zu erwartenden Konzentrationen liegen im unteren pg/mg- bis mittleren ng/mg-Bereich mit zu erreichenden Bestimmungsgrenzen zwischen 0,2 pg/mg und 0,1 ng/mg.¹⁰ Aufgrund der damit verbundenen hohen messtechnischen Anforderungen erfolgt die Analyse mittlerweile fast ausschließlich mittels hochsensitiver gekoppelter chromatographisch-massenspektrometrischer Verfahren.

2.4.2.1 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) ist ein Verfahren zur Aufreinigung und Trennung von Stoffgemischen. Über einen Probengeber wird ein Teil der flüssigen Probe (wenige µL) in das System injiziert. Mittels Pumpen wird ein Lösungsmittelgemisch, die sogenannte mobile Phase, durch dünne Kapillaren gefördert, wodurch die Probe durch eine Trennsäule transportiert wird. Innerhalb dieser Säule befindet sich die sogenannte stationäre Phase. Diese ist fest und besitzt je nach Material und Modifizierung der Oberfläche unterschiedliche chemische Eigenschaften und wird so gewählt, dass die Analyten möglichst große physikochemische Wechselwirkungen mit dieser eingehen. Durch einen ständigen Übergang der zu trennenden Komponenten zwischen den beiden nicht mischbaren Phasen stellt sich eine bestimmte substanzspezifische Verteilung ein. Durch eine Veränderung der Zusammensetzung der mobilen Phase kann dieser Prozess zusätzlich innerhalb eines chromatographischen Laufes beeinflusst werden. Durch unterschiedliche Wechselwirkungen und Verteilungen zwischen den beiden Phasen erreichen die verschiedenen Analyten getrennt von Matrixbestandteilen das Ende der Säule zu unterschiedlichen Retentionszeiten, die charakteristisch für die jeweilige Substanz sind.

Die voneinander getrennten Analyten können nun mittels eines geeigneten Detektors nachgewiesen werden. Durch Auftragen der Signalintensität gegen die Retentionszeit erhält man ein Chromatogramm. In der Haaranalytik wird als Detektor meistens ein Massenspektrometer verwendet.

2.4.2.2 Massenspektrometrie

Die Massenspektrometrie (MS) ist ein Verfahren, mit dem ionisierte Moleküle voneinander selektiert, fragmentiert und deren exakte Masse und Häufigkeit bestimmt werden können.

Bei einer Kopplung an eine HPLC müssen die im Lösungsmittel meist schon ionisiert vorliegenden Analyten zuerst in der sogenannten Ionenquelle des Massenspektrometers in die Gasphase überführt werden. Bei der Elektrospray-Ionisation (ESI) wird der Flüssigkeitsstrom aus der HPLC über eine dünne Metallkapillare, die sich in einer spitz zulaufenden Sonde befindet, in die Quelle geleitet. An der Sonde liegt eine sehr hohe Spannung von etwa 5000 Volt an, wodurch die am Ende entstehenden Tröpfchen eine hohe Ladungsdichte haben. Durch seitlich angebrachte Heizer wird die Flüssigkeit in den Tröpfchen verdampft. Wenn der zunehmende Ladungsüberschuss in den kleiner werdenden Tröpfchen das Rayleigh-Limit überschreitet, explodieren diese (Coulomb-Explosion) bis einzelne Ionen entstehen. Die so entstandenen Ionen werden durch eine entgegengesetzt polarisierte Spannung über eine kleine Öffnung in das Innere des Massenspektrometers hineingezogen. Damit die Ionen ungehindert fliegen können, herrscht im Inneren ein Hochvakuum, welches über mehrere Pumpen ständig gegenüber der nachströmenden Atmosphäre aufrechterhalten wird.

Es gibt verschiedene Arten von Massenspektrometern, welche sich hauptsächlich durch das jeweils genutzte physikalische Prinzip der Ionenselektion unterscheiden. Zusätzlich gibt es wiederum eine Reihe unterschiedlicher Messmodi, in denen die Geräte betrieben werden können. Im Folgenden wird die Tandem-MS (MS/MS) mit einem Triple-Quadrupol-Massenspektrometer im sogenannten Multiple-Reaction-Monitoring (MRM)-Modus beschrieben (siehe Abbildung 4).

Die Ionen werden hierbei mittels sogenannter Quadrupole (vier parallel zueinander angeordnete Metallstäbe) selektiert. Hierzu wird eine für das nachzuweisende Ion spezifische und alternierende Gleich- und Wechselspannung an die Quadrupole angelegt. Durch die wechselnden Anziehungs- und Abstoßungskräfte zwischen den Stäben werden die Ionen in eine oszillierende Vorwärtsbewegung versetzt. Auf diese Weise werden nur Ionen mit einem bestimmten und vorher ausgewählten Masse-zu-Ladung-Verhältnis (m/z) stabilisiert und verlassen durch eine kleine Linsenöffnung den 1. Massenanalysator, alle andere Ionen werden abgelenkt. Die so selektierten Vorläuferionen werden in einem weiteren Quadrupol beschleunigt und durch gezielte Kollision mit Stickstoffmolekülen fragmentiert. Hierdurch erhält man für den Analyten charakteristische Bruchstücke, sogenannte Produktionen, welche in einem bestimmten Ionenverhältnis zueinander stehen. In einem dritten Quadrupol (2. Massenanalysator) werden ein oder mehrere dieser Produktionen nacheinander selektiert und gelangen zum Detektor. Proportional zur Menge der auf den Detektor auftreffenden Teilchen werden dort Elektronen freigesetzt, welche das Messsignal erzeugen. Der Detektor selbst kann also nur die Häufigkeit der zuvor selektierten und dadurch identifizierten Ionen messen. Durch Auftragen der Signalintensität gegen das m/z erhält man ein Massenspektrum.

Durch die Kombination der substanzspezifischen Retentionszeit und zweier charakteristischer Massenübergänge von Vorläufer- zu Produktion, welche zudem noch in einem bestimmten Ionenverhältnis zueinander gemessen wurden, gilt eine Substanz als eindeutig nachgewiesen.¹³

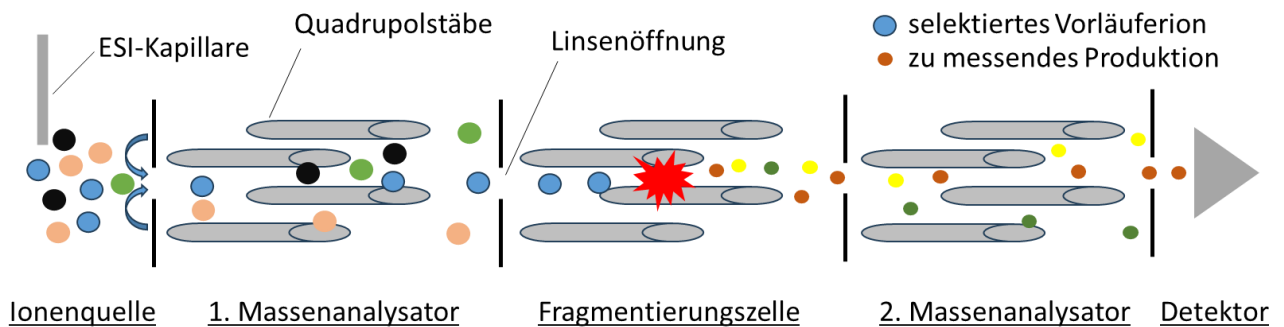


Abbildung 4: Schematische Darstellung der Funktionsweise eines Triple-Quadrupol-Massenspektrometers im MRM-Modus. (eigene Darstellung)

2.4.3 Interpretation und Grenzen von routinemäßig durchgeführten Haaranalysen

Die Beurteilung und Interpretation einer Haaranalyse erfolgen anhand der nachgewiesenen Substanzen, ihrer Konzentrationen und der Länge sowie des Zustandes des untersuchten Haarsegmentes. Dabei sollten immer die physiologischen Grundlagen des Haarwachstums und mögliche externe Einflüsse berücksichtigt werden.

Grundsätzlich gilt bei einem positiven Befund, dass der Konsum bzw. zumindest der Kontakt mit der nachgewiesenen Substanz belegt ist. Vor allem die zuvor erwähnte Möglichkeit einer externen Kontamination erschwert jedoch bei einigen Substanzen wie z.B. Cocain den sicheren Konsumnachweis. In diesen Fällen kann durch den zusätzlichen Nachweis spezifischer Metaboliten die Körperpassage und damit der Konsum belegt werden.¹⁴

Anhand der nachgewiesenen Substanzkonzentration in Haaren ist nur eine grobe Abschätzung des Konsumverhaltens möglich. Die Einlagerungsrate und Verstoffwechselung von Substanzen unterliegt einerseits interindividuellen Schwankungen, andererseits haben auch die Haarpigmentierung sowie äußere Faktoren wie z.B. die Haarbehandlung einen Einfluss auf die nachweisbare Konzentration. Anhand geeigneter Statistiken positiver Fälle ist daher eine Beurteilung und Unterscheidung zwischen einem gelegentlichen, häufigeren oder intensiven Konsum möglich.^{4,15,16}

Weiterhin ist zu beachten, dass die gemessene Konzentration immer einen Durchschnittswert über das jeweils untersuchte Haarsegment darstellt. Bei einem Abschnitt von z.B. 6 cm ist somit eine Aussage über den durchschnittlichen Konsum innerhalb der letzten ca. 6 Monate vor der Probenahme möglich. Eine etwaige Änderung im Konsumverhalten oder gar eine Einstellung des Konsums innerhalb des zu überprüfenden Zeitraums kann daher nur durch die Untersuchung kleinerer Segmente (z.B. in 1-cm Abschnitten) erkannt werden.^{6,17}

Ein weiteres Problem bei der Interpretation ergibt sich durch das zyklusartige Wachstum der Haare. Durch das Vorhandensein noch positiver telogener Haare können entsprechende Haarsegmente auch noch mehrere Monate nach einer Abstinenz ein positives Ergebnis zeigen, obwohl im komplementären Zeitraum kein Konsum mehr stattgefunden hat.¹⁸ Zusätzlich ergibt sich durch die zuvor bereits beschriebenen inter- und intraindividuellen Unterschiede in der Wachstumsgeschwindigkeit eine gewisse zeitliche Ungenauigkeit. Es besteht zudem die Möglichkeit, dass sich sowohl bei der Probenahme als auch beim Segmentieren einer Haarsträhne einzelne

Haare gegeneinander horizontal verschieben, wodurch sich die zeitliche Auflösung weiter verschlechtert.⁶ Durch die beschriebenen Einflüsse sind selbst nach einer einmaligen Substanzaufnahme positive Ergebnisse in mehreren Segmenten zu erwarten, jeweils in Abhängigkeit der Segmentlängen und der Zeit zwischen Vorfall und Probenahme.¹⁹

Der überprüfte Zeitraum kann daher anhand der untersuchten Segmente nur in einer Größenordnung von mehreren Wochen bzw. Monaten abgeschätzt werden. Selbst bei einer sehr feinen und technisch gerade noch praktikablen Segmentierung in 0,5-cm Abschnitten ist eine wochen- oder gar tagesgenaue Interpretation sowie die Abgrenzung bzw. Unterscheidung einzelner Aufnahmen nicht möglich. Abbildung 5 zeigt schematisch den Einfluss der Segmentlänge auf das zeitliche Auflösungsvermögen einer Haaranalyse.

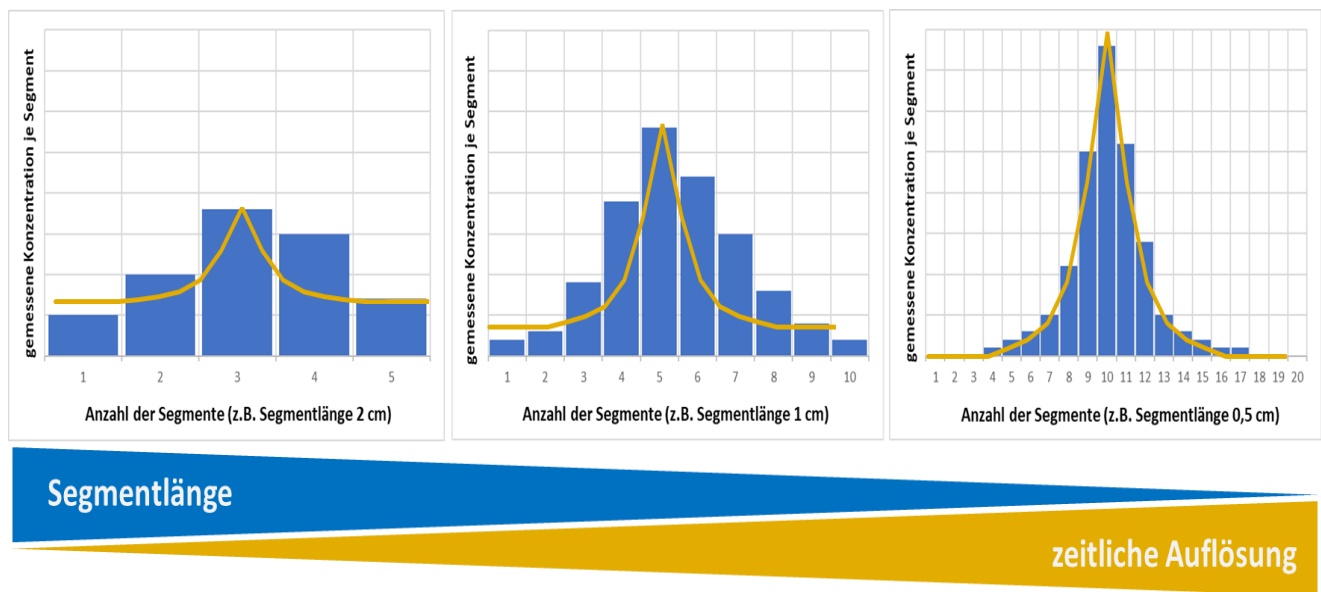


Abbildung 5: Schematische Darstellung des Zusammenhangs zwischen der Segmentlänge und dem zeitlichen Auflösungsvermögen einer Haaranalyse unter idealen Bedingungen. (eigene Darstellung)

2.4.4 Einzelhaaranalytik

Aufgrund der steten Entwicklung immer sensitiverer Analysetechniken wurde auch der Nachweis von Substanzen aus einzelnen Haaren möglich. Erste Ergebnisse wurden bereits 1981 publiziert, wobei anfangs noch unsegmentierte Haare untersucht wurden. Die ersten Einzelhaaranalysen mit Segmentlängen von 1 cm wurden 1990 durchgeführt und in den Folgejahren wurde die Länge der untersuchten Segmente stets verkleinert: von 2,5 mm (1993) über 1 mm (2015) bis hin zu sub-Millimeter Segmenten (0,4 mm) im Jahre 2016. Einen zeitlichen sowie methodischen Überblick gibt das Review von Kuwayama et al.²⁰

Die einzelnen Haare werden bei diesen Methoden entweder manuell oder mit Hilfe eines Mikrotoms segmentiert und die Abschnitte anschließend separat in Lösemittel extrahiert (siehe hierzu auch die Bilder in Anhang C). Die Analyse erfolgt dann in der Regel mittels HPLC-MS/MS. Eine Alternative zur Segmentierung stellt die sogenannte Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation-MS dar. Hierbei werden einzelne Haare mittels eines Laserstrahles abgescannt und die so generierten Analytionen massenspektrometrisch detektiert. Auch wenn im Vergleich zur Segmentierung rein technisch mittels des Lasers eine noch feinere longitudinale Auflösung möglich ist,

so handelt es sich im Vergleich zur HPLC-MS/MS um eine weniger sensitive, semiquantitative, teure und daher nur selten eingesetzte Methode.^{21,22}

Unabhängig von der Analysentechnik haben alle Methoden gemein, dass die Haarprobe nicht als Bündel bzw. Strähne segmentiert und dadurch ein Durchschnittswert erhoben wird, sondern mehrere Haare jeweils individuell analysiert werden. Hiermit werden die zuvor genannten limitierenden Faktoren, welche bei der routinemäßig durchgeführten Haaranalytik auftreten, weitestgehend umgangen: es kann bei der Segmentierung nicht zu einem Verschieben der Haare kommen, intra-individuelle Unterschiede im Haarwachstum sowie telogene Haare können erkannt und entsprechend berücksichtigt werden und eine feinere Segmentierung im unteren mm-Bereich ist realisierbar. Folglich erhält man je Einzelhaar ein individuelles Konzentrationsprofil mit einer deutlich höheren zeitlichen Auflösung im Vergleich zur Routine-Analyse. Hierdurch lassen sich neben Änderungen im Konsummuster auch einmalige oder mehrmalige Aufnahmen erkennen und ggf. sogar voneinander abgrenzen.²³

Um Substanzen bereits nach einer einmaligen Aufnahme im Haar nachweisen zu können, müssen die analytischen Methoden eine sehr hohe Sensitivität aufweisen. Neben der rein instrumentellen Anforderung ergibt sich bei der Detektion mittels MS/MS auch ein methodisches Problem. Bei umfassenden Screening-Methoden nimmt die Sensitivität mit steigender Anzahl parallel zu detektierender Analyten unter Berücksichtigung einer ausreichenden Peak-Auflösung ab, da für jeden individuellen Massenübergang entsprechend weniger Messzeit zur Verfügung steht. Die bisher publizierten Methoden zur segmentalen Einzelhaaranalytik beschränken sich daher jeweils meist nur auf wenige Analyten. Bei ihrer Anwendung in authentischen Fällen wurde zumeist im Vorfeld mittels einer konventionellen Segmentanalyse ein Screening durchgeführt, um die im jeweiligen Fall relevanten Substanzen zu bestimmen. Die anschließende Einzelhaaranalytik wurde dann mittels individueller HPLC-MS/MS-Methoden durchgeführt, welche nur diese Substanzen erfassten.^{23,24} In anderen Fällen wurden Haarproben nach kontrollierten Einmalgaben untersucht, sodass im Vorfeld bereits die zu erwartenden Substanzen bekannt waren und entsprechend spezifische Methoden genutzt werden konnten.^{25,26} Hierdurch ergeben sich insgesamt nur wenige Studien für Einzelhaarbefunde nach dokumentierter einmaliger Dosis für eine sehr begrenzte Anzahl ausgesuchter Substanzen.

2.5 K.-o.-Mittel-Fälle – Prävalenz, Substanzen und Nachweis

Als K.-o.-Mittel werden im allgemeinen zentral wirksame Substanzen bezeichnet, welche geeignet sind, diese einer Person unbemerkt und unwillentlich zu verabreichen. Ziel ist es, die Person in einen Zustand der Wehrlosigkeit zu versetzen, um anschließend ein Sexual- oder Eigentumsdelikt (Raub) verüben zu können. Im internationalen Sprachgebrauch sind die Begriffe „drug facilitated crime“ (DFC) bzw. „drug facilitated sexual assault“ (DFSA) gebräuchlich. Auch ohne anschließendes Delikt stellt allein die Verabreichung einer Substanz gegen den Willen einer Person in Deutschland eine Straftat dar (§ 224 StGB).²⁷

Aussagen über die Häufigkeit von K.-o.-Mittel-Fällen sind schwierig, da es eine hohe Dunkelziffer gibt. Betroffene können sich häufig nicht an den Vorfall erinnern, da es neben einer Bewusstlosigkeit oder Bewusstseinstrübung auch zu anterograder Amnesie kommen kann. Die Geschehnisse werden meist erst zeitlich verzögert und mit Hilfe von beteiligten Bekannten rekonstruiert. Opfer verspüren zudem Verlegenheit oder Scham, sodass es meist erst deutlich später oder gar

nicht zu einer Anzeige bzw. einer (rechts-)medizinischen Untersuchung mit geeigneter Probenahme kommt. Generell ist aber eine Zunahme gemeldeter Fälle zu beobachten.^{28–30}

Es gibt über 100 potenziell geeignete Substanzen, welche als K.-o.-Mittel genutzt werden können. Bei den Wirkstoffen kann es sich um Antipsychotika, Antidepressiva, Benzodiazepine, Hypnotika, Opioide, aber auch illegale Betäubungsmittel, Alkohol (Ethanol) oder andere Substanzen handeln.²⁷ Bei systematischen Untersuchungen von Fällen mit Verdacht auf Substanzbeibringung zeigte sich, dass Ethanol mit einem Anteil von mehr als 30–40% die am häufigsten nachgewiesene Substanz war, gefolgt von Betäubungsmitteln wie Cannabis, Amphetaminen, Cocain und Benzodiazepinen.^{27,28,30,31} In der Mehrzahl der Fälle wurden zwei oder mehr Substanzen nachgewiesen, häufig in Kombination mit Alkohol.^{28,31}

Bei Alkohol ist in den meisten Fällen von einem freiwilligen Konsum auszugehen bzw. wurde dieser auch angegeben. Gerade in der Freizeit und beim Feiern wird Alkohol zum Teil auch bewusst mit anderen gängigen Rauschdrogen kombiniert, sodass nicht immer von einer unwissentlichen Beibringung auszugehen ist.²⁸ Nicht auszuschließen ist jedoch, dass ein zunächst freiwilliger Konsum bewusst von einem Täter ausgenutzt und weiter aktiv gefördert wird, um den zu erwartenden Kontrollverlust auszunutzen. Bei einem Nachweis nicht verordneter Medikamentenwirkstoffe, z.B. Hypnotika wie Benzodiazepine oder Z-Substanzen (Zolpidem, Zopiclon), ist allgemein jedoch nicht von einer freiwilligen Einnahme auszugehen. Diese Substanzen eignen sich aufgrund ihrer geringen Dosierung und Wirkung als ideale K.-o.-Mittel, zudem kommt es gerade in Kombination mit Alkohol zu einer Wirkverstärkung.²⁷

Bei einem entsprechenden Verdacht sollten zeitnah geeignete Proben entnommen werden, um die aufgenommenen Substanzen nachweisen zu können. Hierbei ist vor allem im Urin, wie anfangs erwähnt, gegenüber Blut von einem längeren Nachweisfenster auszugehen. Da einige der infrage kommenden Substanzen jedoch kurze Halbwertszeiten aufzeigen, ist bei einer verspäteten Probennahme ein Nachweis in diesen Matrices unter Umständen nicht mehr möglich. Aufgrund des deutlich längeren Nachweisfensters bietet sich daher gerade bei Verdacht auf K.-o.-Mittel-Beibringung die Untersuchung einer Haarprobe an, welche etwa einen Monat nach dem Vorfall entnommen werden sollte. Selbst bei einer einmaligen Aufnahme kann auf diese Weise für eine Vielzahl von Substanzen häufig ein Nachweis erfolgen.^{32,33}

2.6 Gamma-Hydroxybuttersäure – ein kritischer Analyt

Eine besondere und speziell im Zusammenhang mit K.-o.-Mittel-Fällen häufig erwähnte Substanz ist Gamma-Hydroxybuttersäure (GHB). Im allgemeinen Sprachgebrauch ist oftmals sogar speziell GHB gemeint, wenn von „K.-o.-Tropfen“ die Rede ist. Die Evidenz tatsächlich auffälliger Befunde für GHB wird bei diesem Kollektiv jedoch, wenn überhaupt, nur im unteren einstelligen Prozentbereich angegeben.^{28,30,31}

GHB ist eine natürlich in Säugetieren vorkommende und somit endogene Substanz. Sie ist sowohl eine Vorstufe als auch ein Stoffwechselprodukt des Neurotransmitters Gamma-Aminobuttersäure und verfügt als Neuromodulator über dämpfende Eigenschaften.^{34,35} Mit steigender Dosierung kann GHB bei exogener Aufnahme anfangen von Euphorie und verminderter Hemmung, über Trägheit, Schläfrigkeit oder noch erweckbarer Bewusstlosigkeit bis hin zu einem tiefen Koma führen.³⁴ Sowohl GHB als auch die beiden Vorläufersubstanzen Gamma-Butyrolacton

und 1,4-Butandiol, welche nach Aufnahme schnell zu GHB umgewandelt werden, führen zu einem raschen Wirkeintritt.³⁴ Aufgrund dieser Eigenschaften handelt es sich um geeignete K.-o.-Mittel.

Die maximale Konzentration von GHB nach einer Einzelaufnahme wird bereits nach etwa 30 Minuten im Blut und etwa einer Stunde im Urin erreicht und die Eliminationshalbwertszeit beträgt nur etwa 0,5 Stunden.^{36,37} Durch die rasche Metabolisierung werden in diesen Matrices in weniger als 12 Stunden Konzentrationen erreicht, welche von endogenen Werten nicht mehr sicher abzugrenzen sind. Aufgrund der zuvor beschriebenen häufig großen Zeitspanne zwischen Vorfall und Probenahme ist die Möglichkeit eines Nachweises entsprechend gering. Aufgrund des deutlich längeren Nachweisfensters bietet sich auch hier die Untersuchung einer Haarprobe an. Hierbei besteht jedoch grundsätzlich das gleiche Problem wie bei der Untersuchung auf GHB in Blut oder Urin. Die exogene Aufnahme muss anhand der nachgewiesenen Konzentration sicher von endogenen Werten unterschieden werden können.

In verschiedenen Studien zur Erfassung endogener GHB-Werte im Haar konnte gezeigt werden, dass die Konzentrationen meist unterhalb von 2 ng GHB / mg Haar liegen, wobei jedoch auch Werte bis zu 12 ng/mg beobachtet wurden.^{38–42} Aufgrund der hohen Varianz endogener Konzentrationen wird bei Verdacht auf eine GHB-Beibringung daher empfohlen, die Haarsträhne in mehreren kurzen Segmenten von maximal 1 cm Länge zu untersuchen. Die individuelle GHB-Konzentration wird dann als Basis verwendet, von der sich die Konzentration im zum Vorfall korrespondierenden Segment signifikant abheben soll.⁴³ Als ausreichend signifikant für eine Abgrenzung zu endogenen Werten werden hier je nach Quelle Erhöhungen im Verhältnis zur Basiskonzentration von mindestens 3:1 bis hin zu 10:1 empfohlen. Bei der Untersuchung authentischer Fällen werden diese zum Teil jedoch nicht erreicht.^{44–47}

Trotz des erfolgreichen Nachweises einer Beibringung von GHB in einzelnen Fällen^{43,44,48} bleibt der sichere analytische Beweis einer einmaligen Aufnahme nach wie vor eine Herausforderung für die forensische Toxikologie, welche sich sicher auch in der geringen Anzahl an K.-o.-Mittel-Fällen mit eindeutig erbrachtem Nachweis einer GHB-Aufnahme widerspiegelt.

2.7 Zielsetzung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Anwendungsmöglichkeiten und den zusätzlichen Nutzen der Einzelhaaranalyse im Bereich der forensischen Toxikologie näher zu untersuchen.

In einem ersten Schritt sollte eine Methode zur Einzelhaaruntersuchung auf zentralwirksame Drogen- und Medikamentenwirkstoffe entwickelt und etabliert werden. Hierzu gehörten die Implementierung eines geeigneten und praktikablen Verfahrens zur Einzelhaarsegmentierung und anschließender Extraktion, die Optimierung einer möglichst sensitiven und umfassenden LC-MS/MS-Screeningmethode sowie deren vollständige Validierung. Die Anwendbarkeit dieser Methode sollte dann an unterschiedlichen Haarproben von Fällen mit dokumentierten Einzelaufnahmen verschiedener Wirkstoffe überprüft werden. Anhand dieser Fälle sollte sowohl Erfahrung bei der Interpretation der Ergebnisse gesammelt als auch die Genauigkeit der Rückrechenbarkeit auf den Zeitpunkt der Einnahme getestet werden. Die Ergebnisse zu diesem Teilbereich der Dissertation sind in Veröffentlichung 1 dargestellt.

Die Methode sollte dann nach Möglichkeit auch auf reale K.-o.-Mittel-Fälle angewandt werden und die Ergebnisse sollten als Interpretationshilfe für die Begutachtung dieser Fälle dienen. Die

Veröffentlichungen 3 und 4 zeigen die Anwendbarkeit und den Nutzen der entwickelten Methode anhand von zwei Fallberichten.

Im weiteren Verlauf der Arbeit sollte dann mithilfe der zuvor gesammelten Erfahrung geprüft werden, ob das Verfahren auch auf die Untersuchung von Fällen mit vermuteter GHB-Aufnahme übertragen werden kann. Hierzu musste zunächst eine separate Extraktions- und Analysemethode entwickelt und validiert werden. Mit diesem Verfahren sollten dann sowohl Haarproben von Personen ohne als auch mit vermuteter GHB-Aufnahme untersucht werden. Ziel war es zu überprüfen, ob aufgrund der höheren zeitlichen Auflösung bei der Einzelhaaranalyse eine bessere Unterscheidung bzw. Abgrenzung einer exogenen GHB-Aufnahme zu endogenen GHB-Werten möglich ist. Die Ergebnisse dieser Fragestellungen werden in Veröffentlichung 2 dargestellt und diskutiert.

3. Zusammenfassung

Die Analyse von Drogen- und Medikamentenwirkstoffen in Haarproben ist ein wichtiger Teilbereich der forensischen Toxikologie zur retrospektiven Überprüfung einer Abstinenz oder zum Nachweis eines Konsums. Durch eine segmentweise Untersuchung kann der zu überprüfende Aufnahmezeitraum näher eingegrenzt werden, wobei aufgrund verschiedener Einflussfaktoren das zeitliche Auflösungsvermögen nur im Bereich von etwa einem Monat liegt. Durch die Untersuchung von Einzelhaaren nach Mikrosegmentierung kann die zeitliche Auflösung deutlich erhöht werden. Die Anwendbarkeit und der zusätzliche Nutzen dieses Verfahrens bei der Begutachtung forensisch-toxikologischer Fragestellungen wurde im Rahmen dieser wissenschaftlichen Arbeit untersucht.

Veröffentlichung 1 stellt die Entwicklung und Validierung einer Methode zur Analyse von Einzelhaaren in 2 mm-Segmenten dar. Das Screening umfasst hierbei 156 zentralwirksame Substanzen und erreicht Bestimmungsgrenzen von $\leq 1,25$ pg pro Segment für etwa 90% der Analyten. Mittels dieser Methode wurden Haarproben von 15 verschiedenen Fällen nach einmaliger Einnahme verschiedener Medikamente untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass sich eine Vielzahl der Substanzen nachweisen ließ und sich hierbei jeweils ein charakteristisches, Peak-förmiges Konzentrationsprofil zeigte. Der Nachweis niedrig dosierter Hypnotika und Opiode gelang jedoch nicht immer. Um das den Aufnahmezeitraum repräsentierende Segment zu identifizieren, erwies sich die Analyse von mindestens 10 Haaren je Fall aus statistischen Gründen als notwendig. Es konnte ein Verfahren erprobt werden, um das individuelle Haarwachstum anhand von zwei Haarproben mit unterschiedlichen Entnahmedaten zu bestimmen. Hierbei zeigte sich auch, dass die Substanzen nicht immer im erwarteten Segment zu finden waren. Es stellte sich heraus, dass bei der zeitlichen Rückrechnung sowohl die nach Probenahme am Kopf verbleibenden Stoppen und der intradermale Bereich der Haare berücksichtigt werden müssen als auch unterschiedliche Einlagerungswege der Substanzen. Die Ergebnisse konnten größtenteils anhand der verschiedenen Substanzeigenschaften sowie der physiologischen Grundlagen des Haarwachstumszyklus erklärt werden und liefern so wichtige Erkenntnisse für zukünftige Anwendungen in anderen Fällen.

In Veröffentlichung 3 konnte die Methode erfolgreich bei einem K.-o.-Mittel-Fall eines Kindes angewandt werden. Durch die im Vorfeld durchgeführte segmentweise Routineanalyse der Haarprobe konnten Spuren von vier zentral-dämpfenden Wirkstoffen nachgewiesen werden. Erst durch die deutlich höhere zeitliche Auflösung der Einzelhaaranalyse konnte gezeigt werden, dass es sich um mindestens drei einzelne Vorfälle gehandelt haben muss. Mittels der Routineuntersuchung war eine solche Unterscheidung nicht möglich. Aufgrund der übereinstimmenden Konzentrationsprofile war sogar ersichtlich, dass die Substanzen höchstwahrscheinlich jeweils zusammen verabreicht wurden. Die in Veröffentlichung 1 bereits festgestellte Schwierigkeit im Nachweis von Benzodiazepinen bestätigte sich in diesem Fall, da nur drei der vier routinemäßig detektierten Substanzen mittels Einzelhaaranalyse gefunden werden konnten. Aufgrund der zuvor gesammelten Erfahrung bei der zeitlichen Rückrechnung konnte ein letzter Einnahmezeitpunkt von 117 ± 5 Tagen bestimmt werden, welcher sehr gut mit einem vermuteten Vorfall von 122 Tagen vor Probenahme übereinstimmte. Der dargestellte Fall demonstriert die hohe zeitliche Genauigkeit und den zusätzlichen Informationsgewinn durch die Einzelhaaranalyse.

Veröffentlichung 4 zeigt die Anwendung in einem vermuteten Dopingfall mit Amphetamin. Aufgrund einer ursprünglich positiven Urinprobe wurde auch eine segmentale Haaranalyse durchgeführt, bei der geringe Amphetaminkonzentrationen in mehreren Segmenten gefunden wurden, welche mit einer einmaligen bis gelegentlichen Aufnahme zu vereinbaren waren. Zusätzlich konnte auch die unwissentliche Einnahme eines mit Amphetamin kontaminierten Proteinpulvers über einen längeren Zeitraum die Befunde erklären. Die zur Aufklärung notwendige hohe zeitliche Auflösung und Rückrechnung auf die Einnahmezeiträume konnte nur mit der Einzelhaaranalyse erreicht werden. Hierbei zeigten sich in allen Haaren auffällige Konzentrationsprofile mit zwei dominanten Konzentrationspeaks, welche auf mindestens zwei Aufnahmezeitpunkte hindeuten. Das Zustandekommen der Profile war anhand der vorliegenden Informationen nicht vollständig erklärbar, eine einmalige Amphetaminaufnahme zum Zeitpunkt der Kontrolle konnte jedoch ausgeschlossen werden. Auch wenn aufgrund der Fallumstände der Sachverhalt nicht vollständig geklärt werden konnte, so lieferte die Einzelhaaruntersuchung wichtige zusätzliche Hinweise, welche zur Urteilsfindung beitrugen.

Veröffentlichung 2 stellt die Möglichkeiten und Grenzen der Einzelhaaranalytik für GHB dar. Es konnte erstmals eine Methode entwickelt werden, um Konzentrationsprofile von GHB in segmentierten Einzelhaaren aufzuzeigen. GHB-Rückstände aus der Produktion verschiedener Analysengefäße erschwerten die Methodenentwicklung. Dieses Problem konnte aber letztlich gelöst und die Methode vollständig validiert werden. Die Sensitivität war nicht hoch genug, um GHB in allen untersuchten Proben nachzuweisen. Ab einer durchschnittlichen Konzentration von 0,3 ng GHB / mg Haar konnten bei verschiedenen Proben aber reproduzierbare Konzentrationsprofile erstellt werden, welche die zuvor mittels Routineanalyse erhobenen Konzentrationsverläufe widerspiegeln. Die bereits durch andere Arbeitsgruppen beschriebene höhere GHB-Konzentration im kopfhautnahen Bereich konnte bei einem Teil der Fälle bestätigt werden. Bei zwei Fällen konnte eine vermutete einmalige Beibringung von GHB anhand der erhaltenen Einzelhaarergebnisse nicht belegt werden. In einem Fall mit vermuteter mehrfacher GHB-Aufnahme zeigten sich auffällige Profile mit mindestens zwei Konzentrationspeaks, welche auf eine exogene Aufnahme von GHB schließen lassen. Es konnte erstmals gezeigt werden, dass der Nachweis von GHB auch mittels Einzelhaaranalyse möglich ist. Auch wenn die zeitliche Auflösung der Einzelhaaranalyse die Routinemethode übertrifft, so konnte eine bessere Unterscheidung bzw. Abgrenzung einer einzelnen GHB-Aufnahme zu endogenen GHB-Werten bisher noch nicht eindeutig gezeigt werden.

Im Rahmen dieser wissenschaftlichen Arbeit konnte die vielfältige Anwendungsmöglichkeit der Einzelhaaranalytik in der forensischen Toxikologie dargelegt werden. Die entwickelten Methoden und erhaltenen Ergebnisse stellen wichtige Grundlagen und Erkenntnisse für die Bearbeitung und Interpretation zukünftiger Fälle mit unterschiedlichsten Fragestellungen dar.

4. Abstract (English)

The analysis of illicit drugs and pharmaceuticals in hair samples is an important part of forensic toxicology for the retrospective verification of abstinence or evidence of consumption. By performing segmental hair analysis, the time period of an alleged drug use can more closely be specified. Nevertheless, due to various influencing factors, the temporal resolution is restricted to about one month but can be significantly increased through micro-segmental single hair analysis. The applicability and additional benefits of this procedure in the assessment of forensic toxicological issues were examined as part of this scientific work.

Publication 1 presents the development and validation of a method for analyzing 2 mm segments of individual hairs. The screening includes 156 centrally active substances and achieves limits of quantification of ≤ 1.25 pg per segment for around 90% of the analytes. Using this method, hair samples from 15 different cases following a single intake of various drugs were examined. Most substances could be detected showing a characteristic, peak-shaped concentration profile. However, it was not always possible to detect low-dose hypnotics and opioids. In order to identify the segment that corresponds to the period of intake analysis of at least 10 hairs per case proved necessary for statistical reasons. A method could be tested to determine the individual hair growth rate using two hair samples with different collection dates. It also became apparent that the substances were not always detected in the expected segment. It turned out that when calculating the timepoint of administration, both the extra- and intradermal part of hair remaining on/in the skin after sampling as well as different routes of incorporation have to be taken into account. The results could be explained based on physico-chemical properties of the substances as well as on the physiological basis of hair growth thus providing important insights for future application in other cases.

In publication 3, the method was successfully applied to a child's knockout case. The routine analysis of the hair sample carried out in advance on longer segments revealed traces of four centrally depressant substances. Only through the significantly higher temporal resolution of single hair analysis it could be shown that at least three individual incidents must have occurred. Such a distinction is not possible using routine analysis. Due to the matching concentration profiles, it was even evident that the substances were most likely co-administered. The difficulty in detecting benzodiazepines already noted in publication 1 was confirmed in this case, as only three of the four substances routinely detected could be found by single hair analysis. Based on the previously gained experience, a last intake could be calculated 117 ± 5 days ago, which corresponds very well with a suspected event of 122 days before sampling. The case presented impressively demonstrates the high temporal accuracy and additional information gained through single hair analysis.

Publication 4 shows the application in a suspected doping case involving amphetamine. Due to an initially positive urine sample, a segmental hair analysis was carried out, showing low amphetamine concentrations in several segments, which were consistent with a single to occasional intake. In addition, the unintentional consumption of amphetamine being present in a protein powder over a longer period could also explain the findings. The higher temporal resolution and back-calculation of the intake periods required for clarification could only be achieved by single hair analysis. All hairs showed very characteristic profiles with two dominant concentration peaks, indicating at least two points in time of an amphetamine intake. On the basis of the information

available these findings could not be fully clarified, but a single amphetamine intake at the day of the urine control could be ruled out. Even if precise details could not be fully clarified due to the circumstances of the case, the results of single hair analysis provided important additional information that contributed to the decision-making process.

Publication 2 presents the possibilities and limitations of single hair analysis for GHB. For the first time, a method could be developed showing concentration profiles of GHB in segmented single hairs. The presence of GHB residues from production in various laboratory vessels made method development difficult but could finally be solved and the method fully validated. The sensitivity was not high enough to detect GHB in all samples examined. For samples with an average concentration of at least 0.3 ng GHB / mg hair, reproducible concentration profiles could be obtained, reflecting the concentration course obtained by using routine analysis. A higher GHB concentration in the area near the scalp, which has already been described by other working groups, was confirmed in some of the cases. In two cases, a suspected single administration of GHB could not be proven based on the results of single hair analysis. In a case with suspected multiple GHB intake, there were noticeable profiles with at least two concentration peaks, pointing towards exogenous GHB intakes. It has been shown for the first time that the detection of GHB is also possible using micro-segmental single hair analysis. Even if the temporal resolution exceeds that of the routine method, a better distinction or differentiation between exogenous GHB intake and endogenous GHB values after single intakes could not yet be clearly demonstrated.

As part of this scientific work, the diverse applicability of single hair analysis in the field of forensic toxicology could be demonstrated. The methods developed and the results obtained represent important principles and information for processing and interpretation of future cases with a wide variety of issues.

5. Veröffentlichung 1

„Single hair analysis: Validation of a screening method for over 150 analytes and application on documented single-dose cases”

Wiedfeld, Christopher; Skopp, Gisela; Musshoff, Frank

In: Drug Testing and Analysis (2021) 13(4): 817-832.

DOI: 10.1002/dta.2997

6. Veröffentlichung 2

„Single hair analysis for gamma-hydroxybutyric acid – Method optimization, validation, and application”

Wiedfeld, Christopher; Skopp, Gisela; Musshoff, Frank

In: Drug Testing and Analysis (2024) Epub ahead of print: 1-9.

DOI: 10.1002/dta.3683

7. Literaturverzeichnis

1. Verstraete AG. Detection Times of Drugs of Abuse in Blood, Urine, and Oral Fluid. *Ther Drug Monit.* 2004; 26:200–205. <https://doi.org/10.1097/00007691-200404000-00020>
2. Barroso M, Gallardo E, Vieira DN, Lopez-Rivadulla M, Queiroz JA. Hair: a complementary source of bioanalytical information in forensic toxicology. *Bioanalysis.* 2011; 3:67–79. <https://doi.org/10.4155/bio.10.171>
3. Cappelle D, Yegles M, Neels H, van Nuijs ALN, De Doncker M, Maudens K, Covaci A, Cru-nelle CL. Nail analysis for the detection of drugs of abuse and pharmaceuticals: a review. *Forensic Toxicol.* 2015; 33:12–36. <https://doi.org/10.1007/s11419-014-0258-1>
4. Madea B, Mußhoff F (Eds.) *Haaranalytik: Technik und Interpretation in Medizin und Recht.* Dt. Ärzte-Verl; 2004.
5. United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). Guidelines for testing drugs under international control in hair, sweat and oral fluid – Manual for use by national drug analysis laboratories; 2014.
6. Pragst F, Rothe M, Spiegel K, Sporkert F. Illegal and Therapeutic Drug Concentrations in Hair Segments - A Timetable of Drug Exposure? *Forensic Sci Rev.* 1998; 10:81–111, PMID:26255716.
7. Kintz P. Value of the concept of minimal detectable dosage in human hair. *Forensic Sci Int.* 2012; 218:28–30. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2011.10.018>
8. Kintz P, Gheddar L, Ameline A, Arbouche N, Raul J-S. Hair testing for doping agents. What is known and what remains to do. *Drug Test Anal.* 2020; 12:316–22. <https://doi.org/10.1002/dta.2766>
9. Musshoff F, Skopp G, Pragst F, Sachs H, Thieme D. Anhang C zur Richtlinie der GTFCh zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen: Anforderungen an die Untersuchung von Haarproben. *Toxichem Krimtech.* 2009;76(3):209.
10. Society of Hair Testing (SoHT). 2021 SoHT Consensus on Drugs of Abuse (DOA) Testing in Hair: Consensus Revision; 2021.
11. Society of Hair Testing (SoHT). 2022 SoHT Consensus on General Recommendations for Hair Testing: Consensus Revision; 2022.
12. Baciú T, Borrull F, Aguilar C, Calull M. Recent trends in analytical methods and separation techniques for drugs of abuse in hair. *Anal Chim Acta.* 2015; 856:1–26. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.06.051>
13. Paul L, Musshoff F. Richtlinie der GTFCh zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen. *Toxichem Krimtech.* 2018;85 (1): 2-6.
14. Musshoff F, Thieme D, Schwarz G, Sachs H, Skopp G, Franz T. Determination of hydroxy metabolites of cocaine in hair samples for proof of consumption. *Drug Test Anal.* 2018; 10:681–8. <https://doi.org/10.1002/dta.2317>

15. Musshoff F, Schwarz G, Sachs H, Skopp G, Franz T. Concentration distribution of more than 100 drugs and metabolites in forensic hair samples. *Int J Legal Med.* 2020; 134:989-995. <https://doi.org/10.1007/s00414-020-02259-3>
16. Kintz P. Hair Analysis in Forensic Toxicology: An Updated Review with a Special Focus on Pitfalls. *Curr Pharm Des.* 2017; 23:5480–6. <https://doi.org/10.2174/1381612823666170929155628>
17. Pragst F, Balikova MA. State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. *Clin Chim Acta.* 2006; 370:17–49. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2006.02.019>
18. Sachs H. Theoretical limits of the evaluation of drug concentrations in hair due to irregular hair growth. *Forensic Sci Int.* 1995; 70:53–61; PMID:7860036.
19. Johansen SS, Le Dang LTV, Nielsen MKK, Haage P, Kugelberg FC, Kronstrand R. Temporal patterns of tramadol in hair after a single dose. *Forensic Sci Int.* 2020; 316:110546. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2020.110546>
20. Kuwayama K, Miyaguchi H, Kanamori T, Tsujikawa K, Yamamuro T, Segawa H, et al. Micro-segmental hair analysis: detailed procedures and applications in forensic toxicology. *Forensic Toxicol.* 2022; 40:215–33. <https://doi.org/10.1007/s11419-022-00619-9>
21. Poetzsch M, Steuer AE, Roemmelt AT, Baumgartner MR, Kraemer T. Single hair analysis of small molecules using MALDI-triple quadrupole MS imaging and LC-MS/MS: investigations on opportunities and pitfalls. *Anal Chem.* 2014; 86:11758–65. <https://doi.org/10.1021/ac503193w>
22. Shen M, Xiang P, Shi Y, Pu H, Yan H, Shen B. Mass imaging of ketamine in a single scalp hair by MALDI-FTMS. *Anal Bioanal Chem.* 2014; 406:4611–6. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-7898-1>
23. Thieme D, Baumer C, Sachs H, Teske J. Screening and long-term retrospection for psychoactive drugs in presumptive drug-facilitated crimes using segmented single hairs. *Drug Test Anal.* 2013; 5:736–40. <https://doi.org/10.1002/dta.1502>
24. Kuwayama K, Miyaguchi H, Iwata YT, Kanamori T, Tsujikawa K, Yamamuro T, et al. Strong evidence of drug-facilitated crimes by hair analysis using LC–MS/MS after micro-segmentation. *Forensic Toxicol.* 2019; 37:480–7. <https://doi.org/10.1007/s11419-019-00472-3>
25. Shima N, Nitta A, Kamata T, Sasaki K, Matsuta S, Ishikawa A, et al. Incorporation of zolpidem and methoxyphenamine into white hair strands after single administrations: Influence of hair pigmentation on drug incorporation. *Forensic Sci Int.* 2019; 301:67–75. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.05.013>
26. Kuwayama K, Miyaguchi H, Iwata YT, Kanamori T, Tsujikawa K, Yamamuro T, et al. Different localizations of drugs simultaneously administered in a strand of hair by micro-segmental analysis. *Drug Test Anal.* 2018; 10:750–60. <https://doi.org/10.1002/dta.2259>
27. Madea B, Musshoff F. Knock-out drugs: their prevalence, modes of action, and means of detection. *Dtsch Arztebl Int.* 2009; 106:341–7. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2009.0341>

28. Anderson LJ, Flynn A, Pilgrim JL. A global epidemiological perspective on the toxicology of drug-facilitated sexual assault: A systematic review. *J Forensic Leg Med.* 2017; 47:46–54. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2017.02.005>
29. Costa YRdS, Lavorato SN, Baldin JJCMdC. Violence against women and drug-facilitated sexual assault (DFSA): A review of the main drugs. *J Forensic Leg Med.* 2020; 74:102020. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2020.102020>
30. Busardò FP, Vari MR, Di Trana A, Malaca S, Carlier J, Di Luca NM. Drug-facilitated sexual assaults (DFSA): a serious underestimated issue. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2019; 23:10577–87. https://doi.org/10.26355/eurrev_201912_19753
31. Fiorentin TR, Logan BK. Toxicological findings in 1000 cases of suspected drug facilitated sexual assault in the United States. *J Forensic Leg Med.* 2019; 61:56–64. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2018.11.006>
32. Xiang P, Shen M, Drummer OH. Review: Drug concentrations in hair and their relevance in drug facilitated crimes. *J Forensic Leg Med.* 2015; 36:126–35. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2015.09.009>
33. Scott KS. The use of hair as a toxicological tool in DFC casework. *Sci Justice.* 2009; 49:250–3. <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2009.09.013>
34. Couper FJ, Marinetti LJ. γ -Hydroxybutyrate (GHB) - Effects on Human Performance and Behavior. *Forensic Sci Rev.* 2002; 14:101–21; PMID:26256488.
35. Abanades S, Farré M, Segura M, Pichini S, Barral D, Pacifici R, et al. Gamma-hydroxybutyrate (GHB) in humans: pharmacodynamics and pharmacokinetics. *Ann N Y Acad Sci.* 2006; 1074:559–76. <https://doi.org/10.1196/annals.1369.065>
36. Brailsford AD, Cowan DA, Kicman AT. Pharmacokinetic properties of γ -hydroxybutyrate (GHB) in whole blood, serum, and urine. *J Anal Toxicol.* 2012; 36:88–95. <https://doi.org/10.1093/jat/bkr023>
37. Busardò FP, Jones AW. Interpreting γ -hydroxybutyrate concentrations for clinical and forensic purposes. *Clin Toxicol.* 2019; 57:149–63. <https://doi.org/10.1080/15563650.2018.1519194>
38. Goullé JP, Chèze M, Pépin G. Determination of Endogenous Levels of GHB in Human Hair. Are there Possibilities for the Identification of GHB Administration through Hair Analysis in Cases of Drug-Facilitated Sexual Assault? *J Anal Toxicol.* 2003; 27:574–80. <https://doi.org/10.1093/jat/27.8.574>
39. Nebel, A. Bestimmung von Gamma-Hydroxybuttersäure und Gamma-Hydroxybuttersäure-Metaboliten im Haar und deren forensische Bedeutung (Doktorarbeit, Justus-Liebig-Universität, Gießen). 2022.
40. Thomas JL, Strickland EC, Lloyd EW, Donnelly CC, Rankoth A, Pieczonka SM, et al. Endogenous GHB in Segmented Hair Part I: Inter-individual Variation for Group Comparisons. *J Anal Toxicol.* 2020; 44:628–36. <https://doi.org/10.1093/jat/bkaa080>

41. Martz W, Nebel A, Veit F. Variation of intraindividual levels of endogenous GHB in segmented hair samples. *Forensic Sci Int*. 2019; 302:109913. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.109913>
42. Vaiano F, Serpelloni G, Furlanetto S, Palumbo D, Mari F, Fioravanti A, et al. Determination of endogenous concentration of gamma-hydroxybutyric acid (GHB) in hair through an ad hoc GC-MS analysis: A study on a wide population and influence of gender and age. *J Pharm Biomed Anal*. 2016; 118:161–6. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.10.036>
43. Pascal K, Marion V, Bertrand L. Testing for the Undetectable in Drug-Facilitated Sexual Assault Using Hair Analyzed by TandemMass Spectrometry as Evidence. *Ther Drug Monit*. 2004; 26:211–214. <https://doi.org/10.1097/00007691-200404000-00022>
44. Kintz P, Cirimele V, Jamey C, Ludes B. Testing for GHB in Hair by GC/MS/MS after a Single Exposure. Application to Document Sexual Assault. *J Forensic Sci*. 2003; 48:2002209. <https://doi.org/10.1520/JFS2002209>
45. Bertol E, Mari F, Vaiano F, Romano G, Zaami S, Baglio G, et al. Determination of GHB in human hair by HPLC-MS/MS: Development and validation of a method and application to a study group and three possible single exposure cases. *Drug Test Anal*. 2015; 7:376–84. <https://doi.org/10.1002/dta.1679>
46. United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). Guidelines for the forensic analysis of drugs facilitating sexual assault and other criminal acts. 2011.
47. Cirimele V, Baumgartner M, Vallet E, Duez M. Interprétation des concentrations de GHB mesurées dans les cheveux. *Ann Toxicol Anal*. 2010; 22:161–4. <https://doi.org/10.1051/ata/2010026>
48. Busardo FP, Vaiano F, Mannocchi G, Bertol E, Zaami S, Marinelli E. Twelve months monitoring of hair GHB decay following a single dose administration in a case of facilitated sexual assault. *Drug Test Anal*. 2016;9(6):953-956. <https://doi.org/10.1002/dta.2100>

Anhang A: Veröffentlichung 3

Correspondence Case Report:

“Application of single hair analysis reveals multiple administration of a drug mixture in a case of drug-facilitated sexual assault of a child”

Wiedfeld, Christopher; Skopp, Gisela; Kuepper, Uta; Musshoff, Frank

In: Drug Testing and Analysis (2021) 13(8): 1580-1584.

DOI: 10.1002/dta.3057

Anhang B: Veröffentlichung 4

Case Report:

“Application of single hair analysis in a doping case involving amphetamine”

Wiedfeld, Christopher; Skopp, Gisela; Thieme, Detlef; Musshoff, Frank

In: Drug Testing and Analysis (2022) 14(4): 781-784.

DOI: 10.1002/dta.3217

Anhang C: Beispielbilder zur Einzelhaaranalytik

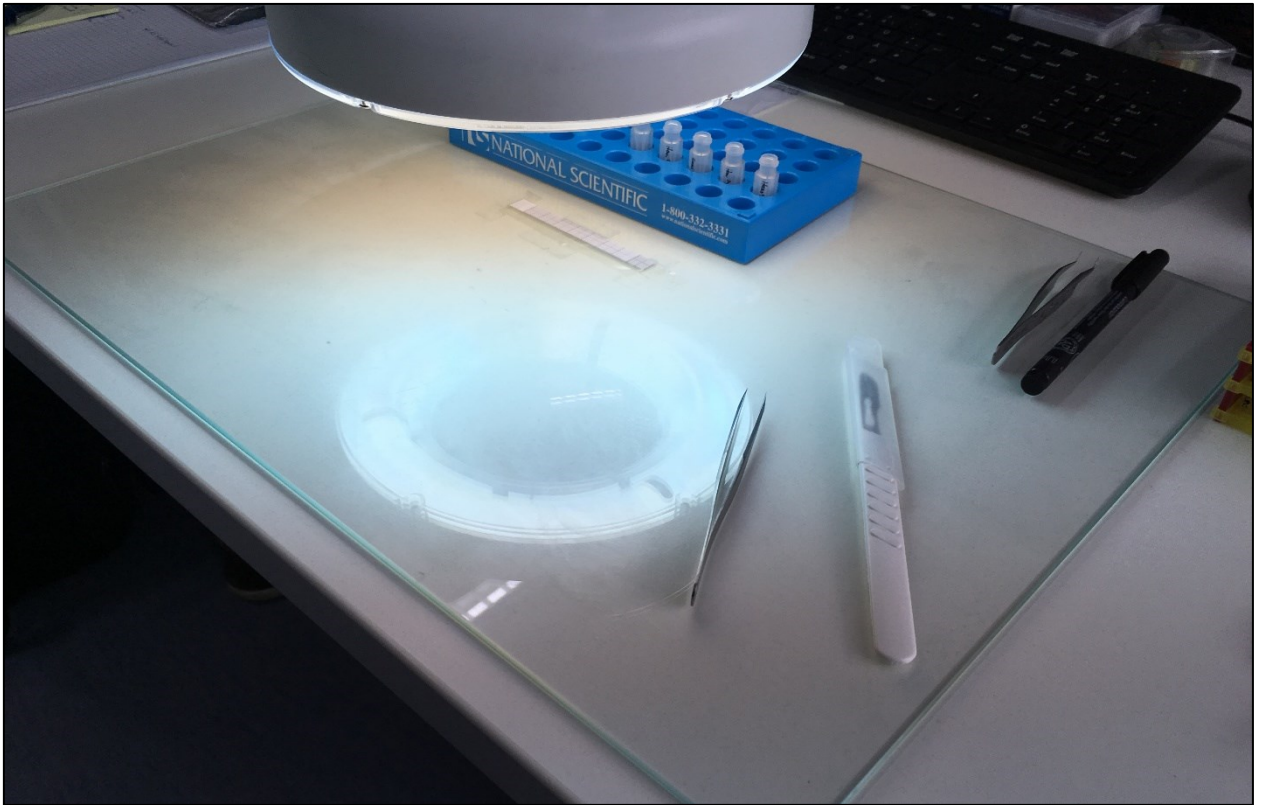


Bild 1: Arbeitsplatz für die Segmentierung von Einzelhaaren. Zu sehen ist eine Glasplatte mit einem aufgeklebten Streifen Millimeterpapier in der Mitte, zu dem parallel das Einzelhaar fixiert wird. Oben im Bild ist die Lupenlampe zu erkennen, rechts liegen die Pinzetten und das Skalpell zum Schneiden, im blauen Ständer stehen die Vials für die einzelnen Segmente.

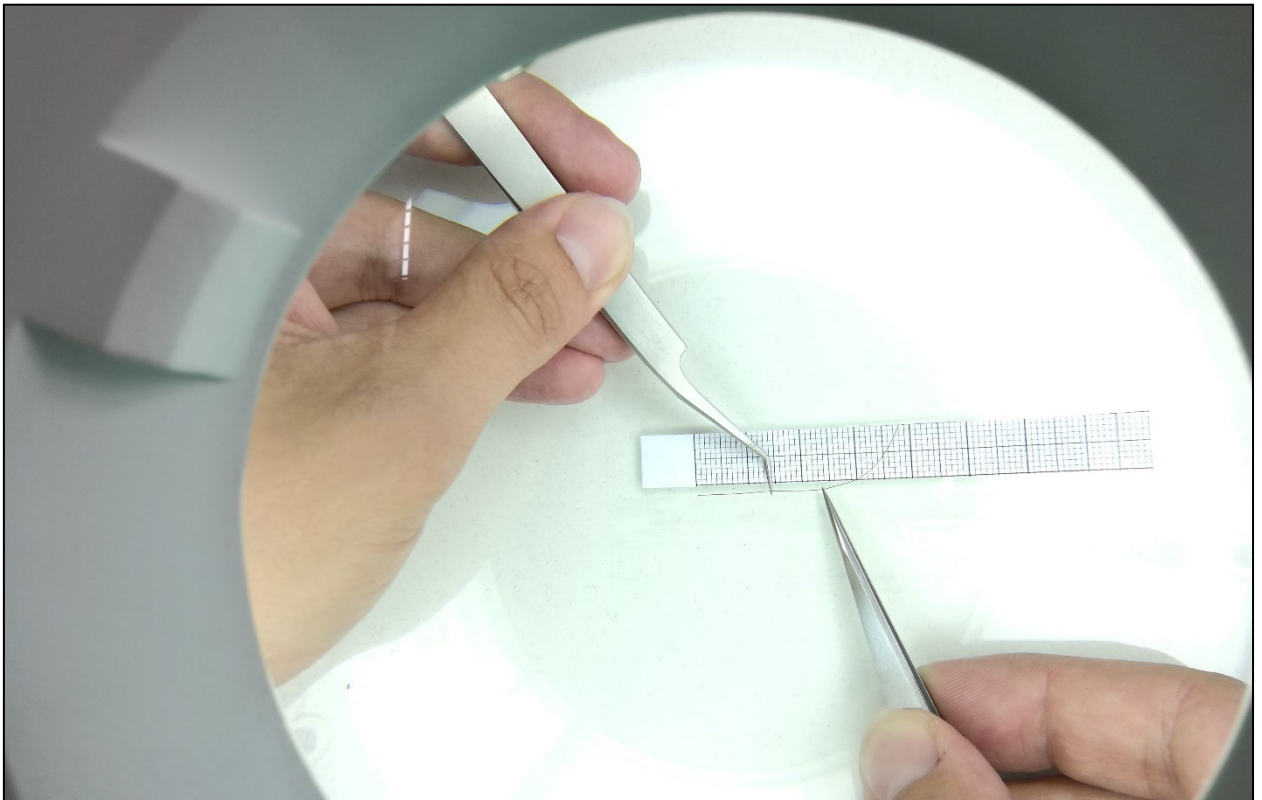


Bild 2: Blick durch die Lupenlampe beim Aufbringen bzw. Fixieren eines Einzelhaares mithilfe zweier Pinzetten. Der transparente Streifen Tesafilm wurde mit der Klebefläche nach oben vor dem Millimeterpapier auf der Glasplatte fixiert (im Bild nicht zu erkennen).

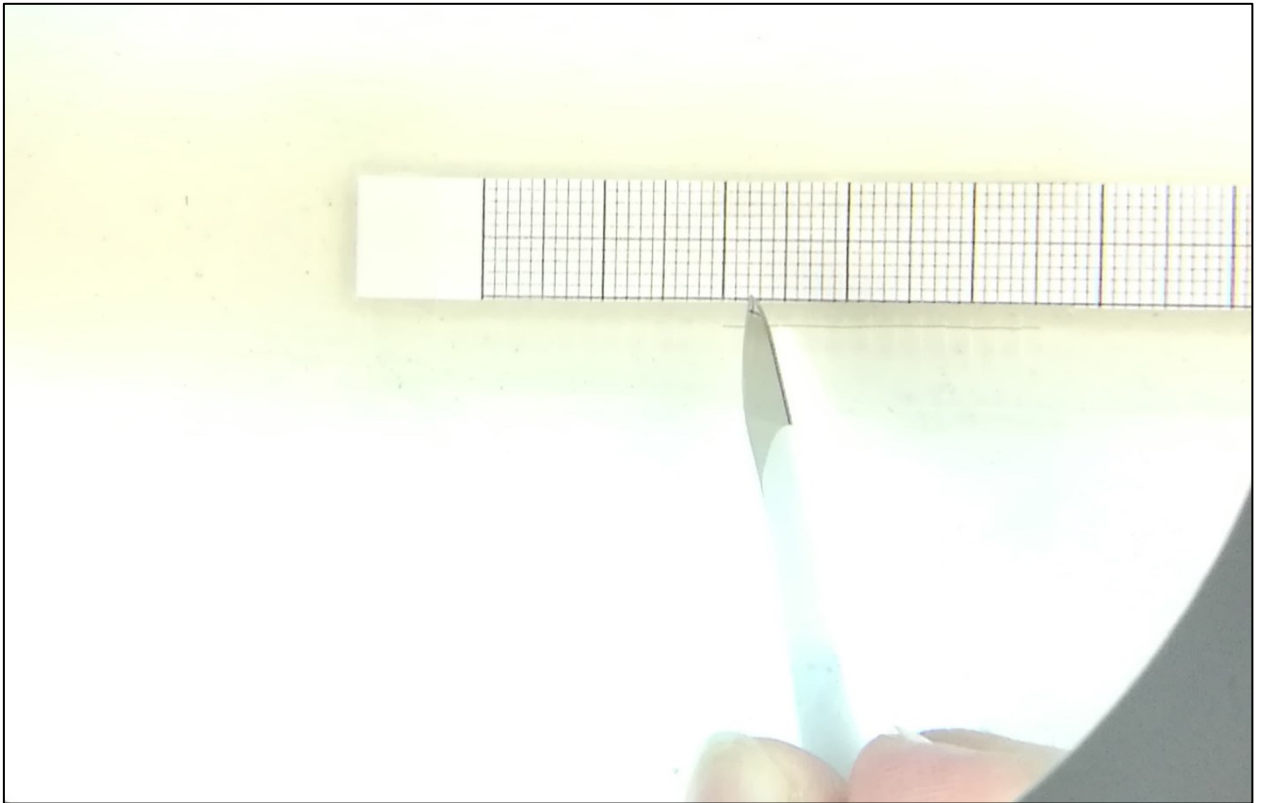


Bild 3: Blick durch die Lupenlampe beim Segmentieren eines Einzelhaares in 2 mm-Segmente mithilfe eines Skalpells.



Bild 4: Überführung eines 2 mm-Haarsegmentes (siehe schwarzer Kreis) in ein Vial für die Extraktion zur Analyse auf Drogen und Medikamente.

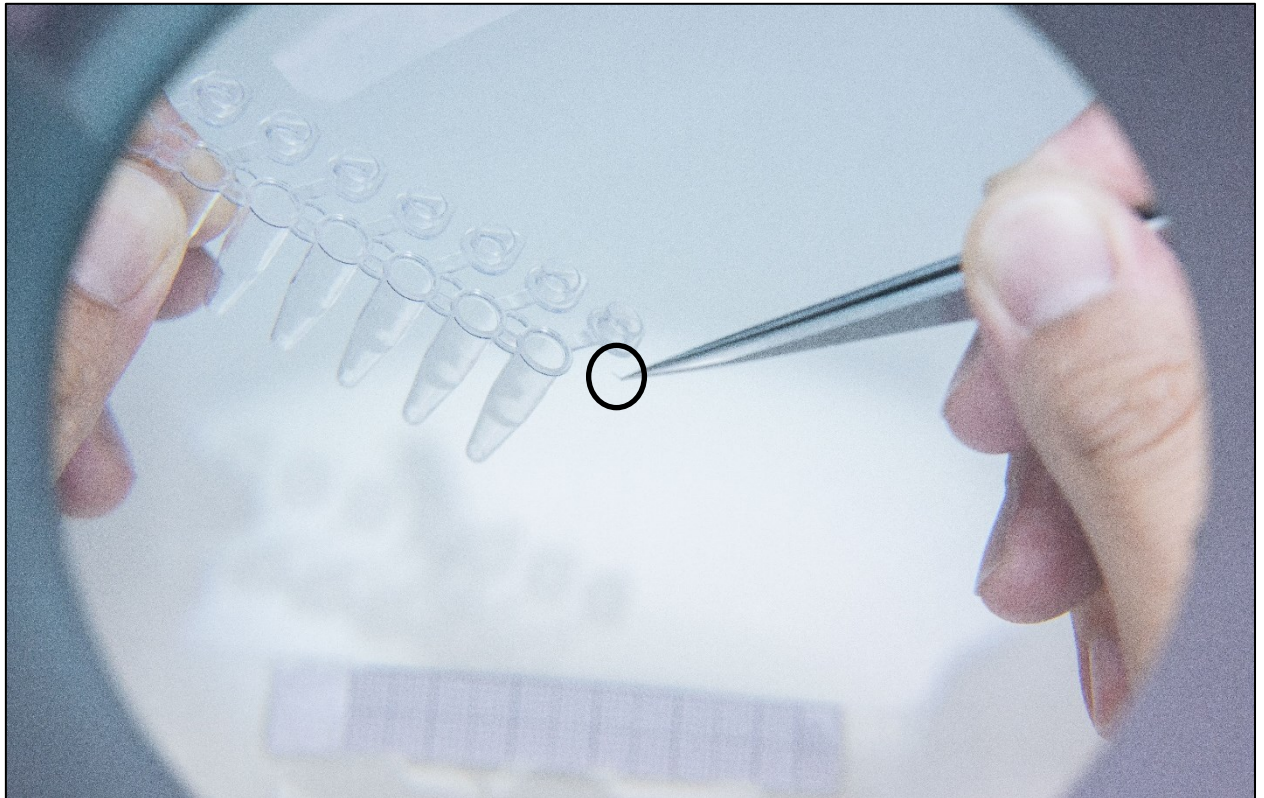


Bild 5: Blick durch die Lupenlampe beim Überführen eines 2 mm-Haarsegmentes (siehe schwarzer Kreis) in ein Vial für die Extraktion zur Analyse auf GHB.



Bild 6: Ein 2 mm-Haarsegment im Vial nach der Extraktion zur Analyse auf Drogen und Medikamente (Extraktionsvolumen 30 µL).

Danksagung

Zuallererst danke ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Frank Mußhoff, der die Durchführung dieses Promotionsprojektes im FTC München ermöglicht hat. Durch seine wissenschaftliche Expertise, den fachlichen Austausch und nicht zuletzt durch den sehr großen Einblick in die Routinearbeit, konnte ich über die Jahre viel an Wissen und Erfahrung sammeln.

Mein herzlichster Dank gilt insbesondere auch Frau Prof. Dr. Gisela Skopp für ihre tolle Unterstützung, Ideen und nicht zuletzt die sehr gewissenhaften und hilfreichen Korrekturvorschläge meiner Manuskripte.

Bedanken möchte ich mich auch bei meinen Kollegen und dem gesamten Team des FTC München, speziell bei Barbara, Gerlinde, Helena, Marianne, Thomas und Torsten. Sei es durch analytische, technische oder wissenschaftliche Hilfe bzw. Knowhow, moralische Unterstützung, Interesse an meinen Projekten oder einfach nur einen kurzen netten Plausch auf dem Flur, Ihr wart eine großartige Unterstützung.

Von ganzem Herzen danke ich meinen Eltern für ihre liebevolle Unterstützung, Motivation und Zuversicht. Ihr habt es stets verstanden, mich mit den richtigen Worten sowohl aufzubauen als auch durch stetige Nachfrage „Und, wie weit bist du mit deiner Arbeit vorangekommen?“ zu motivieren, endlich fertig zu werden. Vielen Dank für alles, was ihr bisher für mich getan habt und zu dem ihr mich letztlich gemacht habt, ihr seid die Besten!

Ebenso sehr gilt mein Dank auch ganz besonders meiner Freundin, die zum richtigen Zeitpunkt in mein Leben getreten ist. Mit dir konnte ich immer über alles reden und wenn es mir mal nicht so gut ging, konnte ich mich bei dir fallen lassen, du hast mich aufgefangen und wieder zum Lachen gebracht. Danke für deine Unterstützung und Motivation gerade im Endspurt meiner Arbeit und vor allem für deine Liebe.