

Capitolo 6

Umano o non umano?

La diagnosi di specie di resti ossei mal conservati è di fondamentale importanza dal momento che nel caso di identificazione dei resti come umani ne consegue un immediato interesse della magistratura (chiaramente, una volta stabilito che non si tratti di resti archeologici o storici). L'importanza di una corretta diagnosi è ben illustrata da un esempio americano, in cui un cacciatore, dopo aver sparato alla moglie in macchina ed averne occultato il cadavere, affermò che i frustoli di teca rinvenuti dopo un anno sul sedile anteriore dell'auto appartenevano ad un cervo. Le analisi istologiche e biomolecolari sconfessarono la versione del marito, provando chiaramente l'origine umana.

La facilità con cui è possibile determinare la specie di origine di resti ossei e dentari dipende ovviamente dalle condizioni dei resti. Su frammenti sufficientemente voluminosi le caratteristiche morfologiche macroscopiche spesso consentono una immediata esclusione dell'origine umana. Quando tuttavia vengono ritrovati reperti carbonizzati, di dimensioni molto ridotte, o privi di porzioni anatomicamente discriminanti, è spesso difficile attraverso ad una mera indagine macroscopica stabilire o escludere l'origine umana. Il problema della diagnosi della specie di origine deve essere quindi affrontato da altri punti di vista: quello microscopico e/o quello biomolecolare.

Prima di sviluppare questo tema conviene tuttavia approfondire alcuni aspetti

relativi alla sistematica, al fine appunto di agevolare la comprensione di argomenti che saranno affrontati in seguito. La sistematica è la scienza che si occupa dell'inventario delle differenti forme viventi che ci circondano. Buffon già nel 1753 spiegava il concetto biologico di specie, considerandola come comunità riproduttiva, cioè come l'insieme degli individui capaci di accoppiarsi tra loro, dando origine a prole simile ai genitori e, a sua volta, feconda.

La specie è un'unità reale, definita da caratteristiche intrinseche; secondo E.O. Wiley è una linea di popolazioni che mantengono una propria identità da altre linee simili, avente una tendenza evolutiva propria e un proprio destino storico. Alla necessità di una corretta identificazione e classificazione dei viventi segue l'importanza di un corretto e univoco impiego di un sistema di nomenclatura, le cui basi non possono essere ignorate da chi si avvicina all'ambito della diagnostica di specie.

La nomenclatura zoologica vigente ha un atto di nascita ufficiale, la decima edizione del *Systema naturae* di Linneo, la cui data di pubblicazione è convenzionalmente fissata il 1° gennaio 1758. Per Linneo l'unità del sistema classificatorio è la specie, e la lingua latina diventa il mezzo di comunicazione internazionale. È con Linneo che si ha la definizione della nomenclatura binomia (nome generico più nome specifico). In base ad un'evoluzione conoscitiva si assiste ad un continuo aggiornamento della nomenclatura

scientifico, affidato alla *Commissione Internazionale di Nomenclatura Zoologica*. Lo scopo fondamentale di tutti i codici di nomenclatura è quello di assegnare a ogni *taxon* riconosciuto dagli specialisti un unico nome, universalmente applicabile. Esiste, inoltre, la nomenclatura volgare che cerca, per ogni lingua attuale, di definire il nome proprio da attribuire a ciascuna specie.

L'unità del sistema classificatorio è la specie, ma il sistema classificatorio è costituito da una serie di differenti livelli tassonomici (*taxa*). Per le nostre finalità, sarà sufficiente conoscere i seguenti livelli che, per essere meglio compresi, sono spiegati con il seguente esempio.

Classe	Ordine	Famiglia	Genere	Specie
Mammalia	Rodentia	Muridae	Rattus	norvegicus (Ratto delle chiaviche)
				rattus (Ratto nero)



Figura 6.1 Esempi di crani appartenenti a specie diverse: 1. capra (*Capra hircus*); 2. uomo (*Homo sapiens*); 3. cinghiale (*Sus scrofa*); 4. cane (*Canis lupus*); 5. merlo (*Turdus merula*); 6. coniglio (*Oryctolagus cuniculus*); 7. gatto (*Felis catus*)

Così come la diagnosi di specie può essere agevolmente effettuata sull'intero organismo di un animale, allo stesso modo, attraverso l'applicazioni di idonee conoscenze osteologiche, essa può essere fatta attraverso lo studio delle caratteristiche dello scheletro e dell'apparato dentario. Come si diceva, quindi, di grande ausilio è, nella maggior parte dei casi, il banale aspetto morfologico dei resti (fig. 6.1, 6.2).

Dimensioni, forma e struttura sono infatti i criteri principali secondo i quali i resti ossei umani vengono ad essere distinti da quelli di altri animali. Ossa intere di altri animali, qualora si abbiano ben presenti i criteri dell'anatomia comparata, sono facil-



Figura 6.2 Esempi di femori di diversi mammiferi. 1. coniglio (*Oryctolagus cuniculus*); 2. gatto (*Felis catus*); 3. capra (*Capra hircus*); 4. bovino (*Bos taurus*); 5. orso (*Ursus spelaeus*); 6. uomo (*Homo sapiens*). Si apprezzino le similarità tra orso e uomo.

mente distinguibili da quelle umane. Le ossa e i denti infatti si sono evoluti e hanno assunto caratteristiche morfologiche e funzionali in relazione alle modalità di vita delle singole specie. Basti pensare alle differenze strutturali esistenti tra un osso di Uccello e uno di Mammifero: l'adattamento al volo dei primi ha portato l'elemento anatomico a ridursi in termini di peso ma non di resistenza, merito di un efficiente sistema di trabecolate interne (fig 6.3).

Un altro classico esempio è quello relativo alle differenze morfologiche che caratterizzano le tre principali tipologie dentarie evolute in base alle modalità di prensione e alla qualità della dieta: erbivora, carnivora e onnivora (fig. 6.4–6.6).

Quindi è possibile ascrivere ogni reperto ad un *taxon* d'appartenenza proprio grazie a queste caratteristiche morfologiche, ed è la maggiore o minore specificità della peculiarità morfologica a determinare la precisione della classificazione sistematica.



Figura 6.3 Sezione trasversale di diafisi di ossa lunghe di mammifero (a sinistra) e uccello (a destra). Si noti la differente struttura trabecolare dell'uccello composta da sottili lamelle che interessano l'intero lume della diafisi, caratteristica tipica di questo gruppo di animali



Figura 6.4 Mandibola di un erbivoro (bovino). Si noti la struttura "lamellare" di ciascun dente



Figura 6.5 Mandibola di carnivoro (cane), con dentizione dotata di cuspidi più acuminate



Figura 6.6 Mandibola di onnivoro (suino), con dentizione che mostra un disegno cuspidale, in particolare ai molari, più pianeggiante rispetto al carnivoro

6.1 Tecniche macroscopiche

Come si è già accennato sopra, la tecnica macroscopica si basa sulle caratteristiche morfologiche che possono essere apprezzate a occhio nudo o, tutt'al più, nel caso di microfauna (Micromammiferi, Rettili, Anfibi e Pesci ossei), con l'impiego di una lente d'ingrandimento o di uno stereomicroscopio. Alcune volte, però, le differenze morfologiche tra specie e specie non sono così marcate, e solo un occhio esperto può non incorrere in errori di identificazione, pur essendo possibile, a seguito di un'attenta valutazione, effettuare una diagnosi.

Occorre maggiore esperienza quando ci si trova a dover analizzare un frammento che non riporta quelle caratteristiche utili all'identificazione; bisogna ricordare, infatti, che non tutta la superficie di un osso o di un dente è significativa da un punto di vista di classificazione a livello di specie. Sarà possibile, quindi, una determinazione a livello di genere, di famiglia, di ordine o di classe dipendentemente dalla caratteristica rinvenuta.

Di seguito sono riportati alcuni tra i più comuni casi di somiglianza morfologica macroscopica tra elementi anatomici appartenenti a specie domestiche e selvatiche e l'Uomo.



Figura 6.7 A sinistra si può apprezzare l'estremità prossimale di un osso metacarpale privo dell'epifisi, in quanto ancora in fase di accrescimento. A destra è rappresentata l'estremità prossimale di una tibia di maiale di circa due mesi di età, ancora in fase di accrescimento e quindi anch'essa priva dell'epifisi prossimale. Ad un occhio poco esperto, quest'ultima potrebbe essere scambiata per un osso del metacarpo, del metatarso o per una falange umana

Di difficile interpretazione talvolta possono risultare frammenti di diafisi, o le ossa di mani e piedi, soprattutto metacarpali, metatarsali e falangi, molto simili tra alcuni mammiferi (per esempio tra l'uomo e l'orso o il maiale), e in particolare quando si tratti di elementi ossei ancora in fase di accrescimento, con epifisi ancora non fuse. Ossa di altri mammiferi molto piccoli in fase di accrescimento possono in effetti essere scambiati per ossa umane, anch'esse in fase di crescita (fig. 6.7).

Le ossa dei grandi mammiferi tuttavia sono più dense e risultano più pesanti rispetto alle ossa umane della stessa grandezza. Soprattutto, le ossa di animali quadrupedi mostrano superfici alle estremità articolari profondamente scanalate e pertanto molto differenti da quelle umane, anche se vi sono casi particolari in cui le estremità prossimali possono non essere di facile interpretazione. Le estremità prossimali di femore ed omero di leone, orso e iena, sono, ad esempio mol-

to simili a quella umana, anche se il collo del femore nell'uomo è più snello e rivela una forma ben distinguibile da quella di altri animali.

Altro problema viene posto dai frammenti di diafisi di ossa lunghe, soprattutto quelle rinvenibili in ambito domestico ed agricolo. Importante in questo caso è il rapporto tra lo spessore della corticale e il diametro dell'osso: per esempio lo spessore della corticale di un femore dell'uomo è pari a circa $\frac{1}{4}$ del suo diametro totale. Nell'osso umano, in pratica, lo spessore della corticale non supera solitamente un quarto (25%) dell'intero diametro della sezione trasversale, al contrario degli altri mammiferi nei quali la corticale è assai più rappresentata, più spessa (rapporto corticale-midollare a favore della prima, e quindi superiori al 25%), con una corrispondente riduzione del canale midollare (fig. 6.8).

Vi sono poi aree del cranio che, se presenti in modo frammentario, o se appartenenti a soggetti giovani (fig. 6.9), possono essere di difficile interpretazione: frammenti di osso nasale per esempio di un cane possono essere simili a quelle di umano, così come possono trarre in inganno piccoli frammenti di mandibola di un ovicaprina, soprattutto in prossimità del condilo. Anche le ossa di mammiferi immaturi potrebbero essere scambiati per ossa di infanti o giovani bambini, così come frammenti delle ossa degli arti di grandi uccelli, mentre quelle di altri volatili più piccoli si potrebbero confondere con resti di un neonato.

Relativamente alla dentatura è importante rammentare le principali caratteristiche che distinguono la dentizione erbivora rispetto a quella propria dei carnivori, essendo la prima dotata di lamelle occlusali parallele mentre nella seconda prevale una organizzazione cuspidata delle corone. A tale proposito si richiamano alcune fonti di possibile dubbio diagnostico: ad esem-



Figura 6.8 A sinistra è illustrata, in sezione trasversale, una emidiafisi di un mammifero di grande taglia, non umano, a destra uno umano. Si noti il maggiore spessore della corticale rispetto al diametro totale della diafisi nell'osso non umano

pio, un incisivo di capra, carbonizzato ed usurato, come anche un molare di gatto in analoghe condizioni, possono benissimo essere confusi con denti umani. In particolare, relativamente alla morfologia dentaria, sono i bovini e gli ovi-caprini a offrire le maggiori probabilità di errore diagnostico, poiché i loro incisivi, specie se usurati o, in qualche modo, rovinati, mostrano una morfologia largamente sovrapponibile agli incisivi dell'Uomo; in second'ordine si ricordano i suini, i cui molari si mostrano largamente simili a quelli della nostra specie. Tale situazione è vieppiù resa fonte di dubbio nelle cremazioni, ove le ossa ed i denti, per effetto dell'energia termica, tendono a deformarsi, perdendo molte delle più fini caratteristiche

morfologiche: di fronte a tali situazioni risulta così necessario procedere alle indagini microscopiche (fig. 6.10, 6.11).

Certamente di non grande aiuto sono i valori limite, a cavaliere fra gli estremi umani e quelli degli animali, per il qual fatto appare sempre necessario agevolare il procedimento diagnostico attraverso le tecniche microscopiche.

6.2 Tecniche microscopiche

L'analisi istologica del tessuto osseo è probabilmente il più valido contributo alla diagnosi di specie nel caso di frammenti privi di



Figura 6.9 Pars basilaris (uno dei nuclei di ossificazione dell'osso occipitale) di un suino di due mesi (a sinistra) e di umano di due anni (a destra)



Figura 6.10 a (sinistra), b (destra). Nella figura a, sono messi a confronto un primo incisivo inferiore deciduo di bovino, a sinistra, e un incisivo superiore centrale deciduo umano. Nella figura b, nello stesso ordine, primo incisivo inferiore permanente di ovicaprino e incisivo superiore laterale umano. Seppur la morfologia, a confronto, sia differente, frammenti di questi denti possono porre seri problemi di attribuzione di specie di origine

caratteristiche morfologiche idonee per una corretta determinazione tassonomica o nel caso di frustoli d'osso.

Di particolare interesse è lo studio della morfologia delle sezioni trasversali degli osteoni. Sia da un punto di vista morfologico sia da quello metrico esistono differenze specifiche.

Questo tipo di indagine può essere applicata anche nel caso di frammenti e frustoli d'osso combusti o materiale degradato, in quanto la struttura istologica spesso si conserva, a differenza dei composti biomolecolari, quali proteine del siero come l'albumina, il DNA e il DNA mitocondriale, che, scomparendo in condizioni di temperature elevate (>800 °C per 20 minuti), non



Figura 6.11 A confronto, similitudini di forma tra 4° premolare superiore di suino, contenuto nella mandibola nella parte bassa dell'immagine, e 3° molare superiore umano (affiancato sopra il dente suino)

possono essere utilizzati per un'indagine di specie. In particolare, le analisi del DNA risentono molto dei fattori di contaminazione e di degradazione. Quindi se il materiale è costituito da pochi frammenti ossei combusti di vecchia data, oppure seppelliti in un ambiente molto umido, è consigliabile la tecnica istologica, in quanto la struttura calcifica apparentemente rimane indenne dagli insulti ambientali, a meno che non si tratti di materiale conservato in ambienti a pH fortemente acido o alcalino.

Lo studio al microscopio a luce trasmessa di sottili sezioni ossee (90-100µ) non decalcificate, ottenute con la molatura e inclusione in balsamo del Canada (cfr. Capitolo 5) permette di osservare, anche nel caso di materiale relativamente degradato, le strutture tipiche dell'osso e cioè gli osteoni primari e secondari, i frammenti, l'osso lamellare e tutti gli elementi inorganici di questo tessuto.

Importante ai fini specie-specifici sono il particolare disegno e la distribuzione degli osteoni così come alcuni parametri metrici non solo dell'osteone ma soprattutto del canale Haversiano (quali il perimetro, l'area, il diametro) e i loro rapporti. Di solito questa tecnica consente di escludere l'origine



Figura 6.12 a (sinistra), b (destra). La figura 6a (uomo, *Homo sapiens*) mostra il tipico disegno umano, con distribuzione random degli osteoni e forma alquanto regolare dell'intero sistema Haversiano. La figura 6b (gatto, *Felis catus*) mostra invece osteoni con canale Haversiano più piccolo, a margini più irregolari (sezione non decalcificata, 100X)

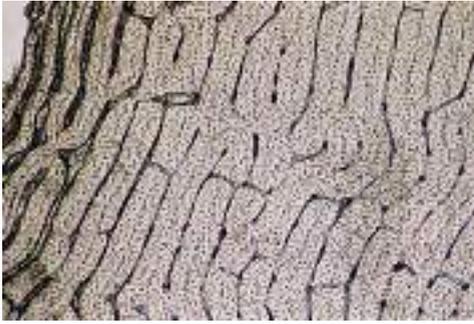


Figura 6.13 a (sinistra), b (destra). La figura 6a (suino, *Sus scrofa*) e 6b (capra, *Capra hircus*) mostrano una struttura lamellare regolare, a strisce parallele (sezione non decalcificata, 100X)



Figura 6.14 a (sinistra), b (destra). A sinistra si può apprezzare la presenza di osso plessiforme, con osteoni disposti in file parallele (cavallo, *Equus caballus*); a destra la struttura più disorganizzata di uccello (tacchino, *Meleagrus pavus*) (sezione non decalcificata, 100X)

umana, se il particolare disegno istologico o le dimensioni dei singoli osteoni non sono compatibili con quelli tipici della specie umana. È tuttavia possibile che vi siano delle specie, o particolari distretti anatomici, più difficili da interpretare e che pertanto non potranno per-

mettere una siffatta diagnosi. Inoltre gli osteoni della specie umana sono disposti in modo casuale con spaziatura irregolare tra di loro. Una classica fonte di esclusione di provenienza umana pertanto è la presenza di osso cosiddetto "plessiforme" e cioè con allineamento

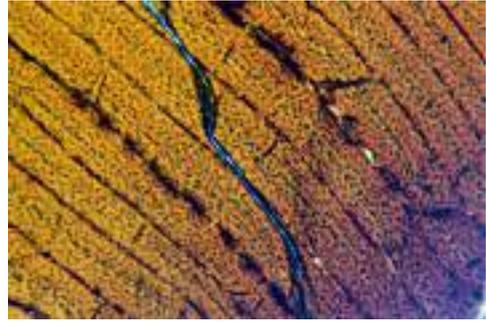
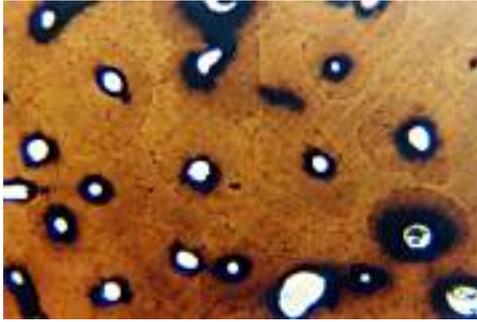


Figura 6.15 a (sinistra), b (destra). Le due immagini mostrano simili sezioni non decalcificate di ossa combuste. Si può apprezzare ancora la nettezza con cui si apprezzano le strutture osteoniche in (a) (uomo, *Homo sapiens*) e la struttura plessiforme in (b) (suino, *Sus scrofa*) (sezione non decalcificata, 100X)

degli osteoni in file orizzontali all'interno di strati di osso lamellare. Questo quadro manca nell'osso umano e pertanto permette una facile diagnosi di esclusione. In pratica, l'osso umano si caratterizza per la sua struttura non stratificata, per il percorso longitudinale dei vasi e per il particolare disegno e distribuzione degli osteoni. Altri animali possono avere una struttura lamellare pluristratificata dell'osso, con una rete vascolare circolare o radiale, e osteoni di forma irregolare o disposti in file parallele (fig. 6.12–6.14).

Altri elementi talvolta discriminanti sono le dimensioni degli osteoni e del canale haversiano. Queste strutture sono ovviamente più piccole in animali piccoli, e crescono fino a raggiungere dimensioni massime con l'uomo. Per esempio, l'area di una sezione di osteone umano è di media intorno ai 0.039 mm^2 , rispetto al cane che ha sezione dell'osteone media pari a 0.018 mm^2 . I mammiferi più grossi dell'uomo non hanno peraltro osteoni significativamente più grossi.

Come si diceva esiste anche una differenza discriminante tra i differenti *taxa*, soprattutto nelle dimensioni del canale di Havers e del perimetro dell'osteone. In particolare recentemente, da alcuni degli autori, è stato elaborato un algoritmo per distinguere osteoni umani da quelli appartenenti ad altre specie attraverso l'utilizzo di una funzione discriminante canonica basata su 3

variabili, al fine di denotare l'origine umana di un frammento osseo.

$$D = -3.99 - 0.07 (\text{area C}) + 0.04 (\text{DC max}) + 0.07 (\text{DC min})$$

Dove area C è l'area del canale haversiano; DC max è il diametro massimo del canale; DC min quello minimo.

Un valore D positivo denota un'origine umana (80% corretta classificazione); un negativo indica una fonte non umana.

Va sempre tenuto conto tuttavia del margine di errore, e della possibilità, essendo questa metodica tarata su ossa lunghe e su soggetti adulti, di variabilità dell'osteone in soggetti molto giovani e/o in ossa piatte: tali variabili non sono del tutto conosciute.

A vantaggio di questo metodo va detto tuttavia che è ben applicabile su ossa combuste, in quanto le elevate temperature paiono non alterare in maniera statisticamente significativa la metrica della struttura osteonica (Fig. 6.15).

Riassumendo, quando si proceda ad un'analisi microscopica ossea a fini identificativi, è necessario appurare:

la forma: l'aspetto circolare dell'osteone e del canale haversiano, depongono per un osso umano, così come l'assenza di osso plessiforme;

le dimensioni: da qui la necessità di misurare il diametro del canale haversiano e del margine periferico dell'osteone.

Nel caso in cui si debbano identificare da un punto di vista tassonomico frammenti di denti che abbiano perso le caratteristiche morfologiche macroscopiche idonee allo scopo, il tessuto di maggior interesse per l'indagine è lo smalto.

Lo smalto è organizzato in prismi di idrossiapatite, la cui morfologia risulta differente per i vari gruppi tassonomici.

Sul piano isto-morfologico, si distinguono essenzialmente tre tipi differenti di disegno delle sezioni trasverse dei prismi di smalto:

Tipo I: prismi con sezione trasversale d'aspetto tondeggiante, frequente nei Cetacei Odontoceti, Sirenidi, Insettivori, nei Tapiri, nei Chiroterri;

Tipo II: prismi con sezione a forma di "ferro di cavallo", propria degli Artiodattili, Equidi, Cercopitecidi, Pinnipedi, Marsupiali, Roditori, Lagomorfi

Tipo III: prismi a forma di "ogiva" o a "ferro di cavallo sagomato", frequente tra gli Ominoidea, Carnivori, Pinnipedi, Proboscidi, i Carnivori. Il tipo III è suddivisibile in 2 varianti: III A, caratterizzato da un disegno esagonale tipico dei Pongidi, il III B è il classico disegno a toppa di serratura tipico, ma non esclusivo, di *Homo sapiens*.

Pertanto è ben ovvio che la diagnosi microscopica sul tessuto dentario risulta meno affidabile rispetto a quella ossea.

6.3 Tecniche biomolecolari

Un ulteriore metodo per effettuare la determinazione di specie è quello dell'estrazione e conseguente identificazione di molecole specie-specifiche con l'ausilio di tecniche biomolecolari. Prioritario è lo studio al ri-

ferimento del DNA, vale a dire, una volta effettuata l'estrazione di potenziale DNA residuo dal tessuto osseo o dentario, la identificazione di aree genetiche specifiche per la specie umana. Anche se la sensibilità delle tecniche genetiche è notevole, va tuttavia tenuto conto dei già richiamati problemi di degradazione e di contaminazione del materiale in esame.

Non è scopo di questo testo trattare le problematiche e le metodiche di natura genetica; tuttavia val la pena effettuare alcune osservazioni generali sulle indagini biomolecolari, che dovranno essere tenute presenti non solo per la diagnosi di specie, ma anche per tutte le altre indagini che implicano l'utilizzo di queste metodiche.

Malgrado avanzamenti recenti nel ramo della biologia molecolare (l'utilizzo di PCR, sequenziatori, ecc.) il problema tecnico che spesso affligge indagini genetiche su materiale scheletrico e dentario è quello dell'estrazione di DNA soprattutto quando si tratta di resti degradati (per esempio denti ed ossa asciutte).

Il problema in questo caso è triplice: la contaminazione, la degradazione e la problematica di estrazione.

La contaminazione è correlata all'estrema sensibilità delle tecniche genetiche. In teoria, una singola cellula proveniente dalla cute, dalla saliva o da altri fonti organiche è sufficiente per contaminare il reperto. È quindi necessario poter escludere fonti di contaminazione o comunque provvedere a mettere in atto misure preventive per evitare la contaminazione ancor prima di lavorare sul reperto.

La degradazione è da correlarsi invece alla degradazione della catena dell'acido desossiribonucleico. Man mano che avanzano i processi di decomposizione, oppure per l'esposizione ad agenti atmosferici (fuoco, acqua, ecc.), aumentano le probabilità che la regione genetica utile per il tipo di diagnosi in oggetto si degradi e che quindi non sia possibile effettuare l'indagine genetica

del reperto. Ciò può in parte essere ovviato dall'utilizzo di DNA mitocondriale, il quale è presente in numerose copie rispetto al DNA nucleare: per questo motivo la sua ricerca aumenta le possibilità di ottenere come target una sequenza genetica ancora integra. Tuttavia è sempre necessario tenere presente che non sempre, da resti di questo tipo, si potranno ottenere informazioni genetiche utili, ed è quindi sempre necessario considerare le metodiche alternative, quali quelle antropologiche ed odontologiche (in particolare microscopiche).

Il terzo problema, quello della estrazione, riguarda l'affinità che il DNA ha per la componente inorganica dei tessuti calcificati, in particolare per l'idrossiapatite, matrice di ossa e denti. Il DNA pare fissarsi tenacemente alla matrice inorganica, tant'è che da questa risulta estraibile solo ricorrendo a metodiche complesse. Sono stati messi a punto dei metodi estrattivi il cui scopo consiste nel favorire la scissione del legame DNA dall'idrossiapatite che lo complessa. Vi sono metodi di estrazioni "affini", i quali provocano la precipitazione e l'eliminazione delle "impurità" (per esempio fenolo-chloroformio), lasciando in soluzione il DNA. Questi sono metodi assai grossolani che difficilmente riescono ad estrarre DNA tenacemente complessato all'idrossiapatite.

Vi sono poi metodi non-affini i quali invece prevedono l'utilizzo di materiale che si fissa saldamente al DNA, strappandolo all'idrossiapatite. Le principali metodiche sono: (a) l'utilizzo di granuli di silice: il

materiale osseo viene trattato con delle particelle di silice che hanno una peculiarità affinità per il DNA e che quindi isolano all'interno di una soluzione ossea, ad esempio, il DNA dalle restanti impurità; (b) metodi immunologici: sono stati messi a punto, anche se sono tutt'ora in fase di studio, metodi immunologici che sfruttano la reazione antigene-anticorpo per estrarre il DNA. In questo caso il materiale viene "cimentato" con sfere magnetiche cui sono adesi degli anticorpi anti-DNA. Dopo aver messo in incubazioni tali sfere magnetiche + anticorpo anti-DNA insieme alla soluzione contenente per esempio la polvere dell'osso o del dente, mediante una calamita vengono isolate le sfere che, attraverso l'anticorpo, avranno "catturato" il DNA.

Va infine ricordato che, sempre al fine della determinazione della specie di origine, non bisogna trascurare il potenziale di alcuni metodi immunologici che vanno a ricercare epitopi particolari delle proteine specie-specifiche. Se una volta venivano utilizzate reazioni di precipitazione in agar, ora esistono metodiche molto più sensibili, quali l'ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), che sfruttano la reazione antigene-anticorpo per evidenziare la presenza di materiale umano, e che possono rilevare anche picogrammi di sostanza. Grosso vantaggio di queste metodiche è la maggiore resistenza delle proteine, rispetto al DNA, agli agenti atmosferici e al tempo, anche se tali metodiche sono pur sempre meno sensibili della PCR.