



**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DEL MOLISE
CAMPOBASSO**

**DIPARTIMENTO DI
MEDICINA E SCIENZE DELLA SALUTE
“VINCENZO TIBERIO”**

**CORSO DI DOTTORATO
IN MEDICINA TRASLAZIONALE E CLINICA**

SSD: MED/43

**STIMA DELL'ETÀ
MEDIANTE ANALISI DEGLI INDICATORI
DI MATURITÀ DENTALE E SCHELETRICA**

Relatore:

Chiar.mo

Prof. Carlo Pietro Campobasso

Coordinatore:

Chiar.mo

Prof. Marco Sarchiapone

Candidato

Dott. Francesco De Micco

ANNO ACCADEMICO 2019/2020

INDICE GENERALE

Introduzione	5
--------------------	---

CAPITOLO PRIMO

La stima dell'età dei minori stranieri non accompagnati nella normativa italiana ed europea

I.1 Il fenomeno migratorio e l'identità non documentata	9
I.2 L'identificazione e la stima dell'età in Italia: evoluzione e sintesi normativa	10
I.2.1 Il Protocollo per l'accertamento olistico multidisciplinare dell'età	13
I.3 La stima dell'età anagrafica in Europa	17
I.3.1 Il "cascade approach" secondo l'European Asylum Support Office.....	19

CAPITOLO SECONDO

L'approccio olistico, multidisciplinare e combinato

II.1 Il "metodo combinato" secondo lo Study Group on Forensic Age Diagnostics of the German Association of Forensic Medicine	24
II.2 L'esame clinico-auxologico	24
II.3 La maturazione scheletrica.....	29
II.3.1 I metodi per la determinazione dell'età scheletrica.....	36
II.3.2 Il metodo Bo/Ca	42
II.3.3 Lo studio dell'epifisi sternale della clavicola.....	44
II.3.4 L'ecografia e la RM nella determinazione dell'età scheletrica.....	46
II.4 Odontogenesi e metodi di valutazione dell'età dentaria	48

CAPITOLO TERZO

Scopo della ricerca e Materiali e metodi

III.1 Scopo della ricerca.....	64
III.2 Materiali e metodi	66

CAPITOLO QUARTO

Risultati

IV.1 Stima dell'età biologica nei minori stranieri non accompagnati. Analisi comparativa di protocolli italiani (<i>De Micco et al, Riv. It. Med. Leg., 2020</i>).....	72
IV.2 Problematiche etiche nella stima dell'età cronologica mediante lo studio radiologico del terzo molare (<i>De Micco et al., Aust J Forensic Sci, 2020</i>)	105
IV.3 Indice di maturità del terzo molare (I _{3M}) e stima dell'età cronologica in popolazioni di differente etnia (<i>De Micco et al., Med. Sci. Law, 2021</i>).....	121
IV.4 Valutazione dell'età scheletrica mediante la misurazione planare delle ossa del carpo e dell'epifisi distale di radio ed ulna in un campione di subadulti sudafricani (<i>Angelakopoulos et al., Aust J Forensic Sci, 2020</i>) .	131
IV.5 Stima dell'età scheletrica in una popolazione sudafricana contemporanea mediante comparazione di due metodi radiologici (Bo/Ca e TW2) (<i>De Micco et al., Aust J Forensic Sci, 2021</i>).....	147

CAPITOLO QUINTO

Conclusioni

V Conclusioni.....	170
<i>Bibliografia</i>	182

Acronimi utilizzati nel testo

- ACL: *Adjective Check List*
- AGFAD: *Study Group on Forensic Age Diagnostics of the German Association of Forensic Medicine*
- ALARA: *As Low As Reasonably Achievable*
- Bo/Ca: (Bo)nes; (Ca)rpal
- CEAS: *sistema europeo comune di asilo*
- EASO: *European Asylum Support Office*
- FASE: *Forensic Anthropology Society of Europe*
- G&P: *Greulich e Pyle*
- GIAOF: *Gruppo Italiano di Antropologia e Odontologia Forense*
- I_{3M}: *indice di maturità del terzo molare*
- ICC: *coefficiente di correlazione interclasse*
- ISCA: *International Save the Children Alliance*
- MSNA: *minori stranieri non accompagnati*
- OMS: *Organizzazione Mondiale della Sanità*
- POM: *Protocollo per l'identificazione e per l'accertamento olistico multidisciplinare dell'età dei minori non accompagnati*
- SCEP: *Separated Children in Europe Programme*
- SEE: *errore standard di stima*
- TEM: *errore tecnico di misurazione*
- TW: *Tanner-Whitehouse*
- TW2: *Tanner-Whitehouse 2*
- TW3: *Tanner-Whitehouse 3*
- UNHCR: *United Nations High Commissioner for Refugees*

INTRODUZIONE

La stima dell'età in individui viventi rappresenta un'area di ricerca applicata piuttosto recente per le scienze forensi, purtuttavia essa ha assunto un ruolo preminente nell'ambito dell'antropologia forense (*Ubelaker e Khosrowshahi, 2019*), divenendo uno dei *topics* più rilevanti della ricerca sperimentale (*Lei et al., 2019*).

Molteplici sono gli ambiti applicativi, in relazione ai procedimenti civili e penali, in cui può essere esperita una stima dell'età cronologica, quantunque in relazione all'aumento globale dei movimenti migratori, i più importanti riguardano i procedimenti identificativi riguardanti rifugiati, richiedenti asilo e persone vittime di tratta (*Schmeling et al., 2007*).

In tale ambito, la stima dell'età anagrafica in soggetti viventi e privi di documenti identificativi ovvero laddove sussistano ragionevoli o fondati dubbi che l'età sia diversa da quella dichiarata, costituisce il presupposto essenziale affinché una persona possa beneficiare delle misure di protezioni alle quali ha diritto in quanto minore, evitando l'adozione di provvedimenti lesivi quali il respingimento alla frontiera, il rimpatrio forzato, la detenzione amministrativa e la sistemazione in centri di accoglienza insieme ad adulti.

Ciò nonostante, uno dei principali problemi dell'antropologia forense - segnatamente alla problematica della stima dell'età - attiene l'assenza di consenso e di uniformità nell'ambito delle procedure e delle metodologie utilizzate e l'applicabilità o meno dei metodi per la stima dell'età a popolazioni di diversa etnia (*Cunha et al., 2009*), a cui devono aggiungersi i limiti ed i rischi di errore legati alla valutazione medica attuata con metodi invasivi (*Aynsley-Green et al, 2012*), nonché l'atavica e quanto mai sanata difficoltà comunicativa tra le scienze biologiche, fondate su regole predittive di natura statistico-probabilistica, e le scienze giuridiche, fondate sulle ragionevoli certezze del diritto.

Il presente progetto di ricerca nasce dalla collaborazione del gruppo di ricerca del prof. Carlo Pietro Campobasso (Università della Campania "L. Vanvitelli") con la prof.ssa Cristina Cattaneo (Direttore del Laboratorio di

Antropologia e Odontologia Forense - LABANOF dell'Università degli Studi di Milano) e con il prof. Roberto Cameriere (Università degli Studi di Macerata), ed è inserito nell'ambito di un più ampio progetto di ricerca internazionale denominato "AgEstimation project" che si avvale anche della collaborazione di altri ricercatori internazionali.

Sono state individuate e sviluppate 3 linee di ricerca aventi ad oggetto rispettivamente: (1) l'analisi del quadro normativo italiano sulla stima dell'età biologica dei minori stranieri non accompagnati e valutazione comparativa dei protocolli operativi vigenti in alcune Regioni, Province e Comuni italiani; (2) un approfondimento degli aspetti etici e deontologici correlati alla stima dell'età cronologica espletata tramite le metodiche radiografiche di studio dell'odontogenesi di Demirjian A (*Demirjian, Goldestein, 1976*) e dell'indice di maturità del terzo molare I_{3M} (*Cameriere et al., 2008*); (3) l'affidabilità predittiva del metodo radiografico Bo/Ca (*Cameriere et al., 2006*) per la valutazione dello sviluppo scheletrico della mano e del polso e del metodo I_{3M} (*Cameriere et al., 2008*) per la valutazione dello sviluppo del terzo molare.

L'applicazione disomogenea della norma che prescrive il carattere multidisciplinare dell'accertamento avente quale finalità la stima dell'età cronologica (*Save the Children, 2020*), le criticità correlate all'utilizzo di radiazioni ionizzanti per finalità giuridico-amministrative (*Aynsley-Green et al., 2012; Benso e Milani, 2013*) ed il contrasto esistente tra l'approccio valutativo *combinato* (*Schmelting et al., 2008*), teso all'utilizzo simbiotico delle metodiche cliniche e radiologiche, e quello "a cascata" (*EASO, 2018*), fondato sul ricorso graduale e progressivamente invasivo alle metodiche non-mediche, mediche e di diagnostica per immagini, hanno costituito il substrato razionale per intraprendere una valutazione comparativa tra alcuni protocolli per l'identificazione e per la stima dell'età cronologica dei minori stranieri non accompagnati vigenti sul territorio italiano.

I risultati scaturiti hanno consentito di delineare un quadro piuttosto disomogeneo sia in relazione alla composizione del team di specialisti cui è richiesto il compito di accertare l'età dei minori stranieri non accompagnati sia

con riferimento alle modalità accertative mediante le quali dovrebbe svolgersi la procedura di valutazione dell'età cronologica.

Inoltre, i risultati ottenuti hanno anche costituito il substrato critico per l'avvio di un'attività di raccolta dei dati – di carattere nazionale sotto l'egida del Gruppo Italiano di Antropologia e Odontologia Forense (GIAOF) ed internazionale con il patrocinio della Forensic Anthropology Society of Europe (FASE) - relativi alle procedure usate nella stima dell'età nel vivente, stante la necessità di operare una ricognizione sui metodi di indagine più frequentemente utilizzati nella pratica medico-legale.

Gli studi inerenti l'indice di maturità del terzo molare I_{3M} (*Cameriere R et al., 2008*) ed il metodo Bo/Ca (*Cameriere R et al., 2006*) per la valutazione dello sviluppo scheletrico del distretto mano/polso sono stati esperiti in rapporto alla necessità di fare ricorso a metodiche quantitative al fine di eludere i limiti ed i rischi di errore correlati all'utilizzo di metodiche qualitative o semi-quantitative ed all'esigenza di verificare l'applicabilità o meno dei metodi per la stima dell'età in popolazioni di diversa etnia.

Per quanto attiene l'indice di maturità del terzo molare I_{3M} , è stata condotta una revisione sistematica della letteratura atta a verificare l'accuratezza del metodo Cameriere (I_{3M}) (*Cameriere R et al., 2008*), che è esitata nella selezione ed analisi di 22 pubblicazioni scientifiche, per un totale di 12.286 ortopantomografie (OPT), di cui 5.723 appartenenti a soggetti di sesso maschile e 6.563 a soggetti di sesso femminile, di età compresa tra i 14 ed i 24 anni, appartenenti a 21 diverse nazionalità.

L'attività di ricerca inerente l'affidabilità del metodo Bo/Ca (*Cameriere et al., 2006*) nella stima dell'età cronologica è stata espletata in due fasi.

Nella prima fase, considerato che il metodo Bo/Ca era stato applicato esclusivamente ad una popolazione italiana (*Cameriere et al., 2006; De Luca et al., 2016*) slovena (*Cameriere et al., 2007*) ed egiziana (*El-Bakary et al., 2014*) e stante la necessità di accertare la possibilità di utilizzo o meno dei metodi per la stima dell'età in popolazioni di diversa etnia, si è verificata l'efficacia predittiva del metodo su un campione sudafricano di 563 subadulti,

bianchi e neri, di cui 243 maschi e 320 femmine, di età nota compresa tra 7 e 16 anni.

Appurata l'effettiva affidabilità del metodo in ambito forense, nella seconda fase si è ritenuto opportuno espletare un'analisi comparativa tra il metodo Bo/Ca ed il metodo Tanner-Whitehouse-2 (*Tanner et al., 1975*) con particolare riguardo all'etnia ed al sesso quali fattori influenzanti il processo di stima dell'età cronologica. L'analisi è stata condotta su un campione di 224 subadulti sudafricani, 110 neri e 114 bianchi, 111 femmine e 113 maschi, di età compresa tra 6 e 16 anni.

È stata esperita poi una riflessione etica sull'applicabilità delle metodiche radiologiche nella valutazione della maturazione del terzo molare.

L'utilizzo degli esami radiografici per la stima dell'età cronologica è stata giudicata non solo approssimativo ma addirittura immorale e potenzialmente illegale in quanto non giustificato da alcuna indicazione terapeutica o clinica ma richiesto solo per scopi giuridico-amministrativi (*Aynsley-Green et al., 2012*).

Sottoposte al vaglio dei paradigmi etici del Principialismo (*Beauchamp e Childress, 2001*), si è evidenziato come il ricorso a dette metodiche non debba essere giudicata aprioristicamente non etica, potendo le stesse fornire informazioni utili alla identificazione personale e, pertanto, alla tutela dei diritti spettanti al minore in quanto tale.

L'attività di ricerca di cui alla presente tesi è stata oggetto di pubblicazioni su riviste nazionali ed internazionali indicizzate ed impattate del settore medico-legale.

Capitolo I

LA STIMA DELL'ETÀ DEI MINORI STRANIERI NON ACCOMPAGNATI NELLA NORMATIVA ITALIANA ED EUROPEA

I.1 Il fenomeno migratorio e l'identità non documentata

Secondo il rapporto annuale sulle migrazioni pubblicato dall'Agenzia della Nazioni Unite per i Rifugiati (UNHCR), il fenomeno delle migrazioni forzate ha raggiunto, alla fine del 2019, il livello più alto mai registrato. 79.5 milioni sono le persone che, in tutto il mondo, a causa di guerre, violenze, persecuzioni, violazioni dei diritti umani ovvero eventi che hanno minato gravemente l'ordine pubblico sono state costrette ad abbandonare le proprie case. Due milioni è il numero complessivo di nuovi richiedenti asilo e, nell'arco di tempo intercorso tra il 2010 ed il 2019, l'Italia con 500.000 nuovi richiedenti asilo è stato il sesto paese al mondo dopo la Germania (2.1 milioni), gli Stati Uniti d'America (1.7 milioni), Francia (700.000), Sud Africa e Turchia (600.000 rispettivamente) (*UNHCR, 2020*).

Il numero dei migranti sbarcati in Italia a decorrere dal 1 gennaio 2020 al 15 luglio 2020 è stato pari a 9.706 unità (incremento del 204.6 % rispetto al medesimo periodo dell'anno 2019), tra questi 1.260 sono minori stranieri non accompagnati (MSNA) (*Ministero dell'Interno, 2020*).

Al 31 dicembre 2019, il numero di MSNA presenti in Italia è pari a 6.054 unità, in prevalenza di sesso maschile (94,8% maschi e 5,2% femmine), di età compresa tra i 16 ed i 17 anni (87,6%), provenienti per lo più dall'Europa (il 27,7% è di origine albanese), dall'Africa settentrionale (l'8,8% è egiziano) e dall'Asia (l'8,3% è pakistano e l'8% è bengalese) (*Ministero del Lavoro e delle Politiche Sociali, 2020*).

Per gli individui che non dispongono di documenti di identità o che nel proprio paese di origine non sono stati registrati alla nascita - evenienza quest'ultima che riguarda più della metà dei bambini al di sotto dei cinque anni di età provenienti dai paesi in via di sviluppo (*UNICEF, 2010*) - la stima dell'età anagrafica acquisisce un'importanza fondamentale in quanto garantisce

l'effettivo esercizio dei diritti di cui sono titolari ed evita l'adozione di provvedimenti lesivi degli stessi, quali ad esempio il respingimento alla frontiera, il rimpatrio forzato, la detenzione amministrativa, la sistemazione in accoglienza insieme ad adulti (*Save the children, 2019*).

Stante la correlazione esistente tra età anagrafica e taluni diritti fondamentali della persona, il valore e l'importanza degli strumenti valutativi atti alla determinazione dell'età biologica ed alla stima dell'età cronologica, si è accresciuto in modo esponenziale in relazione alla necessità di conoscere l'età di un individuo laddove non vi siano documenti identificativi ovvero sussistano ragionevoli o fondati dubbi che l'età sia diversa da quella dichiarata (*Schmeling e Black, 2010*).

1.2 L'identificazione e la stima dell'età in Italia: evoluzione e sintesi normativa

In Italia, il legislatore con la legge 7 aprile 2017, n. 47 avente ad oggetto le disposizioni in materia di misure di protezione dei minori stranieri non accompagnati, ha inteso affrontare in modo organico le questioni correlate all'identificazione ed alla stima dell'età.

Lo *status* di *minore straniero non accompagnato* (MSNA), espressamente richiamato dall'art. 2, definisce “il minore non avente cittadinanza italiana o dell'Unione europea che si trovi per qualsiasi causa nel territorio dello Stato o che è altrimenti sottoposto alla giurisdizione italiana, privo di assistenza e di rappresentanza da parte dei genitori o di altri adulti per lui legalmente responsabili in base alle leggi vigenti nell'ordinamento italiano”.

Nel caso in cui all'esito della procedura di identificazione ed accertamento dell'età, esperita primariamente in via amministrativa, dovessero permanere fondati dubbi in merito all'età anagrafica, la Procura della Repubblica presso il tribunale per i minorenni può disporre l'esecuzione di esami socio-sanitari volti all'accertamento della stessa.

Le procedure di stima dell'età, espletate da professionisti adeguatamente formati, devono qualificarsi per la multidisciplinarietà e la

minore invasività possibile, non essendo leciti esami dalla cui esecuzione possa addivenire una compromissione dello stato psico-fisico della persona.

Inoltre, al presunto minore deve essere fornita un'informazione, adeguata al grado di maturità e proporzionata al livello di alfabetizzazione, sulla tipologia degli accertamenti socio-sanitari, sui possibili risultati attesi e sulle eventuali conseguenze di tali risultati, nonché sulle conseguenze derivanti dell'eventuale rifiuto a sottoporvisi.

Qualora, anche dopo l'accertamento socio-sanitario, dovessero permanere dubbi sulla minore età, questa si presume ad ogni effetto di legge.

La legge 7 aprile 2017, n. 47, tuttavia, non è l'unico atto normativo con il quale il legislatore ha affrontato il problema della stima dell'età nel presunto minore non accompagnato. In precedenza, infatti, le procedure riguardanti la stima dell'età sono state disciplinate dall'art. 8 del d.P.R. n. 448/88, dall'art. 19 del d.lgs. 25/08, dall'art. 4 del d.lgs. n. 24/14 e dal relativo d.P.C.m. n. 234/16

- Il decreto del Presidente della Repubblica 22 settembre 1988, n. 448, all'art. 8 stabilisce come in caso di incertezza sulla minore età dell'imputato, il giudice possa disporre, anche d'ufficio, un accertamento tecnico peritale all'esito del quale, in caso di persistenti dubbi circa la minore età, quest'ultima è presunta ad ogni effetto.

- Il decreto legislativo 28 gennaio 2008, n. 25 in tema di "Attuazione della direttiva 2005/85/CE recante norme minime per le procedure applicate negli Stati membri ai fini del riconoscimento e della revoca dello status di rifugiato", all'art. 19 disciplina le garanzie per i minori non accompagnati. In caso di dubbi in ordine all'età, il minore non accompagnato può essere sottoposto ad accertamenti medico-sanitari non invasivi al fine di accertarne l'età. Inoltre, il minore, informato sulla tipologia di visita medica e sulle conseguenze della visita ai fini dell'esame della domanda, deve esprimere il proprio consenso ovvero deve essere richiesto il consenso del rappresentante legale, fermo restando che il rifiuto da parte del minore di sottoporsi alla visita medica, non costituisce motivo di impedimento all'accoglimento della domanda, né all'adozione della decisione.

- La concreta valenza di un accertamento per la stima dell'età cronologica fondato sul principio della multidisciplinarietà è stata riconosciuta, nel 2009, dal parere espresso dal Consiglio Superiore di Sanità in merito al protocollo «Approccio multidisciplinare per la determinazione dell'età dei minori non accompagnati» (c.d. “Protocollo Ascone”) (Consiglio Superiore di Sanità, 2009).

Detto protocollo, frutto delle valutazioni espresse da un Gruppo Tecnico costituito *ad hoc* in seno al Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali unitamente alle proposte elaborate dal Consiglio Superiore di Sanità, propone un “approccio multidimensionale” per la stima dell'età cronologica dei minori, fondato su una valutazione integrata tra i risultati scaturiti dall'esame radiografico del distretto mano-polso per la valutazione dello sviluppo scheletrico e quelli propri dell'esame fisico con il rilievo dei dati antropometrici, espletato da uno specialista in pediatria. Inoltre, definendo il ricorso prioritario alle strutture pubbliche, il medesimo protocollo sancisce il necessario coinvolgimento di personale sanitario adeguatamente formato, aggiornato e dotato di competenze mediche, radiologiche, pediatriche, ma anche neuropsichiatriche e psicologiche, riconoscendo implicitamente anche il coinvolgimento di professionalità appartenenti all'area della salute mentale. Inoltre, dispone che la valutazione dell'età cronologica debba essere sempre corredata dal margine di errore ed, in caso di dubbio, impone l'applicazione del principio della minore età.

- Il decreto legislativo 4 marzo 2014, n. 24 recante disposizioni in tema di “Attuazione della direttiva 2011/36/UE, relativa alla prevenzione e alla repressione della tratta di esseri umani e alla protezione delle vittime, che sostituisce la decisione quadro 2002/629/GAI”, all'art. 4 detta come nel caso in cui sussistano fondati dubbi sulla minore età del minore non accompagnato vittima di tratta, possa procedersi ad un accertamento che oltre ad assumere un carattere multidisciplinare deve tenere conto anche delle specificità relative all'origine etnica e culturale del minore.

- Il 3 marzo 2016, in seno alla Conferenza delle Regioni e delle Province autonome è stato ratificato il “**Protocollo per l'identificazione e per**

l'accertamento olistico multidisciplinare dell'età dei minori non accompagnati" (POM).

1.2.1 Il Protocollo per l'accertamento olistico multidisciplinare dell'età

In tale documento, oltre ad essere richiamati i principi e le indicazioni che sottendono la procedura identificativa e di stima dell'età cronologica, sono dettagliatamente descritte la composizione e le modalità operative dell'équipe multidisciplinare e multiprofessionale, e le strutture sanitarie pubbliche dei Servizi Sanitari Regionali sono identificate quali luoghi d'elezione per lo svolgimento delle procedure accertative.

L'accertamento dell'età è condotto da una équipe multidisciplinare di professionisti appartenenti al Servizio Sanitario Regionale composta da un assistente sociale, un pediatra con specifiche competenze auxologiche, uno psicologo dell'età evolutiva e/o un neuropsichiatra infantile ed un mediatore interculturale, tra i quali è individuato un case manager con compiti organizzativi e di coordinamento dell'intero procedimento.

La modalità operativa con la quale si articola la procedura per l'accertamento dell'età prevede un colloquio sociale atto a vagliare la storia e la biografia personale, familiare e sociale del presunto minore, una valutazione pediatrico-auxologica ed una valutazione neuropsichiatrica e/o psicologica.

Nel colloquio sociale che deve precedere qualunque procedura accertativa si richiede che lo stesso si svolga in presenza di operatori del Servizio Sanitario e del mediatore/interprete tenendo presente il sesso del presunto MSNA. Per quanto riportato nel documento dal titolo «**Traccia per la conduzione della procedura olistico multidisciplinare**» allegata al POM, il colloquio sociale ha anche e, soprattutto, la finalità di informare il presunto minore, con linguaggio comprensibile, delle modalità con cui si svolgerà l'accertamento multidisciplinare, dei benefici correlati al programma di protezione (qualora richiesto) e delle conseguenze correlate ad un eventuale rifiuto a sottoporsi alla valutazione sanitaria. Il libero consenso ad accedere al colloquio sociale (come anche alle fasi successive dell'accertamento), da parte del presunto minore, è la premessa per un regolare e legittimo svolgimento

dello stesso. Una volta autorizzato, quindi, il colloquio segue un percorso indirizzato ad acquisire informazioni direttamente dal presunto minore relative alla sua vita familiare, a quella scolastica o lavorativa, svolta nel Paese di origine, nonché alle ragioni che lo hanno spinto alla migrazione ed alle modalità e circostanze del viaggio trascorso (tempi di permanenza, eventuale pagamento di quote in denaro, violenze fisiche patite o torture, etc.). È altresì prevista l'acquisizione di informazioni relative alla personale esperienza sessuale (volontaria o costretta) del MSNA, da effettuarsi in presenza di uno psicologo e/o un neuropsichiatra infantile al fine di evidenziarne la libera scelta (ad es., matrimoni precoci), le eventuali violenze subite, lo sfruttamento della prostituzione minorile, etc.

La visita medica-auxologica rappresenta una seconda fase dell'accertamento. Per quanto riportato nel documento allegato al POM, la visita medica-auxologica ha lo scopo di valutare se l'età dichiarata sia compatibile con l'aspetto fisico e la maturazione puberale. Anche per questo tipo di accertamento è richiesta la presenza di un mediatore culturale e di un interprete nel rispetto della riservatezza e delle convinzioni culturali e religiose del presunto MSNA. L'esame obiettivo, infatti, è preceduto da una completa raccolta anamnestica, tesa a valutare eventuali patologie e/o condizioni parafisiologiche che possono aver accelerato o ritardato la crescita, la pubertà e la maturazione ossea in modo da alterarne l'aspetto fisico. Nel corso della visita medica generale sono misurati i principali parametri auxometrici (altezza, peso, BMI, circonferenza cranica) da porre in confronto con gli standard di crescita della popolazione generale curati dalla OMS (*de Onis et al, 2006*) o, in alternativa, con le scale di sviluppo fisico di Tanner (*Marshall e Tanner, 1969; Marshall e Tanner, 1970*) (desunte dallo studio di una popolazione inglese) o di Cacciari (*Cacciari et al, 2006*) (desunte dallo studio di una popolazione italiana). È altresì richiesta la stadiazione puberale dei caratteri sessuali primari (solo nel maschio con la misurazione del volume testicolare con orchidometro di Prader) e secondari (nella femmina le dimensioni della ghiandola mammaria, per entrambi i generi la distribuzione della peluria corporea, pubica e ascellare). Tra gli eventuali approfondimenti è

prevista l'ecografia pelvica per la valutazione dello sviluppo ovarico e la radiografia della mano per la cui lettura comparativa è consigliato il metodo di Greulich & Pyle (*Greulich e Pyle, 1959*) e il cosiddetto TW3 (*Tanner et al., 2001*). Si tratta di accertamenti, questi ultimi implicanti l'utilizzo di radiazioni ionizzanti, subordinati al fatto che l'esito del colloquio sociale, della valutazione pediatrico-auxologica e neuropsicologica sia alquanto incerto e sollevi ancora forti dubbi sull'età dichiarata. Solo in questi casi gli stessi potrebbero essere sufficientemente motivati e legittimati. Non è espressamente prevista una ortopantomografia per lo studio dell'odontogenesi né il ricorso ad un esame radiografico dell'epifisi mediale della clavicola.

Tuttavia, deve ritenersi che questi ulteriori accertamenti, sebbene non esplicitamente indicati, non possano essere aprioristicamente esclusi nel corso di un approccio olistico multidisciplinare prevedendo il POM che l'indagine pediatrico-auxologica possa essere appunto completata da "altri eventuali esami".

Per quanto indicato il parere conclusivo di questa parte medica della procedura accertativa deve essere sottoscritto da un pediatra-auxologo avendo cura di riportare i margini di errore nella valutazione complessiva.

L'indagine pediatrico-auxologica, però, non rappresenta l'unico metodo richiesto per addivenire ad una stima dell'età. Seguendo l'approccio olistico multidisciplinare, questa procedura accertativa deve essere integrata da una terza indagine eseguita da uno psicologo dell'età evolutiva e/o un neuropsichiatra infantile cui è richiesta una valutazione sulla capacità cognitiva generale, sulla capacità di comprendere il linguaggio verbale e i significati connessi, sulla capacità di discriminare la realtà dalla fantasia, l'assurdo dal plausibile, sulla capacità discriminatoria e il livello di suggestionabilità. A tale valutazione sulla idoneità generica del presunto MSNA atta a comprendere, ricordare e relazionarsi si aggiunge anche una valutazione sulla idoneità specifica che, tuttavia, non comporta alcuna misurazione o stima dell'età sebbene sia previsto l'impiego di test proiettivi, inclusi i disegni spontanei, test di livello e questionari di assessment tra cui quello specificatamente raccomandato è l'Adjective Check List (ACL). L'ACL è un test che prevede

l'uso di una lista di aggettivi per la misura della personalità suddivisa in una grigliatura di 37 scale che coprono 5 diverse aree della personalità (Gough, 1979). Come detto a questo tipo di indagine psicologica/neuropsichiatrica non è espressamente richiesta una stima dell'età. Questa deve essere, infatti, il risultato di una valutazione olistica multidisciplinare che deve integrare l'esito del colloquio sociale, della visita pediatrico-auxologica e di quella psicologica/neuropsichiatrica specificandone il margine di errore di ciascuno di essi e quello complessivo. Qualora il margine di errore comprenda sia la minore che la maggiore età, allora dovrà prevedersi l'applicazione del beneficio del dubbio in favore del minore.

- Successivo al POM è il decreto del Presidente del Consiglio dei ministri 10 novembre 2016, n. 234 avente ad oggetto il "Regolamento recante definizione dei meccanismi per la determinazione dell'età dei minori non accompagnati vittime di tratta, in attuazione dell'articolo 4, comma 2, del decreto legislativo 4 marzo 2014, n. 24)".

Detto decreto statuisce che, se a seguito della procedura di identificazione ed accertamento dell'età in via amministrativa dovessero permanere ragionevoli dubbi circa l'età del presunto minore non accompagnato vittima di tratta, il Giudice competente per la tutela possa autorizzare l'avvio della procedura multidisciplinare per l'accertamento dell'età.

La procedura, fondata sul principio dell'invasività progressiva, assume un carattere multidisciplinare esplicantesi nello svolgimento di un colloquio sociale, una visita pediatrica auxologica ed una valutazione psicologica o neuropsichiatrica, alla presenza, se necessario, di un mediatore culturale o di un interprete.

Il presunto minore è preventivamente informato della tipologia di accertamenti sanitari di cui si compone la procedura multidisciplinare, dei risultati attesi e delle conseguenze nonché del diritto a formulare ragioni di opposizione allo svolgimento anche di taluno degli accertamenti sanitari.

La relazione conclusiva, redatta dall'equipe multidisciplinare, deve riportare l'indicazione di attribuzione dell'età cronologica stimata specificando

il margine di errore insito nella variabilità biologica e nelle metodiche utilizzate ed i conseguenti valori minimo e massimo dell'età attribuibile.

- Il principio della multidisciplinarietà e della multidimensionalità ha trovato ulteriore conferma in una recente sentenza del 3 marzo 2020, n. 5936 pronunciata dalla I sezione civile della Corte di Cassazione nella quale si è inteso ribadire la validità di un approccio olistico multidisciplinare e multidimensionale (comprensivo di colloquio sociale, indagine psicologica o neuropsichiatrica infantile e visita pediatrico/auxologica) che preveda una gradualità nella esecuzione dei diversi metodi, ognuno dei quali è tenuto ad esprimere il proprio margine di errore.

1.3 La stima dell'età anagrafica in Europa

In ambito europeo, non è ravvisabile una normativa precipuamente tesa a disciplinare i percorsi per la stima dell'età anagrafica del MSNA, quantunque numerosi atti legislativi dotati di efficacia vincolante ne definiscano la natura e specificchino i principi soggiacenti le procedure di accertamento dell'età. Maggiori informazioni sono, invece, rinvenibili nei documenti prodotti da un'agenzia dell'Unione Europea, quale è l'European Asylum Support Office (EASO), ovvero da Separated Children in Europe Programme (SCEP), un'organizzazione non governativa costituita da un network di 31 organizzazioni provenienti da 28 paesi dell'Unione Europea.

- La Direttiva 2011/95/UE del Parlamento europeo e del Consiglio del 13 dicembre 2011 recante norme sull'attribuzione, a cittadini di paesi terzi o apolidi, della qualifica di beneficiario di protezione internazionale, su uno status uniforme per i rifugiati o per le persone aventi titolo a beneficiare della protezione sussidiaria, nonché sul contenuto della protezione riconosciuta, sancisce nel preambolo che gli Stati membri devono attribuire fondamentale importanza all'“interesse superiore del minore”, in linea con la convenzione delle Nazioni Unite sui diritti del fanciullo del 1989.

In particolare, all'art. 2 lettera k) è definito minore il cittadino di un paese terzo o l'apolide di età inferiore agli anni diciotto, ed all'art. 2 lettera l) minore non accompagnato, “il minore che giunga nel territorio dello Stato

membro senza essere accompagnato da un adulto che ne sia responsabile in base alla normativa o alla prassi dello Stato membro interessato, e fino a quando non sia effettivamente affidato a un tale adulto; il termine include il minore che venga abbandonato dopo essere entrato nel territorio degli Stati membri”.

Inoltre è stabilito che gli Stati membri provvedano a soddisfare le esigenze del minore tramite un tutore o un rappresentante designato (art. 31, par. 2).

- Nel 2012, secondo il *position paper* di “Separated Children in Europe Programme” (SCEP), nato da un’iniziativa congiunta tra “International Save the Children Alliance” (ISCA) e “United Nations High Commissioner for Refugees” (UNHCR), in assenza di una reale indicazione medica, il ricorso ad accertamenti medici per la stima dell’età cronologica rappresenterebbe una forma di violazione del diritto internazionale e ciò in relazione non solo a quelli radiologici, contraddistinti dal rischio correlato ad una ingiustificata esposizione a radiazioni ionizzanti, ma anche per quanto attiene la visita medica diretta alla valutazione dello stato puberale.

Infatti, la valutazione dello stadio puberale, possibile solo previo denudamento del minore (con messa allo scoperto dei genitali per consentirne un loro esame diretto ed una eventuale misurazione), è spesso vissuta come invasiva ed intrusiva, in relazione al differente background culturale, religioso ed etnico. Siffatte indagini non trovano alcuna giustificazione etica se non in una esigenza strettamente clinica diretta a valutare lo stato di salute del minore. Sarebbero dunque da preferire metodi “non medici”, quali l’analisi della documentazione presentata dal presunto minore, un attento e dettagliato colloquio anamnestico, una valutazione cognitiva, comportamentale e psico-sociale.

- La Direttiva 2013/32/UE del Parlamento europeo e del Consiglio del 26 giugno 2013 recante procedure comuni ai fini del riconoscimento e della revoca dello status di protezione internazionale, all’art. 25, par. 5, statuisce che laddove sussistano dubbi circa l’età, gli Stati membri possono fare ricorso a visite mediche al fine di accertare l’età del minore non accompagnato. Gli

accertamenti medici, effettuati secondo il criterio della minore invasività ed espletati da qualificati professionisti nel settore medico, devono essere preceduti da un'adeguata informazione sulla tipologia di visita medica prevista, sulle possibili conseguenze dei risultati e sulle conseguenze cui va incontro il minore non accompagnato che si rifiuti di sottoporsi a visita medica, fermo restando che l'eventuale rifiuto non osta a che l'autorità accertante prenda una decisione sulla domanda di protezione internazionale. Viene oltremodo dettato che se anche in seguito agli accertamenti sanitari dovessero permanere dubbi circa l'età del richiedente, questi verrebbe considerato un soggetto minorenne.

- La Direttiva 2013/33/UE del Parlamento europeo e del Consiglio del 26 giugno 2013 recante norme relative all'accoglienza dei richiedenti protezione internazionale, all'art. 1 lettera e), apportando alcune modifiche all'art. 2, lettera 1) della Direttiva 2011/95/UE, definisce minore non accompagnato colui che entra "nel territorio degli Stati membri senza essere accompagnato da un adulto che ne sia responsabile per legge o per prassi dello Stato membro interessato, fino a quando non sia effettivamente affidato a un tale adulto; il termine include il minore che viene abbandonato dopo essere entrato nel territorio degli Stati membri".

- Infine, il Regolamento (UE) n. 604/2013 del Parlamento europeo e del Consiglio del 26 giugno 2013 che stabilisce i criteri e i meccanismi di determinazione dello Stato membro competente per l'esame di una domanda di protezione internazionale presentata in uno degli Stati membri da un cittadino di un paese terzo o da un apolide, all'art. 4, par. 3, prevede che venga predisposto per i minori non accompagnati un apposito opuscolo recante informazioni riguardanti l'applicazione del regolamento (UE) n. 603/2013 oltre ad informazioni aggiuntive specifiche per ciascuno Stato membro.

1.3.1 Il "cascade approach" secondo l'European Asylum Support Office

L'European Asylum Support Office (EASO), agenzia dell'Unione Europea preposta a sostenere gli Stati membri dell'UE ed i paesi associati (Liechtenstein, Norvegia e Svizzera) nell'attuazione del sistema europeo comune di asilo (CEAS), ha pubblicato, dapprima nel 2013 (*EASO, 2013*) e

successivamente nel 2018 (*EASO, 2018*) aggiornandola, due guide sul procedimento di stima dell'età con le quali mediante specifiche raccomandazioni e l'adozione di strumenti pratici si è inteso perseguire il superiore interesse del bambino.

Lungi dall'essere considerato di carattere routinario, il ricorso ad un procedimento per la stima dell'età cronologica appare giustificabile esclusivamente dalla sussistenza di comprovati dubbi sull'età dichiarata dal presunto minore.

Al fine di dare concreta attuazione al principio del “best interests of the child” è richiesto che la valutazione sia “child-centred”, ossia che si tenga conto delle esigenze specifiche del richiedente e che questi sia reso edotto, *rectius* informato, sul procedimento in modo tale da ottenere un consenso alla partecipazione.

Il beneficio del dubbio deve permeare l'intero procedimento sino al raggiungimento di risultati conclusivi e, pertanto, il richiedente essere considerato come minorenne sino a prova contraria.

L'EASO ha, quindi, prospettato un procedimento olistico e multidisciplinare - “cascade approach” basato sull'applicazione graduale e progressivamente invasiva di «non-medical methods» (colloquio sociale e valutazione psicologica), ai quali possa far seguito il ricorso a «medical methods-radiation free» (valutazione clinica dello sviluppo fisico e dell'odontogenesi, RMN) e, solo in ultima istanza, l'impiego di «medical methods-using radiation» (esame radiografico della mano e della clavicola, OPT) (Figura 1). Non è consentito il ricorso ad alcun metodo che implichi nudità ovvero l'osservazione e la valutazione degli organi genitali.

Un approccio valutativo analogo è riportato anche la nota tecnica elaborata dall'UNICEF e pubblicata nel 2013 (*UNICEF, 2013*) con lo scopo di fornire gli standard essenziali che una procedura finalizzata alla stima dell'età dovrebbe soddisfare.

Secondo tale nota, premesso che dette procedure dovrebbero essere evitate ed esperite esclusivamente nel rispetto del superiore interesse del minore ed in caso di fondati dubbi sull'età, la valutazione dovrebbe essere

espletata tenendo conto delle caratteristiche specifiche del minore e preferendo quelle procedure caratterizzate da minore invasività.

La valutazione dell'età deve basarsi su indicatori fisici, psicologici, evolutivi, ambientali e culturali, quantunque l'esame dei caratteri sessuali secondari dovrebbe essere evitato.

Infine, essendo la valutazione dell'età una scienza non esatta, anche la nota tecnica redatta dall'UNICEF raccomanda l'indicazione del margine di errore nella relazione finale.

In tale sede, pur non essendo una struttura facente capo ad istituzioni comunitarie, merita di essere annoverato anche il contributo scientifico dello "Study Group on Forensic Age Diagnostics of the German Association of Forensic Medicine" (AGFAD), gruppo di studio interdisciplinare sulla diagnostica dell'età in ambito forense composto da medici, dentisti, radiologi e antropologi provenienti da Germania, Austria, Francia, Gran Bretagna, Paesi Bassi, Belgio, Stati Uniti d'America, Svizzera, Spagna, Azerbaidjan, Norvegia, Danimarca, Israele, Portogallo, Grecia ed Italia.

L'AGFAD, contrariamente a quanto sostenuto da SCEP, EASO ed UNICEF (Figura 2), raccomanda per la stima dell'età cronologica nel vivente un procedimento multidisciplinare *combinato* fondato su una visita medica per il rilievo dei dati antropometrici, dei segni di sviluppo puberale e di patologie correlate alla crescita, un esame radiografico della mano e del polso dell'arto non dominante per l'accertamento della maturità scheletrica ovvero un esame radiografico/TC dell'epifisi mediale della clavicola in caso di completamento dello sviluppo scheletrico della mano ed una valutazione clinica ed ortopantomografica dell'odontogenesi (*Schmeling et al., 2008*).

Il ricorso mandatario agli esami di diagnostica per immagini ed alla valutazione dello stadio puberale ha il suo razionale scientifico nell'opportunità di ridurre la distorsione sistemica relativa sia all'applicazione delle singole metodiche che all'accertamento complessivo (*Schmeling, 2017*)

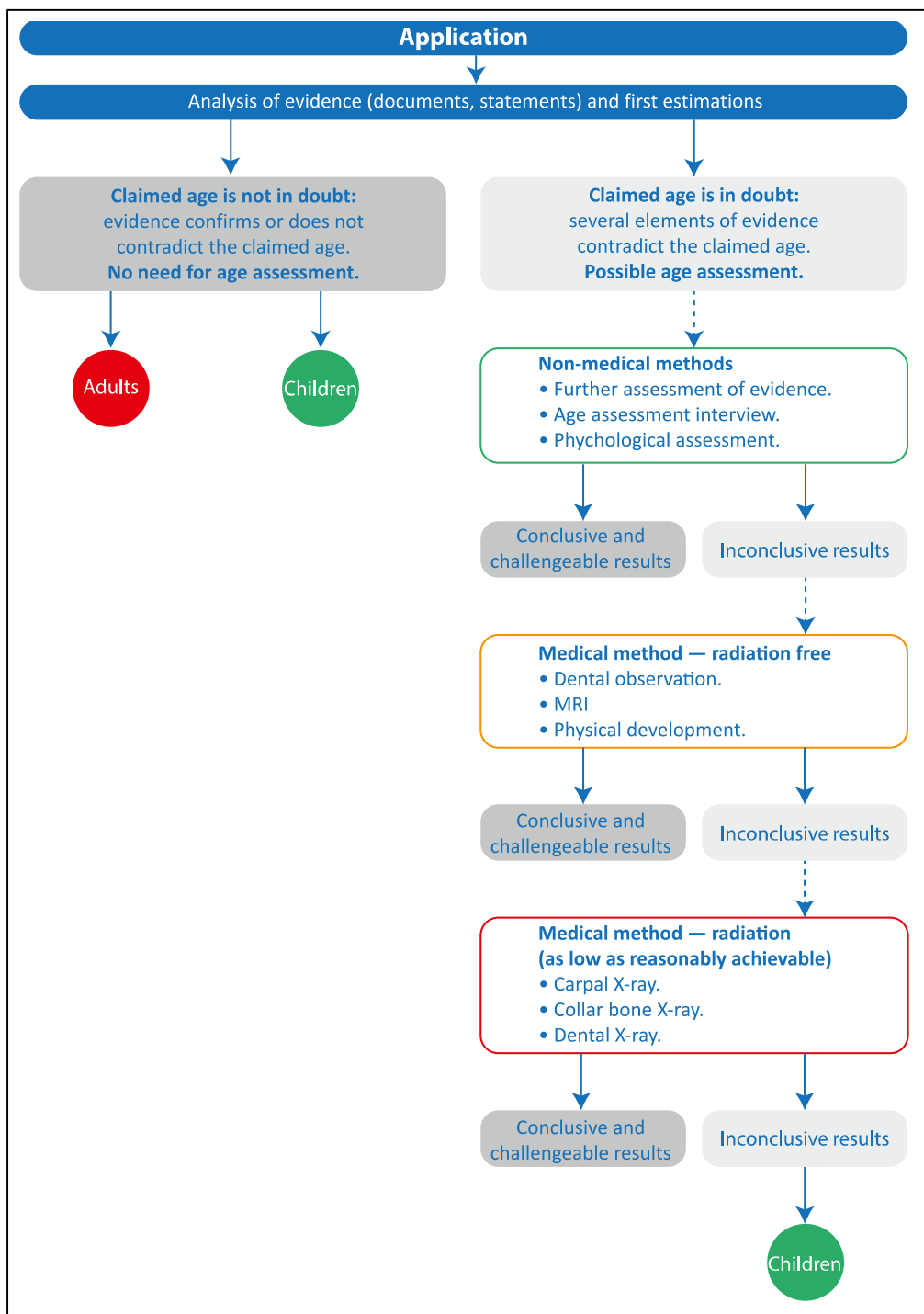


Figura 1 - Flow-chart del procedimento di stima dell'età anagrafica secondo il “cascade approach” proposto dall'European Asylum Support Office (EASO, 2018).

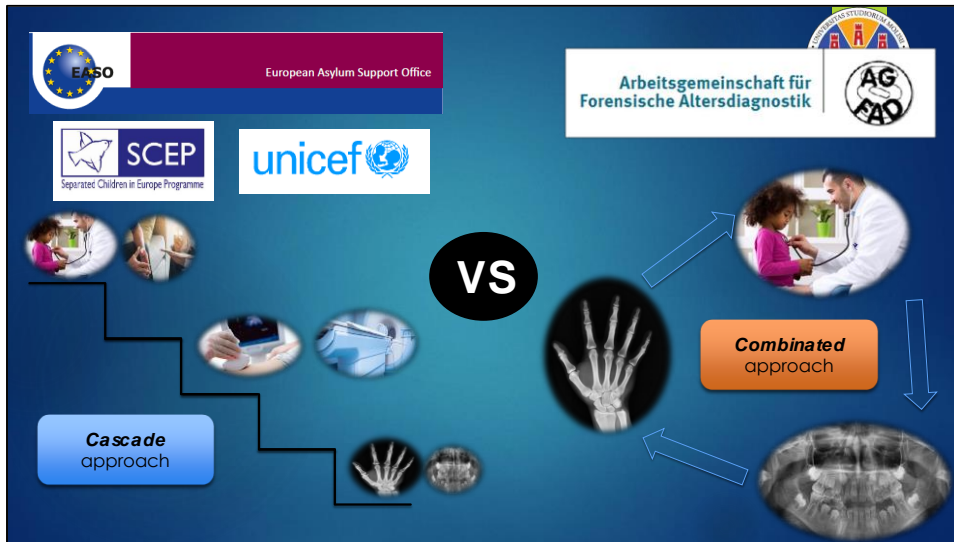


Figura 2 - Confronto tra il “cascade approach” ed il “combinated approach”

Capitolo II

L' APPROCCIO OLISTICO, MULTIDISCIPLINARE E COMBINATO

II.1 Il “metodo combinato” secondo lo Study Group on Forensic Age Diagnostics of the German Association of Forensic Medicine

Lo “Study Group on Forensic Age Diagnostics of the German Association of Forensic Medicine” (AGFAD) raccomanda per la stima dell'età cronologica nel vivente un procedimento multidisciplinare *combinato* fondato su:

- a) Una visita medica per il rilievo dei principali dati antropometrici (peso, altezza, BMI, circonferenza cranica), dei segni di sviluppo puberale e di eventuali patologie dell'accrescimento;
- b) un esame radiografico della mano e del polso dell'arto non dominante (solitamente il sinistro) per l'accertamento della maturità scheletrica ovvero un esame radiografico/TC dell'epifisi mediale della clavicola in caso di completamento dello sviluppo osseo della mano;
- c) un esame odontoiatrico comprensivo di ortopantomografia (OPT) per una valutazione dell'odontogenesi. (*Schmeling et al., 2008*)

Il ricorso agli esami di diagnostica per immagini unitamente alle valutazioni clinico-obiettive ha il suo razionale scientifico nell'opportunità di ridurre la distorsione sistemica relativa sia all'applicazione delle singole metodiche che all'accertamento complessivo (*Schmeling, 2017*).

Sulla scorta delle raccomandazioni elaborate dall'AGFAD si provvederà ad esperire nei paragrafi successivi una sintesi delle principali metodiche utilizzate nei procedimenti di stima dell'età anagrafica del soggetto vivente.

II.2 L'esame clinico-auxologico

L'esame obiettivo rappresenta, di norma, il primo approccio del procedimento di stima dell'età anagrafica nel soggetto vivente, in quanto la valutazione clinica della maturità somatica rappresenta il metodo più semplice di stima dell'età (*Introna e Campobasso, 2006*).

L'esame fisico include il rilievo di misure antropometriche come l'altezza, il peso, la costituzione fisica ed i segni di sviluppo puberale. Nel maschio, devono essere considerati lo sviluppo genitale, la peluria ascellare e pubica, la crescita della barba e la prominente laringea; nella femmina, lo sviluppo della mammella, della peluria ascellare e pubica e lo sviluppo della pelvi (*Schmeling A, 2017*).

Per la valutazione dello stadio puberale è frequentemente utilizzata la stadiazione di Tanner che, in relazione allo sviluppo dei caratteri sessuali primari e secondari, distingue cinque stadi maturativi, dallo "stadio 1 - prepubere" allo "stadio 5 - adulto" (*Marshall e Tanner, 1969; Marshall e Tanner, 1970*) (Figura 3, e Tabelle 1 e 2)

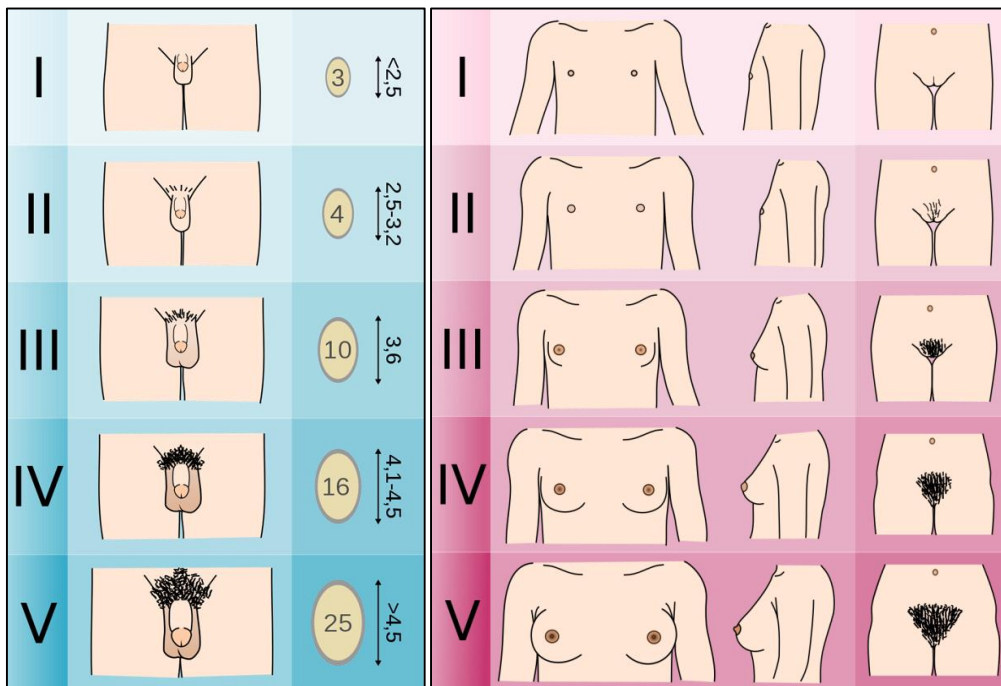


Figura 3 - Stadiazione di Tanner maschile e femminile (*Komorniczak M, 2020*)

STADIO 1	<ul style="list-style-type: none"> • B: infantili, sporge solo la papilla. • PH: assente.
STADIO 2	<ul style="list-style-type: none"> • B: le mammelle e le papille si ingrossano leggermente. Il diametro dell'areola si allarga. • PH: peli sottili, lunghi e chiari, lisci o leggermente arricciati, soprattutto sulle grandi labbra.
STADIO 3	<ul style="list-style-type: none"> • B: ulteriore ingrossamento mammario e dell'areola, senza separazione dei loro contorni. • PH: peli più scuri, grossi, arricciati sparsi sul pube.
STADIO 4	<ul style="list-style-type: none"> • B: areole e papille diventano sporgenti. • PH: peli di tipo adulto, su un'area più piccola rispetto alla donna adulta.
STADIO 5	<ul style="list-style-type: none"> • B: di aspetto adulto con protrusione del solo capezzolo. • PH: peli di tipo adulto per quantità e qualità.

Tabella 1 - Stadiazione dello sviluppo puberale nella femmina: B per lo stadio delle mammelle; PH per lo stadio della peluria (*Associazione Medici Endocrinologi, 2020*)

STADIO 1	<ul style="list-style-type: none"> • G: il pelo, i testicoli e lo scroto presentano caratteristiche infantili. • PH: non vi è peluria pubica, ma eventualmente solo leggera lanugine.
STADIO 2	<ul style="list-style-type: none"> • G: ingrossamento dello scroto e dei testicoli, la cute scrotale assume colorazione più intensa. Il pene ha caratteristiche infantili. • PH: si notano pochi peli lunghi, poco pigmentati e soffici, lisci o leggermente arricciati, soprattutto alla base del pene.
STADIO 3	<ul style="list-style-type: none"> • G: ulteriore crescita dello scroto e dei testicoli, aumento di dimensione del pene, principalmente in lunghezza. • PH: il pelo è notevolmente più scuro, più ruvido ed arricciato e si diffonde sopra la sinfisi pubica.
STADIO 4	<ul style="list-style-type: none"> • G: ulteriore crescita dello scroto e dei testicoli ed aumento del pene soprattutto in spessore, con evidente sviluppo del glande. La cute scrotale si iperpigmenta. • PH: il pelo, di tipo adulto, copre un'area minore rispetto a quella dell'adulto.
STADIO 5	<ul style="list-style-type: none"> • G: i genitali sono adulti per dimensioni e forma. • PH: il pelo è, per qualità e quantità, di tipo adulto e si diffonde sulla faccia interna delle cosce.

Tabella 2 - Stadiazione dello sviluppo puberale nel maschio: G per lo stadio dei genitali; PH per lo stadio della peluria (*Associazione Medici Endocrinologi, 2020*)

Nel sesso femminile, il telarca, ossia la comparsa del bottone mammario al di sotto dell'areola, e l'adrenarca, ossia la comparsa di peluria a livello del pube, contrassegnano lo stadio 2 della classificazione di Tanner e rappresentano i primi cambiamenti puberali, manifestandosi tra gli 8 ed i 13 anni, con un'età media di 9 anni per le femmine afroamericane e 10 anni per le caucasoidi. L'età media del menarca è rispettivamente di 12.2 e 12.9 anni. Lo sviluppo dei caratteri sessuali secondari risulta completo al raggiungimento dello stadio 5. Nei maschi, l'aumento delle dimensioni testicolari, che

configura lo stadio 2 di Tanner, rappresenta l'inizio della pubertà, insieme all'abbassamento del timbro vocale, alla comparsa di peluria sul viso, sul pube e a livello delle ascelle (*Marcdante et al., 2012*).

Tuttavia, in letteratura, sia in relazione allo sviluppo dell'apparato genitale che alla comparsa della peluria, sono state segnalate alcune differenze in termini di età correlate alla diversa origine etnica.

Nel Regno Unito, è stata riscontrata la comparsa della peluria pubica allo stadio 2 ad un'età media di 13.44 anni per i maschi e 11.69 anni per le femmine, mentre lo sviluppo dei genitali maschili raggiunge lo stadio 2 ad un'età media di 11.64 anni e quello delle mammelle femminili ad un'età media di 11.15 anni (*Marshall e Tanner, 1969; Marshall e Tanner, 1970*).

Uno studio realizzato su adolescenti maschi italiani di età compresa tra 6 e 14 anni ha stabilito in 11.47 l'età media per la comparsa della peluria pubica (*range* di età compreso tra 11.26-11.67 anni) ed in 11.17 anni l'età media per il raggiungimento dello stadio 2 dello stadio di sviluppo dei genitali (*range* di età compreso tra 10.69-11.57 anni) (*De Simone et al., 2004*).

Negli Stati Uniti d'America, l'età media per lo sviluppo della peluria pubica allo stadio 3 è pari a 12.61 anni nei maschi (*range* di età compreso tra 12.34-12.86 anni) e 11.57 anni nelle femmine (*range* di età compreso tra 11.30-11.92 anni). I genitali maschili raggiungono lo stadio 2 di sviluppo all'età media di 10.03 anni nella popolazione bianca non ispanica, 9.20 anni nella popolazione nera non ispanica e 10.29 anni nei messicano-statunitensi, mentre lo sviluppo della mammella femminile è ascrivibile ad uno stadio 2 all'età media di 10.38 anni nella popolazione bianca non ispanica, 9.48 anni nella popolazione nera non ispanica e 9.80 anni nelle adolescenti messicano-statunitensi (*Rosenfield et al, 2009*).

Gli adolescenti egiziani, invece, raggiungono lo stadio 2 dello sviluppo della peluria pubica ad un'età media di 11.86 anni nei maschi e 10.46 anni nelle femmine, mentre lo sviluppo dei genitali maschili raggiunge lo stadio 2 ad un'età media di 10.56 anni e quello delle mammelle femminili ad un'età media di 10.71 anni (*Ghaly et al., 2008*).

Oltre alla stadiazione dello sviluppo puberale secondo il metodo di Tanner, al fine di verificare e confrontare lo sviluppo di un individuo con quello di un gruppo standard sano della medesima età e sesso, è possibile ricorrere agli standard di crescita della popolazione generale, elaborati dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) (*de Onis M et al, 2006*) e dal National Center for Health Statistics del Centers for Disease Control and Prevention (*Kuczmarski et al, 2002*).

In particolare, gli standard di riferimento elaborati dall'OMS constano di misure antropometriche, per maschi e femmine, riguardanti peso e lunghezza/altezza per età, peso per lunghezza/altezza, e indice di massa corporea (BMI) per età rilevate longitudinalmente a 1, 2, 4 e 6 settimane, poi ogni mese fino a 12 e ogni 2 mesi fino a 24.

Ciò nonostante, quantunque indispensabile per escludere patologie correlate alla crescita, la valutazione dello sviluppo puberale appare, tra i metodi per la stima dell'età anagrafica utilizzati in ambito forense, quello soggetto a maggiore variabilità (*Schmeling A, 2017*).

Infatti, come riportato in precedenza, la sequenza e la tempistica degli eventi che si verificano durante la pubertà variano notevolmente da persona a persona anche in relazione a fattori fisiologici, quali possono essere le differenze esistenti tra sesso, popolazioni e fattori socioeconomici (*Feik e Glover, 1998*).

Inoltre, anche alcune patologie possono ritardare lo sviluppo puberale e indurre in una sottostima dell'età anagrafica ovvero, di converso, accelerare lo sviluppo puberale e condurre ad una sovrastima dell'età cronologica (*Schmeling, 2017*). Tra queste meritano di essere menzionate le patologie correlate ad una carenza nutrizionale (ad es., rachitismo, anemia sideropenica, ecc.), malattie infettive (ad es., osteomielite, vaiolo, brucellosi, ecc.) e disturbi congeniti (ad es., sindrome di Ullrich-Turner) (*Iscan e Kennedy, 1989*). Per questo motivo, anche l'esame clinico-obiettivo esperito con finalità forensi deve comprendere la valutazione di segni ascrivibili ad una alterazione della pubertà quali il gigantismo, l'acromegalia, il nanismo, la virilizzazione nel sesso femminile o anomalie nella virilizzazione nel sesso maschile, presenza di

gozzo o esoftalmo. Tuttavia, Se nessuna anormalità è riscontrata all'esame obiettivo, la probabilità che sussista una patologia correlata alla crescita è minore di 1 caso su 1000 soggetti (*Schmeling, 2017*).

La variabilità intrinseca alla valutazione clinico-auxologica, sia per la sussistenza di differenze fisiologiche o para-fisiologiche che per la possibilità di patologie correlate alla crescita ed allo sviluppo fisico, rende indispensabile il ricorso ad una valutazione dello sviluppo scheletrico e di quello dentario. Ciò anche in relazione al fatto che un ulteriore indicatore della presenza di una patologia ascrivibile al sistema endocrino-metabolico è rappresentata proprio dalla discrepanza tra l'età scheletrica e quella dentaria (*Shmeling A, 2017*).

II.3 La maturazione scheletrica

La maturazione scheletrica è un processo ordinato costituito da tappe evolutive ben precise, che dalla prima apparizione dei centri di ossificazione giunge sino alla formazione dell'osso adulto. Il modello osteogenico più conosciuto è quello delle ossa lunghe caratterizzato da due centri di ossificazione epifisari ed uno diafisario, che al termine dell'accrescimento si fondono con la calcificazione delle zone metafisarie dando luogo alle cartilagini di coniugazione. A questo livello il progressivo riassorbimento della sostanza cartilaginea in luogo dell'apposizione di nuovi strati di matrice ossea sono responsabili dell'allungamento osseo (*Campobasso e De Donno, 2000*).

I centri di ossificazione, che compaiono alla nascita e durante tutta la prima decade di vita, rappresentano degli indicatori dell'età scheletrica (Tabella 3). I neonati hanno generalmente sei centri di ossificazione caratteristici: l'epifisi prossimale (testa) dell'omero, l'epifisi distale (condili) del femore, l'epifisi prossimale della tibia, l'astragalo, il calcagno e l'osso cuboide.

L'accrescimento diafisario delle ossa lunghe è rapidissimo nel primo anno di vita, rallenta sino all'età di sei anni, per poi rallentare in maniera più accentuata sino al 10° anno di vita.

Nella seconda decade ha inizio la fusione dei centri di ossificazione sia per le ossa corte (mano e piedi) che per le ossa lunghe (esclusa la testa

omero) (Tabella 4). Quantunque meno attendibile di quella relativa alla comparsa dei nuclei di ossificazione, anche in questa fase è possibile riconoscere una ben precisa sequenza cronologica quale indice della maturità ossea. La prima fase si caratterizza per una netta separazione dei centri primari e secondari di ossificazione, con superfici di contatto irregolari ed increspate; a questa, segue una seconda fase in cui la fusione dei centri corrisponde macroscopicamente ad una linea irregolare visibile sulla superficie ossea; infine il processo termina con una fusione completa in cui non è più riconoscibile la linea tra i centri di ossificazione.

Ordine di comparsa	Maschi		Ordine di comparsa	Femmine	
	Media	S.D.		Media	S.D.
1. Femore distale	0	0.1	Femore distale	0	
2. Tibia prossimale	0.1	0.3	Tibia prossimale	0.1	
3. Cuboide	0.5	0.7	Cuboide	0.4	
4. Testa dell' omero	0.7	0.8	Testa dell' omero	0.9	
5. Capitato	2.4	1.8	Capitato	2.3	2.1
6. Uncinato	3.4	2.2	Uncinato	2.5	2.3
7. Tibia distale	3.9	1.5	Tibia distale	3.4	1.4
8. Testa del femore	4.4	2.0	Testa del femore	3.7	1.6
9. Cuneiforme laterale	4.4	4.3	Cuneiforme laterale	3.8	4.4
10. Capitulo	6.3	4.3	Capitulo	4.1	3.6
11. Grande tuberosità dell'omero	11.4	7.2	Grande tuberosità dell'omero	6.6	3.3
12. Fibula distale	12.5	4.1	Fibula distale	9.3	2.6
13. Radio distale	13.0	4.7	Falange prossimale - 3° dito mano	10.4	3.1
14. Falange prossimale - 3° dito mano	16.2	5.3	Falange distale - 1° dito piede	10.6	2.8
15. Falange distale - 1° dito piede	16.8	5.6	Radio distale	10.8	4.4
16. Falange prossimale - 2° dito mano	17.3	5.0	Falange prossimale - 2° dito mano	11.0	3.0
17. Falange prossimale - 4° dito mano	17.7	5.4	Falange prossimale - 4° dito mano	11.1	3.2
18. 2° metacarpo	17.9	5.1	Falange prossimale - 3° dito piede	12.2	3.8
19. Falange distale - 1° dito mano	18.4	6.2	Falange distale - 1° dito mano	12.8	5.0
20. Falange prossimale - 3° dito piede	19.5	5.2	2° metacarpo	12.8	3.7
21. Falange prossimale - 4° dito piede	21.0	5.1	Falange prossimale - 4° dito piede	13.6	3.8
22. 3° metacarpo	21.1	6.4	Falange prossimale - 2° dito piede	14.1	3.8
23. Cuneiforme mediale	21.9	9.9	3° metacarpo	14.2	4.0
24. Falange prossimale - 5° dito mano	22.2	5.6	Falange prossimale - 5° dito mano	15.2	4.2
25. Falange prossimale - 2° dito piede	22.2	5.8	Falange media - 4° dito mano	15.8	4.8
26. 4° metacarpo	23.6	7.1	Falange media - 3° dito mano	15.9	4.9
27. Falange media - 3° dito mano	24.9	7.6	4° metacarpo	16.0	4.1
28. Falange media - 4° dito mano	24.9	7.8	Cuneiforme mediale	16.7	8.5
29. 5° metacarpo	26.0	9.0	5° metacarpo	17.2	4.7
30. Falange media - 2° dito mano	26.9	7.5	Falange media - 2° dito mano	17.3	5.2
31. Piramidale	27.3	15.9	Falange distale - 4° dito mano	19.9	5.9
32. 1° metatarso	27.7	4.7	1° metatarso	20.1	3.3
33. Falange distale - 3° dito mano	27.8	6.4	Falange distale - 3° dito mano	20.2	3.9
34. Falange distale - 4° dito mano	28.3	7.0	1° metacarpo	20.3	5.3
35. Cuneiforme mediano	28.4	11.2	Falange prossimale - 1° dito piede	20.3	5.5
36. 1° metacarpo	29.8	7.3	Cuneiforme mediano	21.3	7.6
37. Falange prossimale - 1° dito piede	29.9	5.8	Falange prossimale - 5° dito piede	21.3	4.8
38. Falange prossimale - 5° dito piede	32.0	5.9	Falange prossimale - 1° dito mano	21.6	5.1
39. Navicolare del piede	33.4	13.4	Piramidale	23.6	13.7
40. 2° metatarso	33.4	6.8	Falange media - 5° dito mano	24.9	7.9
41. Falange prossimale - 1° dito mano	34.8	7.9	Falange distale - 5° dito mano	25.5	7.0
42. Falange distale - 2° dito mano	37.0	7.9	Navicolare del piede	25.8	11.1
43. Falange distale - 5° dito mano	37.4	7.4	2° metatarso	25.8	6.1
44. Falange media - 5° dito mano	40.3	11.7	Falange distale - 2° dito mano	25.8	6.9
45. 3° metatarso	41.5	7.9	3° metatarso	29.1	6.4
46. Gran trocantere del femore	42.6	7.6	Gran trocantere del femore	29.8	6.4
47. Semilunare	46.0	19.3	Falange distale - 4° dito piede	30.7	7.9
48. Fibula prossimale	47.0	11.8	Fibula prossimale	32.6	9.3
49. 4° metatarso	48.7	9.0	Falange distale - 3° dito piede	32.8	
50. Falange distale - 4° dito piede	51.2	10.1	4° metatarso	34.0	
51. Patella	51.9	11.6	Semilunare	34.6	
52. Falange distale - 3° dito piede	53.5	11.2	Patella	34.8	
53. 5° metatarso	53.6	10.6	Falange distale - 2° dito piede	35.5	
54. Falange distale - 2° dito piede	57.0	11.4	5° metatarso	38.6	
55. Navicolare della mano	60.1	14.1	Epicondilo mediale dell'omero	41.3	
56. Radio prossimale	63.5	17.2	Trapezio	47.0	
57. Trapezio	64.3	19.7	Radio prossimale	47.5	
58. Trapezioide	64.4	15.2	Navicolare della mano	47.8	
59. Epicondilo mediale dell'omero	73.6	17.5	Trapezoide	48.3	
60. Ulna distale	82.4	10.6	Ulna distale	63.2	
61. Epifisi calcaneare	89.6	14.0	Epifisi calcaneare	63.7	

Tabella 3 - Ordine cronologico di comparsa (in mesi) di sessantuno centri di ossificazione nella prima decade di vita (*Pyle e Sontag, 1943 – riportata da Campobasso e De Donno, 2000*)

<i>Epifisi</i>	Età di fusione iniziale	
	<i>maschi</i>	<i>femmine</i>
Estremità mediale della clavicola	18-22	17-21
Processo acromiale della scapola	14-22	13-20
Omero: - testa	14-21	14-20
- gran tuberosità	2-4	2-4
- troclea	11-15	9-13
- epicondilo laterale	11-17	10-14
- epicondilo mediale	15-18	13-15
Radio: - testa	14-19	13-16
- estremità distale	16-20	16-19
Estremità distale dell'ulna	18-20	16-19
Cresta iliaca	17-20	17-19
Ischio-pube	7-9	7-9
Tuberosità ischiatica	17-22	16-20
Femore: - testa	15-18	13-17
- grande trocantere	16-18	13-17
- piccolo trocantere	15-17	13-17
- estremità distale	14-19	14-17
Tibia: - estremità prossimale	15-19	14-17
- estremità distale	14-18	14-16
Fibula: - estremità prossimale	14-20	14-18
- estremità distale	14-18	13-16

Tabella 4 - Epoca di fusione iniziale osservata nelle epifisi delle ossa lunghe nella seconda decade divita (*Ubelaker, 1989 – riportata da Campobasso e De Donno, 2000*)

Si riportano, quindi, le modalità ed i tempi di fusione dei principali centri di ossificazione come segnalato da autorevole letteratura (*Pyle SI e Sontag LW, 1943; Noback CR, 1954; Krogman WM, 1955; Meyer DB e O’Rahilly R, 1958; Tanner JM, 1962; Acheson RM, 1966; Garn SM et al., 1966; Hunt EE e Hatch JW, 1979; Cameron N, 1980; Scheuer JL et al., 1980; Bagnall KM et al., 1982; Ubelaker DH, 1989; Bishop NJ et al., 1990; Miller JZ et al., 1991; Bogin B e Smith BH, 1996; Campobasso CP e De Donno, 2000*) (Figura 4)

La *clavicola* inizia il processo di ossificazione intorno al 39° giorno di vita a livello del corpo, per cui è il primo segmento osseo ad ossificarsi. Tra i 12 ed i 21 anni compare un secondo centro di ossificazione a livello dell’estremità sternale, che sarà l’ultima epifisi del corpo umano a saldarsi.

Lo *sterno* inizia il processo di ossificazione intorno ai 5 – 8 mesi di vita intrauterina per i centri primari localizzati a livello del manubrio e dei tre centri primari del corpo, ad 1 anno per il quarto centro del corpo sternale ed a 3-6 anni per il centro del processo xifoideo. La fusione tra il terzo ed il quarto

segmento del corpo ha luogo a 4-8 anni e tra il primo segmento ed il secondo a 8-25 anni.

La *scapola* inizia il processo di ossificazione da due centri primari localizzati a livello del corpo (8^a settimana di vita intrauterina) e del processo coracoideo (1° anno di vita) e da sette centri secondari epifisari che compaiono a: 15-18 anni per i due centri del processo coracoideo; 15-18 anni per il centro della cavità glenoidea; 16-22 anni per il centro dell'acromion; 17-22 anni per il centro dell'angolo inferiore; 17-23 anni per i due centri del bordo mediale o vertebrale.

Le *vertebre* iniziano a ossificarsi da tre centri primari, tra la 7^a e la 20^a settimana di vita intrauterina, e da cinque centri secondari, che compaiono durante la pubertà. Alla nascita, ogni vertebra è composta da tre parti: una mediana per il soma e due laterali per l'arco: le due parti laterali si uniscono tra 1 e 3 anni di vita e con il centro mediano tra 3 e 7 anni. Successivamente, vengono aggiunti un minimo di 5 nuclei epifisari. Questi iniziano a unirsi al corpo delle vertebre intorno ai 14 anni e finiscono tra i 17 ed i 25 anni.

L'*omero* inizia a ossificarsi da un centro diafisario primario che compare intorno ai 45 giorni di vita intrauterina e da sette centri epifisari secondari che compaiono a: 1-2 anni: per la testa; 2-3 anni per la grande tuberosità; 3-5 anni per la piccola tuberosità; 2-3 anni per il condilo; 5-8 anni per l'epicondilo laterale; 11-12 anni per il margine mediale della troclea; 12-14 anni per l'epicondilo mediale. Le epifisi prossimali si uniscono intorno ai 6 anni di età e si fondono con il corpo intorno ai 20 anni. L'epifisi della testa dell'omero completa il processo di fusione intorno ai 24 anni.

Il *radio* inizia il processo di ossificazione da un centro diafisario che compare intorno all'8^a settimana di vita intrauterina e da due centri epifisari secondari: il centro epifisario localizzato a livello prossimale compare a 5-6 anni e si salda con la diafisi tra i 16 ed i 18 anni; il centro epifisario localizzato a livello distale compare a 1.5 anni e si salda con la diafisi tra i 17 ed i 18 anni nei maschi e tra i 16 ed i 17 anni nelle femmine.

L'*ulna* inizia il processo di ossificazione da un centro diafisario che compare intorno all'8^a settimana di vita intrauterina e da due centri epifisari

secondari: il centro epifisario localizzato a livello prossimale compare a circa 11 anni (con una possibile rilevante variabilità compresa tra 7 e 14 anni) e si salda con la diafisi a circa 19 anni; il centro epifisario localizzato a livello distale compare a 6-7 anni e si salda con la diafisi tra i 17 ed i 20 anni.

L'*anca*: l'ileo compare intorno ai 2-3 mesi di vita intrauterina, mentre l'ischio ed il pube a circa 4-5 mesi di vita intrauterina. Il processo di ossificazione inizia intorno ai 7-8 anni (tra ischio e pube) e si completa a 17 anni circa, quando tutte e tre le componenti sono fuse. Altri centri epifisari secondari, che compaiono durante l'adolescenza e si fondono intorno ai 24 anni, contribuiscono all'ossificazione dell'anca. Compaiono tutti durante l'adolescenza e, con grandi variazioni nel tempo, si fondono completamente intorno ai 24 anni. La cresta iliaca compare pressappoco a 12 anni nelle femmine e 13 nei maschi e la sua fusione è completa intorno ai 23 anni.

Il *femore* inizia il processo di ossificazione da un centro diafisario che compare intorno all'8^a settimana di vita fetale e da quattro centri epifisari secondari: il centro epifisario per la testa compare ad 1 anno; il centro epifisario per il grande trocantere compare a 3-4 anni; il centro epifisario per il piccolo trocantere compare a 8-11 anni; il centro epifisario per l'epifisi distale compare all'ultimo mese di gravidanza. Quest'ultimo, localizzato al centro della cartilagine (nucleo di Béclard), raggiunge un diametro di circa 4-7 mm ed è l'unico centro secondario epifisario riscontrabile prima della nascita, assumendo in tal senso un rilevante valore medico-legale al fine della valutazione del grado di maturazione fetale.

La *tibia* inizia il processo di ossificazione da un centro diafisario che compare intorno alla 7^a-8^a settimana di vita intrauterina e da due centri epifisari secondari: il centro epifisario localizzato a livello prossimale compare alla nascita, inizia a saldarsi a 14 anni nelle femmine ed a 16-17 anni nei maschi e completa il processo di fusione con la diafisi intorno ai 19-24 anni; il centro epifisario localizzato a livello distale compare a 1-2 anni e completa il processo di fusione con la diafisi tra i 13 ed i 18 anni nelle femmine e 20 anni nei maschi.

La *fibula* si ossifica a partire da un centro diafisario che compare intorno alla 8^a settimana di vita intrauterina e da due centri epifisari secondari: il centro epifisario localizzato a livello prossimale compare a 3 anni nelle femmine e 4 anni nei maschi, inizia a saldarsi a 14-15 anni nelle femmine ed a 16-17 anni nei maschi e completa il processo di fusione con la diafisi a 22 anni circa; il centro epifisario localizzato a livello distale compare a 1-2 anni, inizia a saldarsi a 11-12 anni nelle femmine ed a 14-15 anni nei maschi e completa il processo di fusione con la diafisi pressoché a 20 anni.

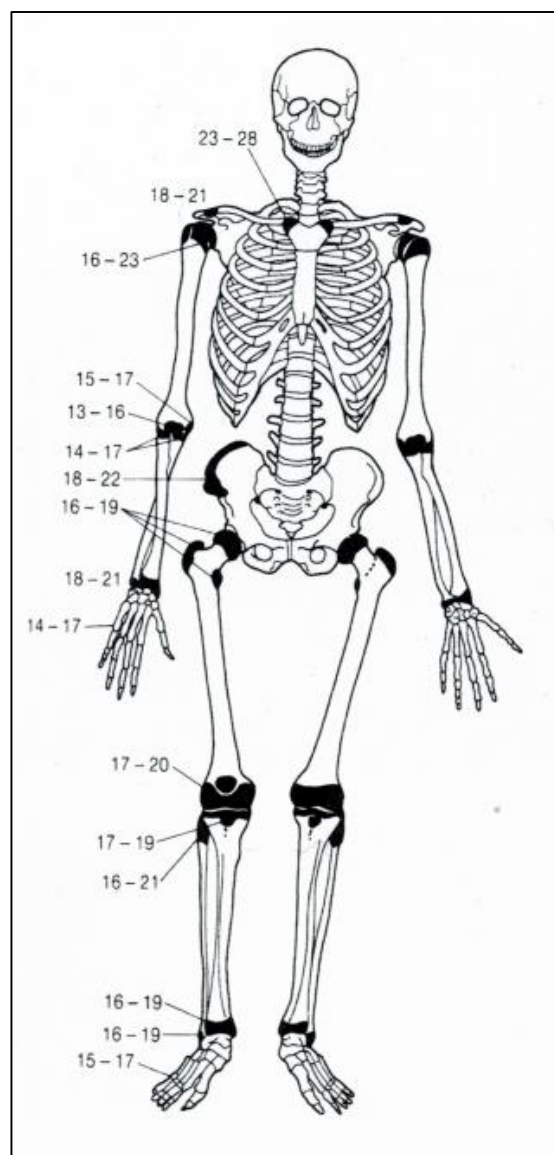


Figura 4 – Schema di uno scheletro rappresentante i range di età dei principali eventi di fusione delle epifisi (*Cattaneo e Grandi, 2012*)

Le tecniche di diagnostica per immagini consentono l'accurata individuazione dei nuclei di ossificazione ed il monitoraggio della loro evoluzione nel tempo, rendendo la valutazione dell'età scheletrica un valido criterio per la stima della maturità biologica dell'individuo e di conseguenza dell'età anagrafica, stante l'ottima correlazione esistente tra quest'ultima e l'età scheletrica (*Di Vella et al., 2000*).

Il livello di sviluppo scheletrico è rappresentato da immagini radiografiche delle ossa chiamate "indicatori di maturazione", ossia aree di ossificazione o di radiodensità che compaiono e si modificano con il progredire della maturazione ossea (*Di Vella et al., 2000*).

Ai fini della stima della maturità scheletrica nei soggetti subadulti è particolarmente indicato lo studio degli indicatori di maturazioni delle ossa del distretto mano-polso, in quanto rappresentativo del grado di sviluppo dell'intero scheletro (*Greulich e Pyle, 1959; Schmid e Moll, 1960; Hansman e Maresh, 1961; Hagg e Taranger, 1980; Thiemann e Nitz, 1991*).

Infatti, pur trattandosi di un distretto di piccola estensione, permette l'osservazione di un considerevole numero di ossa con una minima irradiazione del soggetto (*Di Vella et al., 2000*). Convenzionalmente, viene preferita l'acquisizione di immagini radiografiche della mano sinistra, in quanto, essendo la maggioranza della popolazione destrimane, è statisticamente meno soggetta a traumi che possano alterare il corretto sviluppo scheletrico (*Greulich e Pyle, 1959*).

II.3.1 I metodi per la determinazione dell'età scheletrica

Si distinguono fondamentalmente due tipi di approccio: qualitativo ovvero "ad atlante", basato sulla comparazione tra le immagini radiografiche di un dato soggetto ed atlanti di riferimento; quantitativo ovvero "a punteggio", basato su specifiche tecniche di misurazione (*Black et al., 2010*). Entrambi gli approcci si basano sull'osservazione dei cambiamenti morfologici che subiscono le epifisi delle ossa lunghe ed i centri di ossificazione delle ossa brevi nel corso delle diverse fasi di maturazione.

I metodi qualitativi si basano sull'identificazione di una o più caratteristiche morfologiche e sull'attribuzione del segmento scheletrico in esame ad un determinato stadio evolutivo, mediante la comparazione con immagini radiografiche raccolte in atlanti di riferimento.

In particolare, procedendo secondo il metodo di Greulich-Pyle (G&P) (Greulich e Pyle, 1959), considerato il più semplice e *user-friendly* (Cunha et al., 2009), l'età scheletrica è il prodotto del confronto tra il grado di ossificazione delle ossa della mano (carpo, metacarpo e falangi) e del polso (ulna e radio) con radiogrammi standard di riferimento corrispondenti a progressivi stadi maturativi (Figura 5). Il risultato finale include una stima dell'età media ed un *range* di errore.

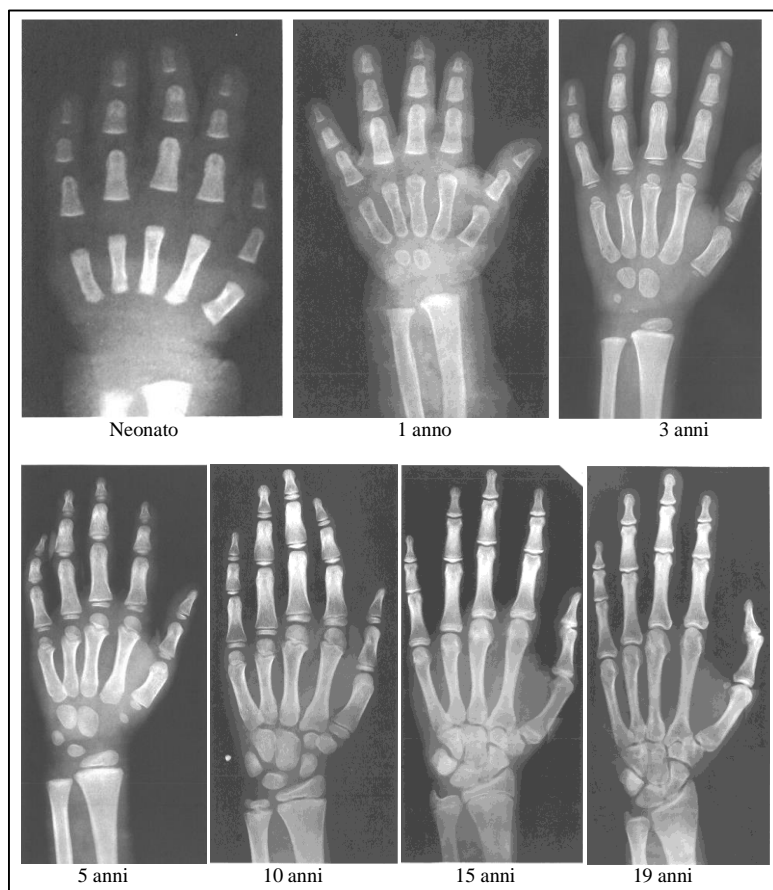


Figura 5 – Radiogrammi standard di riferimento in soggetto di sesso maschile secondo Greulich e Pyle (1959).

Nel metodo di Tanner-Whitehouse (TW) (Tanner et al, 1962), rivisitato nel 1975 (TW2) (Tanner et al, 1975) e nel 2001 (TW3) (Tanner

et al, 2001), l'attribuzione dell'età scheletrica è differenziata per sesso ed è ottenuta dalla trasformazione, attraverso una tabella di conversione prevista dagli autori, della somma di valori numerici assegnati ai gradi diversi di indicatori di maturazione ossea (Figura 6).

Utilizzando le descrizioni, le illustrazioni e le immagini radiografiche raccolte, si assegna ad ogni osso uno specifico stadio di maturazione scheletrica, compreso tra "A", quando non risulta ancora radiograficamente visibile il centro di ossificazione, e "H"/"I", quando l'osso ha acquisito la morfologia definitiva. Per ciascuno stadio sono elencati da uno a tre criteri distinti. Se è presente un solo criterio, lo stesso deve essere soddisfatto affinché lo stadio sia raggiunto; se sono previsti due criteri, è sufficiente che almeno uno dei due sia soddisfatto; se vengono dati tre criteri, almeno due di essi devono essere soddisfatti. Ad ogni stadio corrisponde uno score numerico ponderato e differenziato per sesso. Si ricavano, in questo modo, dapprima i due punteggi parziali RUS (ottenuto dalla somma degli score attribuiti a radio, ulna, metacarpi e falangi) e CARP (ottenuto dalla somma degli score attribuiti alle ossa del carpo). Sommando i due punteggi parziali, si ottiene il punteggio totale delle 20 ossa del TW2. Ognuno di questi punteggi è stato calibrato per essere compreso tra 0 (invisibile) e 1000 (maturità completa).

Al momento, pur se più complesso nei tempi di elaborazione, il metodo di Tanner-Whitehouse è considerato il *gold standard* nell'ambito di un utilizzo ai fini forensi (*Introna F, Campobasso CP, 2006*).

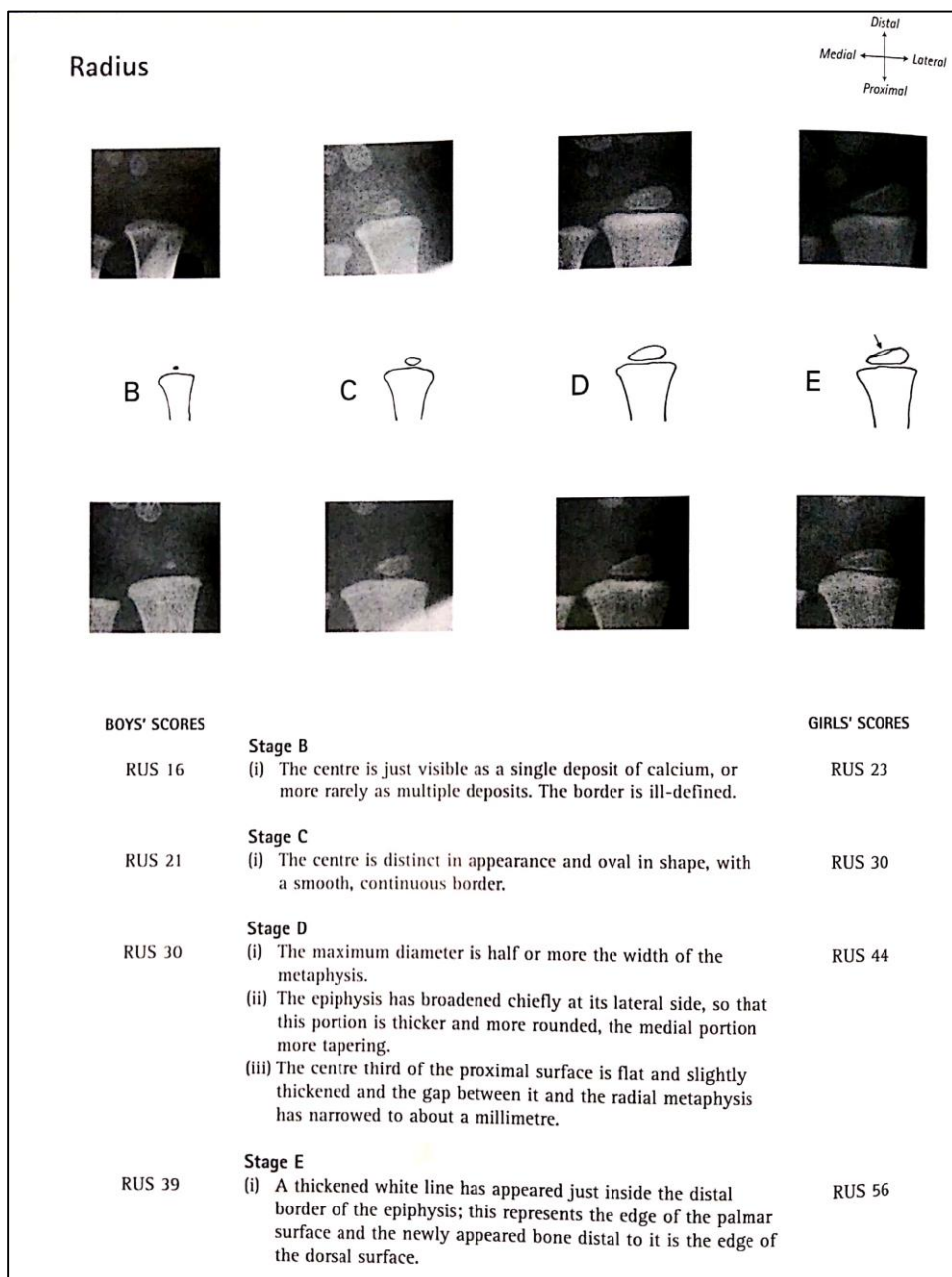


Figura 6 – Caratteristiche radiologiche dell'epifisi distale dal radio e stadi di maturazione con relativo punteggio come descritto da *Tanner (Tanner et al, 2001)*

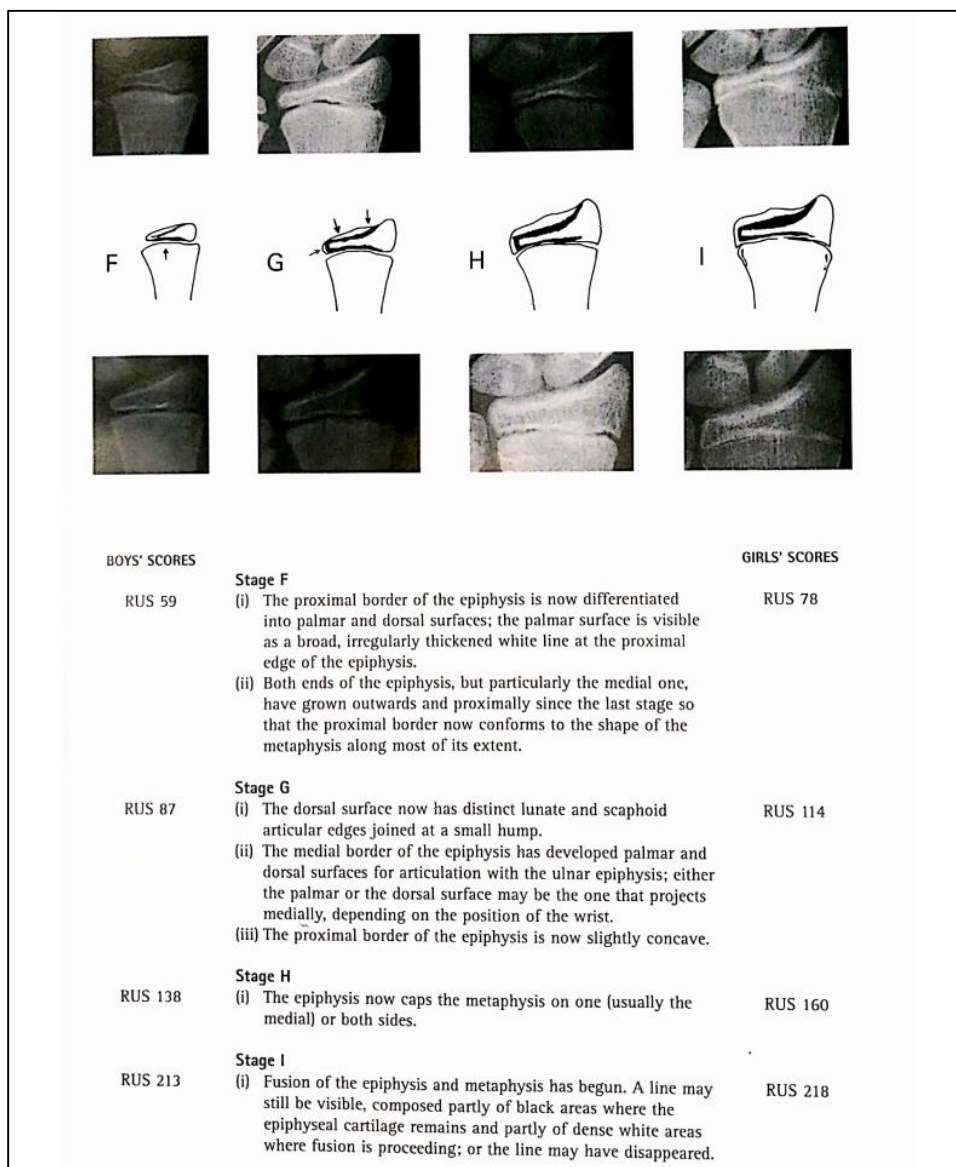


Figura 6 (continua)

Tuttavia, nel corso degli anni l'impiego delle predette metodiche in ambito forense ha evidenziato numerose criticità.

Per quanto riguarda il metodo di G&P, gli standard di riferimento sono rappresentati da radiografie di bambini ed adolescenti nati negli Stati Uniti d'America (Cleveland, Ohio) negli anni '30 del secolo scorso. Pertanto, trattasi di una popolazione standard che non può rappresentare il riferimento costante rispetto a gruppi di popolazione di diversa etnia ed estrazione socio-economica.

Infatti, uno studio retrospettivo su 1390 radiografie del polso e della mano di bambini, asiatici, africani, americani, bianchi ed ispanici, ha mostrato

che l'età scheletrica è significativamente sovrastimata nei bambini asiatici ed ispanici e che l'atlante di G&P non considera le differenze etniche (*Zhang et al., 2009*). Appare, quindi, discutibile l'applicazione di detta metodica ai bambini di epoca contemporanea, soprattutto se di etnia diversa (*Loder et al., 1993; Ontell et al., 1996*).

Inoltre, Schimdt et al. (2007) all'esito di un'analisi retrospettiva di 649 immagini radiografiche della mano appartenenti ad una popolazione di età compresa tra 1 e 18 anni, di entrambi i sessi, hanno evidenziato come utilizzando esclusivamente il metodo G&P, la probabilità che un individuo di sesso maschile con età scheletrica stimata di almeno 15.5 anni avesse un'età cronologica superiore ai 14 anni (età della responsabilità penale in molti Paesi) era pari al 95%; nel caso invece di soggetti di sesso femminile, pur con età scheletrica stimata superiore ai 16.0 anni, la probabilità che l'età cronologica fosse superiore ai 14 anni è risultata minore del 95%. Gli Autori concludono, quindi, che al fine di ridurre il margine di errore nella stima dell'età cronologica, l'analisi dello sviluppo scheletrico deve essere sempre associata ad un esame fisico, per rilevare i dati antropometrici ed i segni di sviluppo puberale, e ad un esame odontoiatrico.

Sebbene il metodo TW sia una tecnica di valutazione più sofisticata rispetto al metodo G&P, anche per questa metodica alcuni studi hanno mostrato diversi livelli di variabilità nei tempi dello sviluppo scheletrico ed un'accuratezza variabile (*Black et al., 2010; Franklin et al., 2015*). Come osservato da Roche et al. (1989) non è possibile calcolare mediante il metodo TW2 gli intervalli di confidenza per le età stimate, i quali risulterebbero importanti ai fini di una corretta interpretazione dell'età scheletrica. Inoltre, essendo un metodo semi-quantitativo, il metodo TW2 è fortemente dipendente dall'esperienza dell'osservatore, con una ripetibilità intra-osservatore ed una riproducibilità inter-osservatore da basse a moderate (*Franklin et al., 2015*).

Molti ricercatori hanno sottolineato le possibili discrepanze esistenti tra l'immagine radiografica e l'effettiva, fusione "anatomica" delle epifisi. Infatti, il processo di fusione epifisaria ha una progressione centripeta, sicché l'epifisi può apparire radiograficamente completamente fusa, mentre

macroscopicamente è solo parzialmente fusa (*Introna e Campobasso, 2006*). Alcuni autori hanno, altresì, rilevato che la radiografia mostrerebbe una fusione epifisaria con un anticipo fino a tre anni rispetto alla reale fusione anatomica (*Drenne e Keen, 1953*), mentre altri hanno rimarcato che la differenza è di circa sei mesi (*Krogman e Iscan, 1986*). Di converso, l'accumulo di osso compatto che si verifica durante il processo di fusione può apparire radiograficamente come una "linea persistente di fusione" anche molti anni dopo la completa fusione macroscopica (*Krogman e Iscan, 1986*).

Ulteriori metodiche di determinazione dell'età scheletrica sono rappresentate dal metodo Thiemann-Nitz (*Thiemann e Nitz I, 1991*), precipuamente utilizzato nei paesi di lingua tedesca, ed il FELS (*Roche et al., 1989*). Quest'ultimo, basato su una procedura computer-assistita che prende in considerazione indicatori di maturità del distretto mano-polso che variano a seconda dell'età e del sesso del soggetto, valutati o in funzione di particolari caratteristiche morfologiche o in base ai rapporti tra misure lineari rilevate sui segmenti ossei, ha mostrato una progressiva sovrastima dell'età cronologica con il crescere dell'età (*Black et al., 2010*).

II.3.2 Il metodo Bo/Ca

Nel 2006, Cameriere et al. hanno elaborato un metodo quantitativo basato sull'analisi delle proiezioni radiografiche planari di specifiche ossa ed aree della mano e del polso (Figura 7). Tale metodo prevede l'analisi di radiografie processate mediante software che permettano di eseguire misurazioni (CAD, Computer-Aided Drafting) (ImageJ, Adobe Photoshop, Adobe System).

Gli elementi anatomici oggetto di misurazione sono rappresentati dalle proiezioni delle otto ossa carpali (scafoide, semilunare, piramidale, pisiforme, trapezio, trapezoide, capitato ed uncinato) e dell'epifisi distale del radio e dell'ulna, la cui somma complessiva rappresenta il valore "Bo(nes)", e l'area comprendente il carpo e l'epifisi distale dell'ulna e del radio incluse, che rappresenta il valore "Ca(rpal)". L'età scheletrica è calcolata in accordo alla formula:

$$\text{Età scheletrica} = -3,253 + 0,719 g + 20,610 \text{ Bo/Ca}$$

dove g (gender) è la variabile relativa al sesso, il cui valore sarà 1 se il soggetto in esame è maschio, 0 se è femmina.

L'errore standard stimato su un campione italiano di 150 subadulti mediante il metodo Bo/Ca è pari a 1.19 anni, con una varianza R^2 pari a 0,83 (*Cameriere R et al., 2006*)

Successivamente, il metodo Bo/Ca è stato testato su un campione di nazionalità slovena, costituito da 158 subadulti con età compresa tra i 6 ed i 16 anni (*Cameriere et al., 2007*). Il modello di regressione analizzato ha prodotto la seguente equazione:

$$\text{Età scheletrica} = -3,411 + 0,942 g + 20,927 \text{ Bo/Ca}$$

Gli Autori avendo osservato l'assenza di differenze significative tra i modelli lineari formulati sui campioni sloveno ed italiano, hanno sviluppato un modello di regressione, descritto dalla seguente formula di regressione lineare:

$$\text{Età scheletrica} = -2,907 + 0,408 g + 20,757 \text{ Bo/Ca}$$

con una varianza R^2 pari a 0,86 ed un errore standard di stima di 0,96 anni.

De Luca S et al. (2016) hanno applicato il metodo Bo/Ca su un nuovo campione di 332 radiografie delle ossa del distretto mano-polso di sinistra, appartenenti a subadulti di nazionalità italiana. Il modello di regressione ha prodotto la seguente formula:

$$\text{Età scheletrica} = -1,7702 + 1,0088 g + 14,8166 \text{ Bo/Ca}$$

con una varianza R^2 pari a 0,835 ed un errore standard di 1,54.

Il metodo è stato applicato anche ad un secondo campione di 204 subadulti italiani, al fine di valutarne l'accuratezza. Analizzate le differenze

medie tra l'età scheletrica ed età cronologica, l'errore medio per le femmine è stato pari a 0.00 anni (DS= 0,70), mentre nei maschi è stata riscontrata una leggera sottostima, con un errore medio di - 0,30 anni (DS= 0,78) (De Luca et al., 2016).

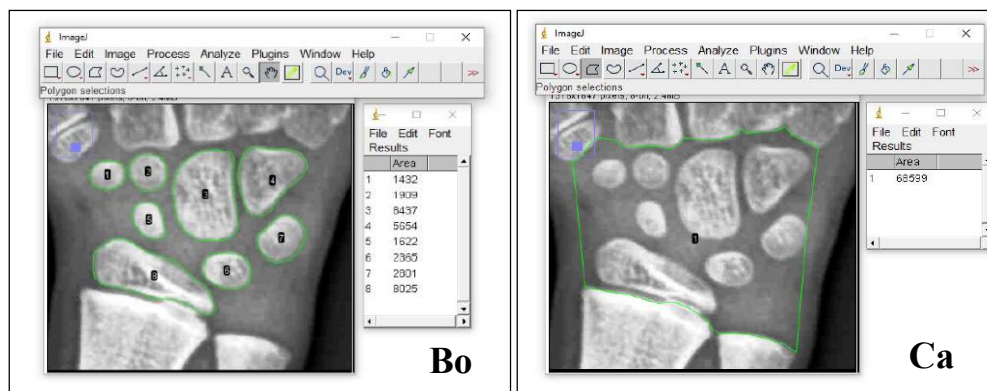


Figura 7 - Selezione poligonale delle aree delle ossa carpali e delle epifisi distale di radio e ulna (Bo) e selezione poligonale dell'area totale del carpo (Ca) (Angelakopoulos, 2020)

II.3.3 Lo studio dell'epifisi sternale della clavicola

Più arduo appare la valutazione dell'età scheletrica di un individuo vivente ormai adulto, che ha raggiunto cioè il termine della pubertà, le cui epifisi hanno completato quasi del tutto il processo di fusione e per il quale risultano di difficile applicazione i metodi utilizzabili su resti scheletrici.

L'estremità sternale della clavicola risulta particolarmente interessante per stimare l'età in questa fase. Tale distretto, infatti, è l'ultimo a completare la maturazione scheletrica, che avviene di solito entro la terza decade di vita (Stevenson, 1924; Scheuer e Black, 2000).

Diversi studi sono stati condotti su materiale autoptico (Todd e D'Errico, 1928; Webb e Suchey, 1985), altri su immagini radiografiche tradizionali ed immagini TC. Una prima classificazione della maturazione clavicolare prevedeva l'individuazione di quattro fasi di ossificazione: epifisi mediale assente, epifisi mediale visibile ma non saldata, fusione parziale e fusione completa (Jit e Kulkarni, 1976).

Sono state individuate due nuove fasi: una fase 4, caratterizzata da una fusione con linea di saldatura o "scar" ancora visibile, ed una fase 5,

caratterizzata da una fusione completa, in assenza della linea di fusione (Schmeling et al., 2004; Schulz et al., 2005) (Figura 8). Nel campione studiato da Schmeling et al. (2004) lo stadio 3 è stato rilevato ad un'età minima di 16 anni in entrambi i sessi, lo stadio 4 nelle femmine a 20 anni e nei maschi a 21 anni, mentre la fase 5 in entrambi i sessi all'età minima di 26 anni. Nel campione studiato da Schultz et al. (2005) la fase 3 è stata osservata all'età di 16 anni nelle femmine e 17 anni nei maschi, la fase 4 in entrambi i sessi all'età minima di 21 anni, mentre lo stadio 5 nelle femmine all'età di 21 anni e nei maschi all'età di 22 anni.

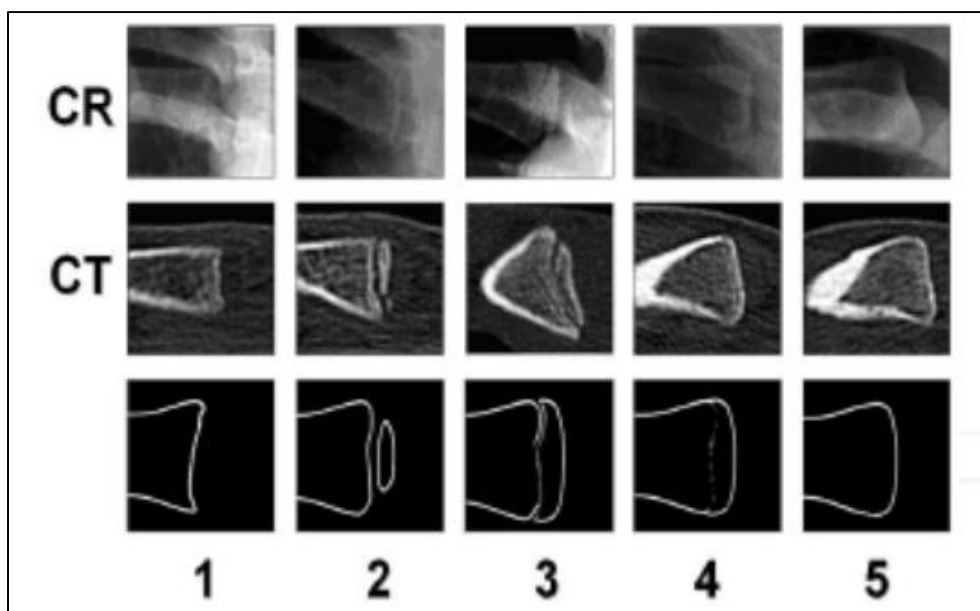


Figura 8 - Riproduzioni schematiche ed immagini relative alle 5 fasi di fusione dell'estremità mediale della clavicola, CR: radiografia convenzionale, CT: tomografia computerizzata (Schmeling et al. 2011).

Kellinghaus et al. (2010) hanno effettuato uno studio condotto su immagini ottenute mediante TC a strato sottile. I risultati ottenuti sono coerenti con quanto osservato nello studio su immagini di TC convenzionale condotto da Schmeling et al. nel 2004. Gli stessi autori, inoltre, hanno individuato ulteriori stadi intermedi di fusione.

Diversi autori hanno evidenziato discrepanze tra i risultati ottenuti mediante lo studio di resti scheletrici e quelli ottenuti analizzando immagini radiografiche. L'inizio della fusione epifisaria, infatti, è spesso rilevabile

radiograficamente prima che possa essere visibile direttamente sull'osso. Pertanto, i valori di riferimento degli studi su resti scheletrici non dovrebbero essere applicati al vivente (*Krogman e Iscan, 1986*).

II.3.4 L'ecografia e la RM nella determinazione dell'età scheletrica

Infine, quantunque allo stato sperimentale e privi di un'adeguata standardizzazione (*Cunha et al., 2009*), devono essere considerati gli studi sull'utilizzo dell'ecografia e della Risonanza Magnetica ai fini forensi, metodiche diagnostiche particolarmente interessanti anche in relazione alle controversie correlate all'utilizzo di radiazioni ionizzanti per fini giuridico-amministrativi e non diagnostico-terapeutici (*Aynsley-Green et al., 2012*)

L'ecografia ha il vantaggio di essere un esame strumentale facilmente accessibile, veloce ed a basso costo. Di converso è gravata da alcune problematiche, quali la lunga curva di apprendimento, la stretta dipendenza dall'operatore nella interpretazione del risultato nonché la possibile presenza di artefatti correlati alla tipologia di sonda ecografica ed alla corpulenza del paziente. I distretti anatomici esplorati ai fini forensi sono la clavicola, l'epifisi prossimale di ulna, il polso (epifisi distale di radio ed ulna) e la cresta iliaca.

- a) *Clavicola*. La valutazione ultrasonografica del grado di ossificazione della clavicola è stata esperita applicando la classificazione in 4 stadi di Webb e Suchey (*Webb e Suchey, 1985; Schulz et al., 2008*). Dimostrata la validità della metodica ultrasonografica nella determinazione dello sviluppo della clavicola, è stata documentata una correlazione tra lo stadio 4 (l'estremità mediale della clavicola è una curva convessa e non è osservabile alcun centro di ossificazione) ed il raggiungimento del 18° anno di età (*Schulz et al., 2013*)
- b) *Epifisi prossimale dell'ulna (olecrano)*. Il grado di ossificazione dell'olecrano, come per la clavicola, è stato suddiviso in 4 stadi, ed è stato dimostrato che lo stadio 3 (parziale fusione dell'epifisi e della diafisi) è osservabile in soggetti di sesso femminile di 10 anni e di sesso maschile di 13 anni, mentre lo stadio 4 (completa fusione di epifisi e diafisi) è

riscontrabile in femmine che hanno raggiunto il 12° anno di età (*Schulz et al., 2014*).

- c) *Polso (epifisi distale di radio ed ulna)*. Lo studio ecografico ha mostrato una buona correlazione con il metodo di Greulich e Pyle nei primi 6 anni di vita, ma non sono stati studiati minori più grandi e giovani adulti (*Bilgili et al., 2003*). Quando l'esame ecografico si focalizza nell'analisi dell'epifisi distale del radio e dell'ulna, i risultati inerenti la correlazione tra età ossea ed età cronologica sono del tutto sovrapponibili a quelli ottenuti con l'esame radiografico (*Mentzel et al., 2005*) e, come per il metodo di Greulich e Pyle, l'esame ecografico dell'epifisi distale del radio sembra essere particolarmente accurato sino alla soglia del 14° anno di età (*Schmidt et al., 2013*).
- d) *Cresta iliaca*. L'esame ecografico ha mostrato risultati sovrapponibili alla radiografia standard, soprattutto nella stima del 14° e 16° anno di età (*Schmidt et al., 2013*).

La Risonanza Magnetica (RM) si è mostrata particolarmente adatta nello studio della piastra di crescita epifisaria ed, in particolare, della giunzione metafisi-epifisi che appare come un *gap* più o meno completo tra metafisi ed epifisi a seconda dello stadio di sviluppo. La fusione è caratterizzata da “*hazy areas*” nelle sequenze T1-pesate e quando la fusione è completa, le epifisi e le metafisi sono unite in tutte le immagini di RM e, solo in alcuni casi, si può osservare una sottile linea orizzontale, simile ad una cicatrice epifisaria.

Rispetto all'esame radiografico standard, in RM l'inizio del processo di fusione è correlato ad un'età cronologica più giovane, mentre il completamento del processo di fusione è correlato ad un'età cronologica più avanzata (*Dedouit et al., 2015*).

- a) *Clavicola*. Uno studio effettuato su resti scheletrici, ha mostrato che la completa fusione dell'estremità sternale della clavicola ha luogo tra i 16 ed i 23 anni (*Schmidt et al., 2007*). Tuttavia, un secondo studio ha dimostrato che la probabilità di avere un'età inferiore ai 18 anni, quando la clavicola è completamente ossificata, è pari allo 0.8% nelle femmine e 0.2% nei maschi. Ciò nonostante, siccome i risultati degli studi sono discrepanti, gli

autori di quest'ultimo studio suggeriscono una contemporanea valutazione del polso e della mano (*Hillewig et al., 2013*)

- b) *Polso*. La RM del polso è stata utilizzata per la prima volta nel 2003, allorquando la Fédération Internationale de Football Association (FIFA), ha rilevato una discrepanza tra l'età dichiarata da alcuni partecipanti a manifestazioni sportive riservate agli under-18 ed under-17 e le loro caratteristiche fisiche. L'esame RM dell'epifisi distale del radio, in sequenze T1-pesate, ha mostrato che solamente l'1% dei maschi di età inferiore ai 17 anni presentava una fusione totale dell'epifisi. Successivamente, questo metodo è stato impiegato anche in altre manifestazioni sportive e, nel 2009, molti allenatori hanno dovuto sostituire più della metà dei loro calciatori prima di una competizione sportiva per giocatori under-17 (*Dvorak et al., 2007; Dvorak, 2009*)
- c) *Ginocchio*. Alcuni studi hanno mostrato che l'epifisi prossimale della tibia può essere un buon marcatore per stabilire la soglia di età tra 14 e 16 anni (*Dedouit et al., 2012; Krämer et al., 2014*). Mentre un altro studio ha mostrato che una completa fusione dell'epifisi distale del femore, in sequenze T1 pesate, era correlabile, in soggetti maschi, ad un'età di almeno 18 anni (*Krämer et al, 2014*).

Tenuto conto dello “stadio embrionale” degli studi inerenti l'applicabilità dell'ecografia e della Risonanza Magnetica in ambito forense segnatamente alla stima dell'età cronologica, rimangono aperte le questioni riguardanti l'affidabilità, la riproducibilità ed il margine di errore ascrivibile alla variabilità biologica, alla distorsione sistemica ed all'imprecisione dell'operatore esperto nella valutazione dell'esame.

II.4 Odontogenesi e metodi di valutazione dell'età dentaria

Lo studio dell'odontogenesi è considerato uno dei metodi di stima dell'età cronologica più precisi, essendo un distretto anatomico poco influenzato da fattori esogeni (*Liversidge et al., 1998*).

La valutazione della maturazione dentaria è più agevole ed accurata negli infanti e nei soggetti subadulti in quanto, essendovi più elementi dentari

in fase di sviluppo, risulta maggiore la quantità di dati analizzabili (*Black et al., 2010*). L'osservazione di tali stadi di sviluppo avviene, nel vivente, per lo più tramite l'acquisizione di immagini radiografiche.

I denti umani, sia decidui che permanenti, attraversano diverse fasi di sviluppo, suddivisibili in: inizio della mineralizzazione, completamento della corona, eruzione e completamento della radice (*Catachio e Corniola, 2000*). Sull'osservazione di tali fasi si basa la stima dell'età dentaria negli infanti e nei subadulti.

I denti decidui iniziano l'odontogenesi intorno alle 6 settimane di vita intrauterina. Il bordo incisale degli incisivi superiori inizia la mineralizzazione tra le 13 e le 16 settimane di vita intrauterina (*Black et al., 2010*). A partire dai 4-5 mesi di vita fetale fino ai 14 anni, si assiste al completamento dello sviluppo ed all'eruzione dei denti decidui, nonché alla sostituzione degli stessi da parte dei denti permanenti (*Ubelaker, 1999*), la cui mineralizzazione inizia alla nascita e si completa intorno ai 9 anni, partendo dal primo molare permanente (*Evans e Knight, 1981*)

In media, all'età di 15 o 16 anni, ad eccezione dei terzi molari, tutti i denti permanenti hanno completato il loro sviluppo ed infatti se le corone dei terzi molari sono complete per meno della metà è probabile che il soggetto abbia un'età inferiore ai 14 anni. Nella tarda adolescenza, solo i terzi molari continuano a formarsi. In questa fase, i terzi molari hanno completato lo sviluppo della corona e le radici sono l'unica struttura dentale che può essere utilizzata per la stima dell'età fino a un'età media di circa 19-20 anni, quando è avvenuta la chiusura dell'apice. Negli adulti più giovani, le fasi di calcificazione dei terzi molari sono gli indicatori dentali più affidabili, ma negli individui viventi possono essere esaminati solo mediante ortopantomografia (*Introna e Campobasso, 2006*).

Al pari delle metodiche per la valutazione dello sviluppo scheletrico anche per i metodi atti alla stima dell'odontogenesi, può farsi una distinzione tra metodiche qualitative, fondate sulla comparazione tra le immagini ortopantomografiche di un determinato soggetto ed atlanti di riferimento, e quantitative, basate su specifiche tecniche di misurazione.

Schour I e Massler M (*Schour e Massler, 1941*) hanno pubblicato delle tavole iconografiche composte da 22 diagrammi rappresentanti fasce di età comprese tra i 5 mesi di vita intrauterina ed i 35 anni, con un intervallo compreso tra 3.6 e 9 mesi. Ogni diagramma è costituito da una rappresentazione grafica dei singoli elementi dentari nella loro fase di sviluppo. Nonostante non siano noti i dettagli relativi alla composizione del campione, quest'atlante e le sue successive versioni sono ancora oggi ampiamente utilizzati in ambito antropologico (Figura 9). L'applicazione prevede il confronto tra l'esame ortopantomografico del caso in esame con i diagrammi di riferimento.

Negli anni sono state pubblicate diverse versioni del predetto atlante, tra cui la versione di Ciapparelli (*Ciapparelli, 1992*), tutt'oggi in uso.

Successivamente, nel 1978, Ubelaker DK, sulla scorta di una revisione sistematica, ha effettuato un aggiornamento dell'atlante di Schour I e Massler M (*Ubelaker DK, 1978*) (Figura 10). La carta dello sviluppo dei denti elaborata da Ubelaker descrive lo stato di sviluppo di entrambe le arcate in un *range* di età compreso tra i 5 mesi di vita intrauterina ed i 35 anni di età. Ciascuna figura dello schema, a cui corrisponde un'età media ed un *range* di variazione stimato come deviazione standard, mostra lo stato di sviluppo delle corone dei denti permanenti e decidui, il grado di formazione della radice e lo stadio di eruzione. Anche in questo caso, l'applicazione prevede il confronto tra l'esame ortopantomografico del caso in esame con i diagrammi di riferimento.

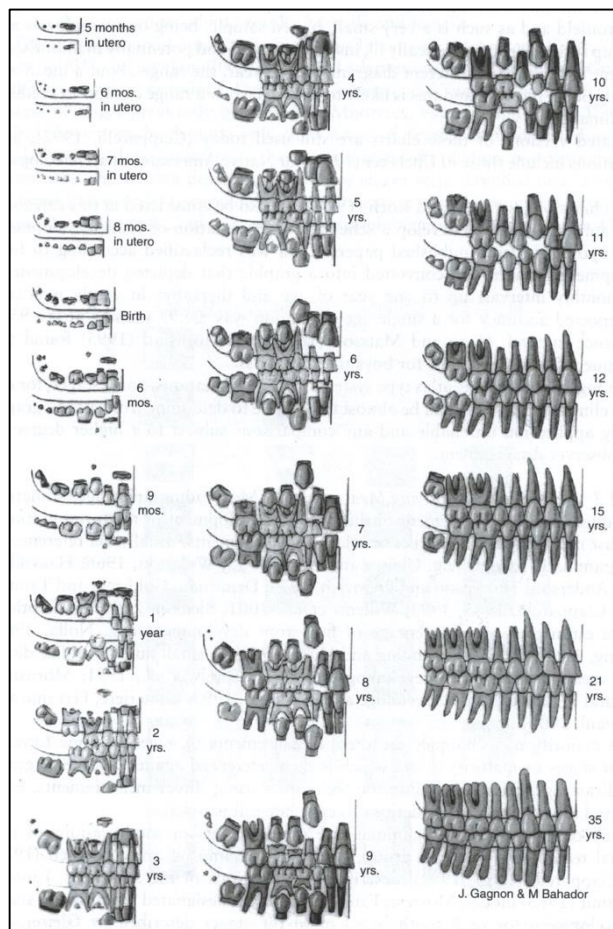


Figura 9 - Tavole iconografiche sullo sviluppo dentario secondo Schour e Massler (*Taylor J e Blenkin M, 2010*)

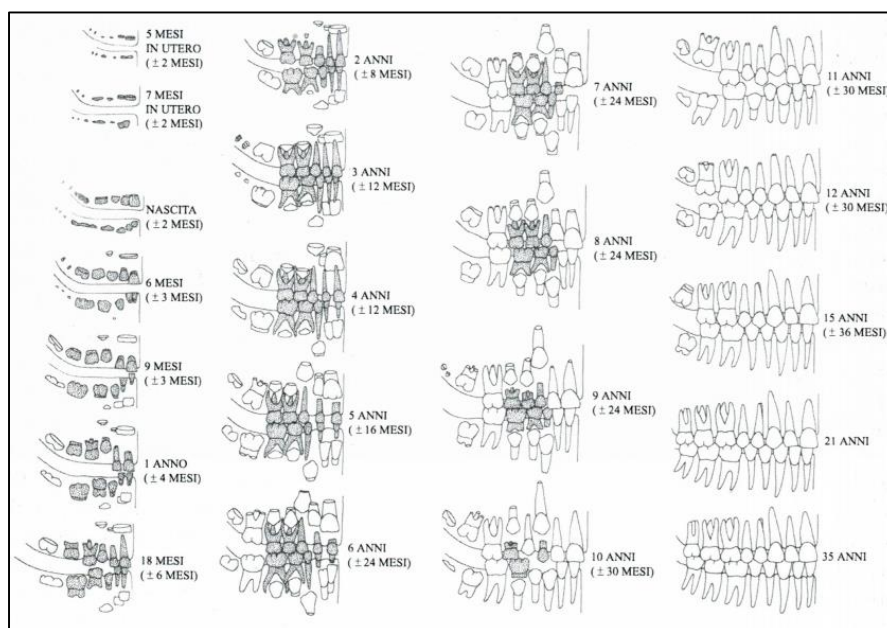


Figura 10 – Schema dello sviluppo dentario e delle corrispondenti età secondo Ubelaker (1978), in grigio la dentizione deciduale ed in bianco quella permanente

Gustafson e Koch, nel 1974, formularono uno schema rappresentativo delle fasi di sviluppo dentario, suddivise in quattro stadi: sviluppo delle radici, eruzione, formazione della corona, inizio della produzione di dentina, nel periodo compreso tra 8 mesi prima della nascita e 16 anni (Gustafson G e Koch G, 1974). In Figura 11, sono rappresentate tutte le fasi dell'eruzione dentaria, con l'età media (indicata dall'apice del triangolo) e le rispettive variazioni (indicate dal triangolo).

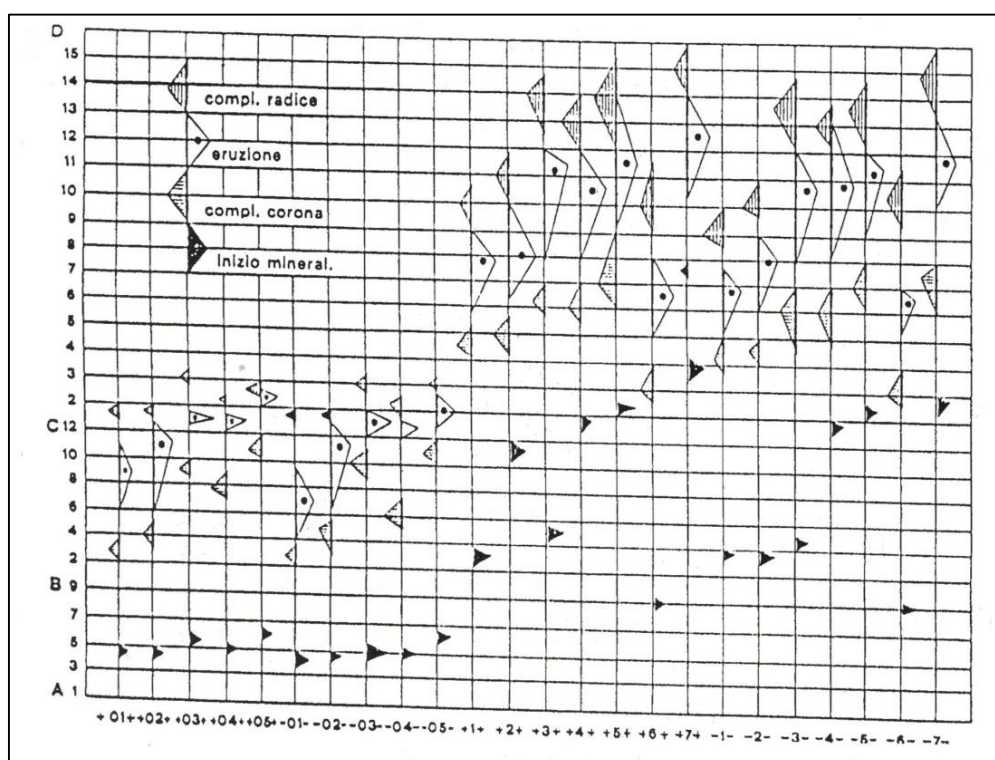


Figura 11 - Stadi dello sviluppo dentario secondo Gustafson e Koch (A-B: vita intrauterina, B-C: I anno di vita, C-D: da 2 a 16 anni) (Gustafson G e Koch G, 1974)

Nel 2008 Al Qahtani ha elaborato un atlante derivante dall'analisi retrospettiva di materiale scheletrico proveniente dalla collezione del "Royal College of Surgeons of England", dal "Natural History Museum di Londra" e dallo studio di 528 immagini radiografiche appartenenti ad individui viventi. Le età, tenendo conto anche delle differenze di genere, furono suddivise con intervalli mensili per l'ultimo trimestre di vita intrauterina, di due settimane in epoca perinatale, trimestrali entro il primo anno e, successivamente, annuali. I risultati hanno evidenziato una bassa variabilità individuale nello sviluppo

dentario nell'infanzia ed una maggiore variabilità dello sviluppo del terzo molare dopo i 16 anni (Al Qahtani SJ, 2008) (Figura 12).

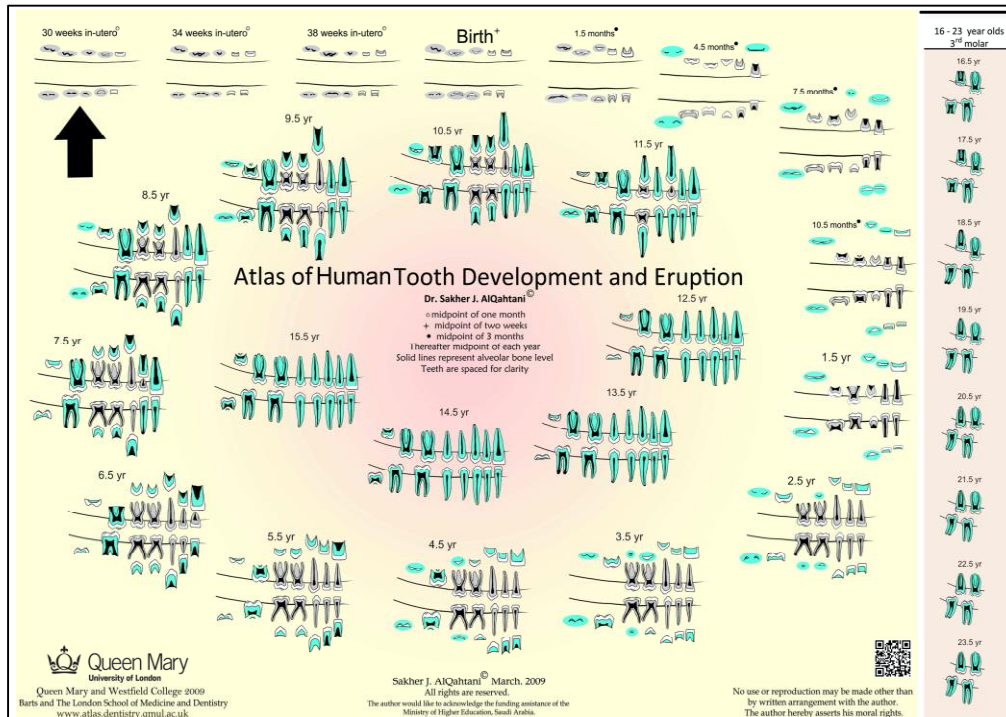


Figura 12 - Atlante di sviluppo ed eruzione dei denti (AlQahtani SJ, 2008)

Nel 1960 Nolla CM ha condotto uno studio radiografico longitudinale su 50 soggetti di età compresa tra i 4.6 ed i 16.6 anni per i maschi e tra i 5.7 ed i 16.8 anni per le femmine, illustrando dieci stadi di sviluppo dei denti permanenti mascellari e mandibolari. Secondo tale metodo, ad ogni dente è assegnato uno stadio. La somma totale dei singoli stadi viene così associata all'età corrispondente (Nolla, 1960). Il metodo elaborato da Nolla, oltre a tener conto delle differenze di genere, ha il vantaggio di poter essere applicato anche ad individuo privi del terzo molare. Diversi studi hanno rilevato come l'applicazione del metodo di Nolla comporti un errore medio di valutazione di circa 2 anni per un intervallo di confidenza del 95% (Haavikko, 1974; Bolaños et al., 2003).

A Moorrees CFA et al. (1963) si deve la formulazione di un primo metodo quantitativo basato su misurazioni dirette di alcune caratteristiche anatomiche dei denti permanenti monoradicolari mandibolari e mascellari e

molari mandibolari (Figura 13). Gli Autori del citato studio elaborarono due schemi di sviluppo separati, uno per i denti monoradicolari comprendente 13 stadi e l'altro per i molari mandibolari con 14 stadi di sviluppo, tenendo conto delle differenze di genere e riportando dati relativi all'epoca di sviluppo della corona e della radice dei singoli denti e la relativa deviazione standard (Moorrees et al., 1963). È stata riportata una variazione dalla norma della fascia di età di circa 3-5 anni per i denti nelle fasi di formazioni delle radici e fino a circa 8 anni nella fase di chiusura apicale.

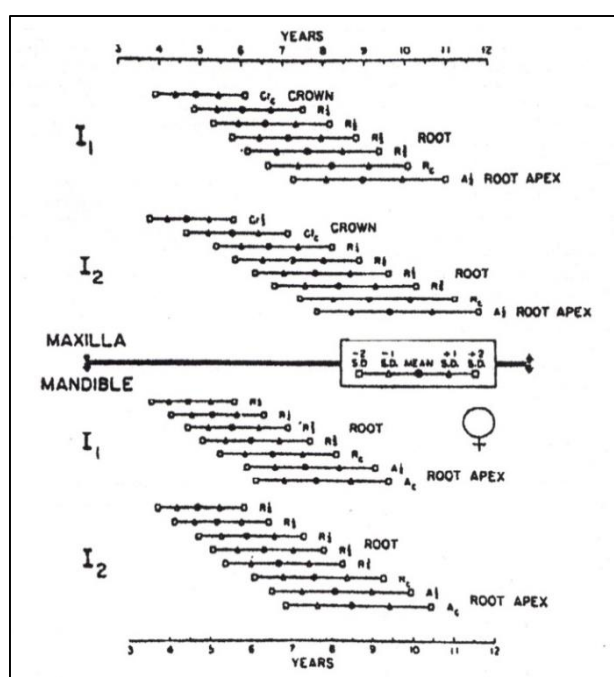


Figura 13 - La figura mostra le età medie, con le relative deviazioni standard, in cui si raggiungono determinati stadi di sviluppo degli incisivi centrali e laterali mascellari e mandibolari permanenti: la formazione completa della corona, lo sviluppo della radice, fino al completamento della stessa, le fasi di chiusura dell'apice (Moorrees et al., 1963)

Demirjian e Goldstein (1976) basandosi su uno studio radiografico su più di 7000 soggetti di origine franco-canadese di età compresa tra 2 e 20 anni, hanno suddiviso la mineralizzazione dentaria dei primi sette denti permanenti in otto fasi (A-H), dalla comparsa dei primi centri di calcificazione, alla chiusura degli apici delle radici. Attribuito un valore ad ogni specifico stadio, la somma dei valori corrispondenti ai 7 elementi dentari consente di ottenere

uno “score maturity” che, tramite tabelle specifiche per genere, è direttamente convertibile nell’età del soggetto (Figura 14)

Successivamente, Chaillet e Demirjian (2004) inclusero nella metodica sopra delineata anche la valutazione del terzo molare, al fine di estendere l’applicazione del metodo ad un gruppo di età più ampio (Figura 15). Se il terzo molare ha radici completamente chiuse e (stadio H di Demirjian) c’è un’alta probabilità, pari al 90,1% per i maschi bianchi ed al 92,2% per le femmine bianche che un individuo abbia raggiunto almeno i 18 anni di età (*Mincer et al, 1997*).

Nel periodo compreso tra i 14 ed i 21 anni si assiste unicamente alle modificazioni anatomiche ed all’eruzione del solo terzo molare. Pertanto, la valutazione dell’età diventa più complessa, a causa anche della variabilità dello sviluppo del terzo molare, il quale rappresenta il dente che mostra la maggiore frequenza di agenesia e di variabilità interindividuale. Inoltre, a differenza degli altri elementi dentari, il terzo molare tende a concludere il suo sviluppo prima nei maschi che nelle femmine (*Schmelting et al., 2011*). Pertanto, a causa della scarsità di indicatori alternativi, la valutazione della maturità del terzo molare rappresenta uno degli strumenti principali utilizzati nella stima dell’età nei soggetti ultra-quattordicenni.

Tuttavia, sono state recentemente illustrati diverse criticità sia ascrivibili al metodo di Demirjian che a quello di Mincer.

Uno studio condotto sotto l’egida dell’American Board of Forensic Odontology (ABFO) per valutare l’affidabilità radiografica del terzo molare utilizzando la classificazione di Demirjian, ha mostrato come lo sviluppo del terzo molare mascellare si completa anticipatamente rispetto all’omologo mandibolare e la formazione delle radici è più precoce nelle femmine rispetto ai maschi (*Mincer et al., 1993*).

Lo studio commissionato dall’ABFO ha oltremodo rimarcato come il terzo molare, in virtù della variabilità correlata alle dimensioni, ai tempi di formazione ed eruzione, all’assenza congenita o iatrogena e ad eventuali malformazioni, non dovrebbe essere considerato un marker di sviluppo ideale (*Mincer et al., 1993*).

Altri studi sull'accuratezza dello sviluppo del terzo molare quale strumento per la stima dell'età cronologica sono addivenuti a conclusioni discordanti. Thorson e Hägg (1991) hanno dimostrato che la differenza tra l'età stimata e quella anagrafica è di circa ± 4.5 anni nelle femmine e $\pm 2,8$ anni nei ragazzi. Di converso, Gunst K et al. (2003), hanno mostrato una differenza tra l'età stimata e quella cronologica di 1.49 anni e di 1.50 anni rispettivamente per maschi e femmine. Molti studi sull'accuratezza del metodo di Demirjian hanno poi evidenziato differenze relativamente elevate tra età cronologica ed età stimata rilevando una generale sovrastima (solo in alcuni casi pari a 1 anno), rimarcando la necessita di una standardizzazione specifica per ogni popolazione (*Cunha et al, 2009*).

Uno studio comparativo sulla mineralizzazione dei denti del giudizio condotto sulla popolazione tedesca, giapponese e sudafricana ha mostrato che per gli stadi D-F, i soggetti asiatici erano in media di 1-2 anni più vecchi, mentre per gli stadi D-G i soggetti africani erano di circa 1-2 anni più giovani dei soggetti caucasoidi che avevano il medesimo livello di mineralizzazione (*Olze et al., 2006*)

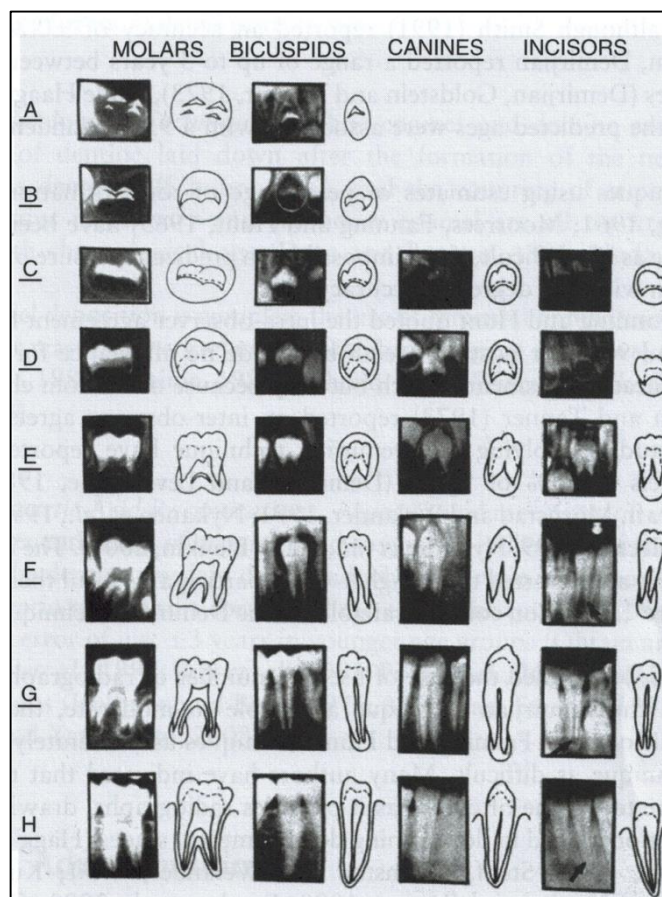


Figura 14 - Sistema di Demirjian per la valutazione dell'odontogenesi (Demirjian e Goldstein, 1976)

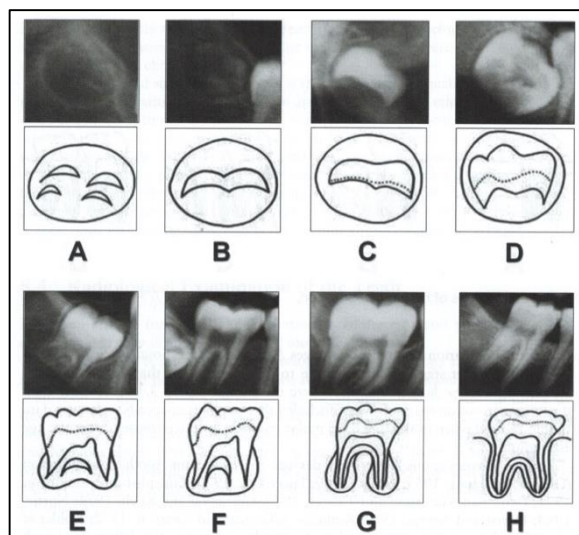


Figura 15 - Stadi di mineralizzazione del terzo molare secondo Demirjian (Chaillet e Demirjian, 2004)

Portigliatti-Barbos et al. hanno elaborato una metodica di valutazione dell'età dentaria, che essendo stata sviluppata in riferimento alla popolazione

italiana riteniamo debba essere opportunamente considerata (Portigliatti Barbos et al., 1982). Il metodo prende in considerazione i sette denti mandibolari dell'emiarcata destra e classifica lo sviluppo in 12 stadi compresi tra l'assenza di immagine (stadio 1) e la completa mineralizzazione (stadio 12): se il primo molare non ha raggiunto lo stadio 12, il soggetto con elevate probabilità ha meno di 14 anni; se il terzo molare ha raggiunto lo stadio 12, il soggetto ha probabilmente più di 18 anni; se il primo molare ha raggiunto lo stadio 12 ed il terzo molare non ancora, si applica un'equazione in cui inserire i punteggi assegnati ai denti 4.5, 4.7 e 4.8 (Figura 16). Questa equazione fornisce la stima dell'età in giorni, con un errore pari a ± 324 giorni per i maschi e ± 332 giorni per le femmine (Norelli e Pinchi, 2011)

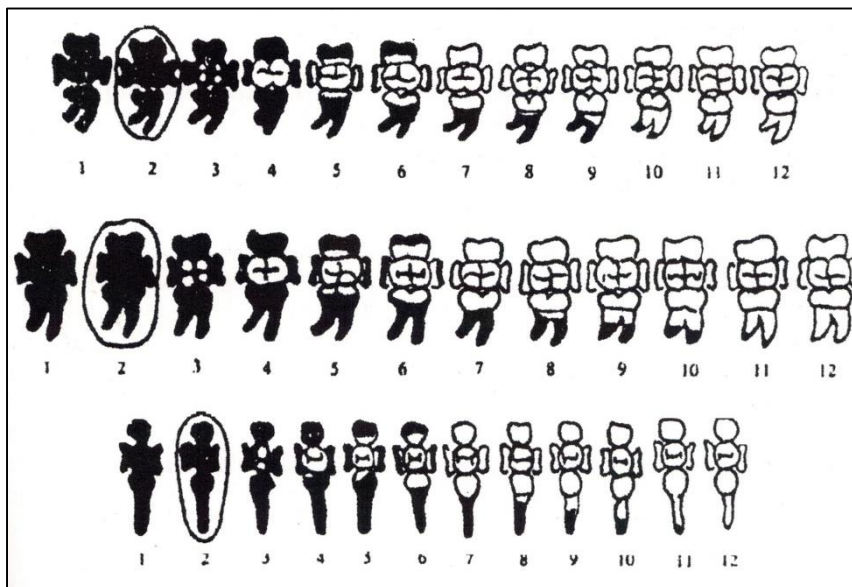


Figura 16 - Stadi radiografici di sviluppo dei denti 4.8, 4.7, 4.5 e relativi punteggi (Portigliatti Barbos M et al., 1982)

Cameriere et al. (2006) hanno pubblicato i risultati derivati da uno studio condotto su immagini radiografiche appartenenti a 455 bambini ed adolescenti italiani di età compresa tra i 5 ed i 15 anni. Lo studio, si basa sulla misurazione degli apici aperti dei denti permanenti in formazione, normalizzata mediante divisione per la lunghezza del dente, e sul conteggio del numero dei denti permanenti con apici chiusi.

Considerando le variabili sesso (g), apertura dell'apice del secondo premolare (X_5), numero dei denti con apici chiusi (N_0) e somma delle aperture degli apici (s), è stata elaborata la seguente formula di regressione lineare:

$$\text{Età dentaria: } 8,791 + 0,375 g + 1,63 X_5 + 0,674 N_0 - 1,034 s - 0,176 s N_0$$

con una R^2 pari a 83,6% ed un range interquartile di 1.18 anni.

Questa formula di regressione lineare è stata successivamente implementata dai risultati di un ulteriore studio, condotto su 2652 soggetti di età compresa tra i 4 ed i 16 anni, provenienti da Croazia, Germania, Kosovo, Italia, Slovenia, Spagna e Regno Unito (*Cameriere et al., 2007*) (Figura 17).

La formula di regressione lineare, definita “The European Formula”, è la seguente:

$$\text{Età dentaria: } 9,063 + 0,386 g + 1,268 X_5 + 0,676 N_0 - 0,913 s - 0,175 s N_0$$

con una R^2 pari a 86,1% ed un range interquartile di 1.22 anni (*Cameriere et al., 2007*).

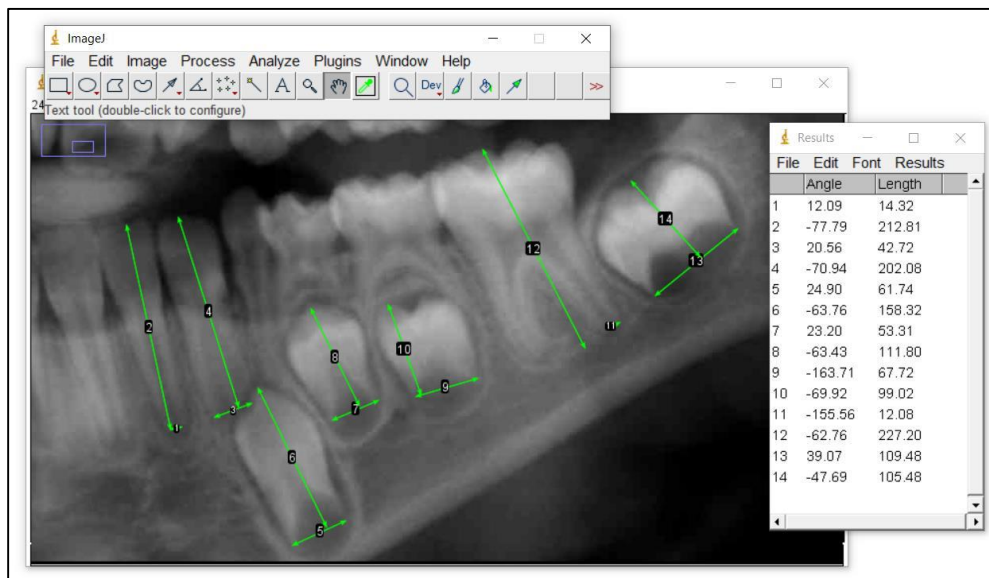


Figura 17 - Esempio di misurazioni di tutti e sette i denti mandibolari per l'applicazione della “formula europea” (*Galic I, 2020*)

Nel 2008, Cameriere et al. hanno elaborato un metodo utile a definire se un soggetto abbia raggiunto o meno il diciottesimo anno di età, basato sulla correlazione tra l'età e le misure normalizzate degli apici aperti e l'altezza del terzo molare o indice di maturità del terzo molare (I_{3M}). Il metodo si basa sull'analisi dello sviluppo del terzo molare su un lato della mandibola. Sono dapprima analizzate le estremità apicali delle radici (mesiale e distale) del terzo molare calcolando la somma delle larghezze degli apici aperti: $A_8 = A_{8 \text{ (mesiale)}} + A_{8 \text{ (distale)}}$; le misurazioni A_8 sono normalizzate dividendo per la lunghezza del dente, L_8 . L'indice di maturità del terzo molare è calcolato secondo la seguente formula (Figura 18 e 19):

$$I_{3M} = \frac{A_{8 \text{ (mesiale)}} + A_{8 \text{ (distale)}}}{L_8}$$

Stabilito un cut-off pari a 0.08, ne deriva che un valore di I_{3M} uguale o superiore a 0.08 indicherebbe che il soggetto è un minore di 18 anni, viceversa un I_{3M} inferiore a 0.08 indica il raggiungimento dell'età adulta. I risultati hanno mostrato una sensibilità del metodo I_{3M} pari all'86.6%, con un intervallo di confidenza del 95%, ed una specificità del 95.7%, con un intervallo di confidenza del 95%. La percentuale di individui correttamente classificati è stata del 91,4%. La probabilità che un soggetto positivo al test (cioè $I_{3M} < 0,08$) avesse 18 anni o più era del 95.6% (Cameriere et al., 2008; De Luca et al, 2014; Balla, 2020)

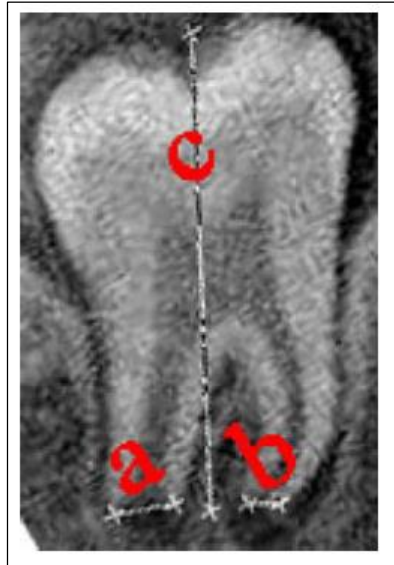


Figura 18 - Esempio di misurazione degli apici (a e b) e della lunghezza del dente (c) (Cameriere *et al*, 2008).

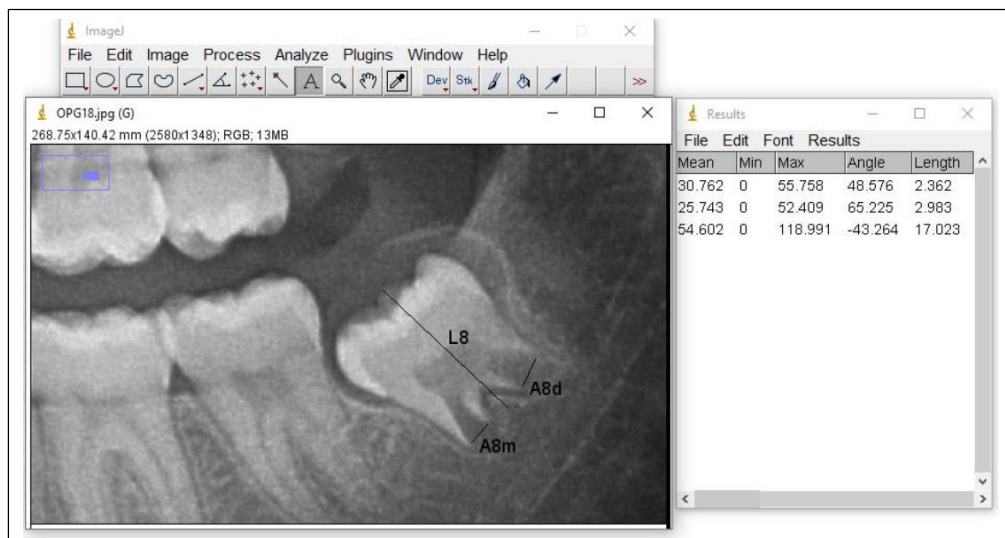


Figura 19 - Esempio di applicazione del “metodo Cameriere”: $I_{3M} = 2.362 + 2.983/17.023$; $I_{3M} = 0.31$ (Balla, 2020).

I denti, al pari dell'intero organismo, vanno incontro, con l'avanzare dell'età, a modificazioni microscopiche e macroscopiche, la cui valutazione risulta ampiamente utilizzata ai fini della determinazione dell'età dentaria negli adulti. Tra le modificazioni maggiormente indicative di un'avanzata età dentaria ed apprezzabili ad un esame clinico e radiografico, si segnalano quelle caratterizzate da usura, con aumento della fragilità dello smalto, la parodontosi, l'apposizione di dentina secondaria, con conseguente riduzione della cavità

pulpare, l'ispessimento per apposizione anulare del cemento e la degenerazione ialina e fibrotica della polpa (*Introna e Dell'Erba, 2000*).

Oltre ai metodi precedentemente trattati relativi allo studio della mineralizzazione e dell'eruzione del terzo molare, utilizzabili per lo più fino ai 25 anni, sono stati implementati altri metodi radiologici utilizzabili per la stima dell'età dentaria nell'adulto vivente che si basano principalmente sulla misura del grado di apposizione di dentina secondaria e sulla relativa riduzione delle dimensioni della cavità pulpare.

Kvaal et al. (1995) analizzando immagini radiografiche di sei elementi dentari mascellari (incisivi centrali e laterali, secondi premolari) ed altrettanti mandibolari (incisivi laterali, canini e primi premolari) si sono focalizzati sulla correlazione tra età e dimensioni della polpa dentaria. Per compensare le differenze di ingrandimento ed angolazione sulle radiografie, sono stati calcolati i seguenti rapporti: lunghezza polpa/lunghezza radice, lunghezza polpa/lunghezza dente, lunghezza dente/lunghezza radice e larghezza polpa/radice a tre diversi livelli. Le analisi statistiche hanno dimostrato una significatività del coefficiente di correlazione tra l'età ed i diversi rapporti, per ogni tipo di dente, ad eccezione del rapporto tra dente e lunghezza della radice.

Cameriere et al. (2004) hanno ricercato e rilevato una correlazione tra l'età cronologica del soggetto ed il rapporto tra area della cavità pulpare ed area totale del secondo molare calcolato mediante software di analisi dell'immagine come Photoshop o Image J.

Successivamente, il medesimo gruppo di ricerca ha poi condotto ulteriori studi utilizzando il canino, che oltre a presentare una cavità pulpare più facilmente definibile, risente meno dell'usura e, pertanto, sono più frequentemente presenti anche nella popolazione anziana (*Cameriere et al., 2004; Cameriere et al., 2006; Cameriere et al., 2007; Cameriere et al., 2009*). Analoghi studi hanno considerato anche i premolari inferiori (*Cameriere et al., 2012*) e gli incisivi centrali e laterali superiori (*Cameriere et al., 2013*).

Infine una revisione della Forensic Anthropology Society of Europe (FASE) sulle criticità correlate alla stima dell'età dentaria ha evidenziato come l'insufficienza di dati in letteratura non consente di esprimere considerazioni

circa l'influenza dei fattori patologici sullo sviluppo dell'apparato stomatognatico. Di conseguenza, i metodi di stima dell'età dentale dovrebbero essere applicati a soggetti esenti da patologie dentali. Inoltre, stante l'importanza della variabilità etnica nella valutazione dello sviluppo dentale, è auspicabile una implementazione dei metodi su popolazioni di diversa provenienza geografica al fine di raggiungere un maggiore adattamento di ogni metodo in base alla popolazione specifica (*Cunha et al., 2009*).

Capitolo III

SCOPO DELLA RICERCA E MATERIALI E METODI

III. 1 Scopo della ricerca

Il quadro normativo italiano ed europeo riassunto in precedenza evidenzia come le procedure socio-sanitarie per la stima dell'età anagrafica nei minori stranieri non accompagnati privi di documenti identificativi ovvero laddove sussistano ragionevoli o fondati dubbi che l'età sia diversa da quella dichiarata, debbano essere fondate sul principio della multidisciplinarietà (cfr. *ex multis*, c.d. "Protocollo Ascone", d.lgs 4 marzo 2014, n. 24, "Protocollo per l'identificazione e per l'accertamento olistico multidisciplinare dell'età dei minori non accompagnati" e l. 7 aprile 2017, n. 47).

L'approccio multidisciplinare dei procedimenti tesi alla stima dell'età anagrafica nei soggetti viventi trova accordo quasi unanime nella letteratura di riferimento, quantunque le modalità con cui questo debba declinarsi appaiono francamente discordanti.

Come ricordato, l' AGFAD raccomanda per la stima dell'età cronologica nel vivente un procedimento multidisciplinare *combinato* (visita medica per il rilievo dei dati antropometrici, dei segni di sviluppo puberale e di patologie correlate alla crescita, un esame radiografico della mano e del polso dell'arto non dominante ovvero un esame radiografico/TC dell'epifisi mediale della clavicola in caso di completamento dello sviluppo scheletrico della mano ed una valutazione clinica ed ortopantomografica dell'odontogenesi) (*Schmeling et al, 2008*). Il ricorso mandatario agli esami di diagnostica per immagini ed alla valutazione dello stadio puberale ha il suo razionale scientifico nell'opportunità di ridurre la distorsione sistemica relativa sia all'applicazione delle singole metodiche che all'accertamento complessivo (*Schmeling, 2017*),

Tuttavia, l'utilizzo di radiazioni ionizzanti per fini giuridico-amministrativi e non diagnostico-terapeutici risulta particolarmente discussa e controversa ed il ricorso agli esami di diagnostica per immagini basati sull'utilizzo di radiazioni ionizzanti, soprattutto nel caso di minori, dovrebbe

ben ponderare il rapporto tra rischi e benefici (*Aynsley-Green et al., 2012*). In tal senso la Direttiva 97/43/Euratom ha raccomandato di prestare particolare attenzione all'esposizione dei bambini alle radiazioni ionizzanti poiché il beneficio dovrebbe essere superiore ai rischi e, in ogni caso, l'esposizione dovrebbe avvenire solo con il consenso dell'individuo dopo adeguata informazione (*Council of the European Union, 1997*).

In relazione alle criticità rilevate in letteratura sull'attendibilità dei metodi impiegati nella stima dell'età anagrafica ed alla disomogenea applicazione dell'approccio multidisciplinare dell'accertamento (*Save the Children, 2020*), si è ritenuto opportuno: (a) effettuare un'analisi del quadro normativo italiano sulla stima dell'età biologica dei MSNA ed una contestuale valutazione comparativa dei protocolli operativi vigenti in alcune Regioni, Province e Comuni italiani; (b) elaborare un approfondimento sugli aspetti etici e deontologici correlati alla stima dell'età espletata tramite le metodiche radiografiche di studio della maturazione del terzo molare (*Demirjian e Goldestein, 1976; Cameriere et al., 2008*).

Venendo alla parte strettamente sperimentale, il progetto di ricerca ha inteso verificare l'affidabilità predittiva del metodo radiografico Bo/Ca (*Cameriere et al., 2006*) per la valutazione dello sviluppo scheletrico della mano e del polso e del metodo I_{3M} (*Cameriere et al., 2008*) per la valutazione dello sviluppo del terzo molare.

Per quanto concerne gli indicatori di maturità dentale, è stata valutata l'affidabilità in ambito forense del metodo c.d. "Cameriere" basato sull'indice di maturità del terzo molare (I_{3M}). A tale scopo è stata condotta una revisione sistematica della letteratura atta a valutare l'accuratezza della tecnica applicata in precedenti studi di popolazione.

In relazione agli indici di maturità scheletrica, l'attività è stata articolata in una duplice fase.

La prima fase ha avuto quale obiettivo la valutazione del metodo "Bo/Ca" per la stima dell'età cronologica in due campioni di subadulti sudafricani bianchi e neri al fine di verificarne l'applicabilità in soggetti di etnia differente.

Successivamente, in relazione al medesimo campione è stata esperita un'analisi comparativa tra il metodo "Bo/Ca" ed il metodo TW2 con particolare attenzione all'etnia ed al sesso quali fattori influenzanti il processo di stima dell'età cronologica.

III. 2 Materiali e metodi

In relazione alla prima linea di ricerca, relativa all'analisi del quadro normativo italiano sulla stima dell'età biologica dei MSNA si è espletata una valutazione comparativa dei protocolli operativi vigenti in alcune Regioni e Comuni italiani.

Nello specifico, sono stati selezionati 12 protocolli operativi, inerenti l'accertamento dell'età in minori non accompagnati, adottati da 4 Regioni (Friuli-Venezia-Giulia, Piemonte, Sardegna e Lazio) 6 Comuni e Province d'Italia (Agrigento, Bari, Caltanissetta, Cremona, Milano, Napoli) e 1 protocollo curato dalla Procura della Repubblica presso il Tribunale dei Minorenni di Ancona.

Quindi, con riferimento al protocollo per l'identificazione e per l'accertamento olistico multidisciplinare dei minori non accompagnati adottato dalla Conferenza delle Regioni e delle Province Autonome nel 2016 ed alla successiva Legge 7.04.2017 n. 47 avente ad oggetto le disposizioni in materia di misure di protezione dei MSNA, di ciascun protocollo sono stati rilevati l'Ente estensore, la classificazione giuridica del documento, la composizione dell'equipe socio-sanitaria preposta alla procedura accertativa, le modalità con la quale è esperita la stima dell'età anagrafica con precipuo riferimento all'esecuzione di un colloquio sociale, di una visita pediatrico-auxologica, di una valutazione neuropsichiatrica infantile e/o psicologica e ad esami di diagnostica per immagini, specificando in quest'ultimo caso la tipologia, nonché la presenza o meno di un traccia standard di riferimento per la conduzione della procedura.

Per i dettagli relativi all'approccio metodologico seguito, si rimanda all'articolo pubblicato dalla Rivista Italiana di Medicina Legale.

L'approfondimento degli aspetti etici e deontologici correlati alla stima dell'età cronologica mediante metodiche radiografiche per la valutazione della maturazione del terzo molare (*Demirjian e Goldstein, 1976; Cameriere et al., 2008*) è stato perseguito attraverso il ricorso ai paradigmi etici del Principialismo (*Beauchamp e Childress, 2001*).

L'utilizzo di esami radiografici per la stima dell'età cronologica di un minore è stato considerato immorale e potenzialmente illegale in relazione al fatto che: (a) gli esami radiografici sono di ausilio nel fornire esclusivamente una stima del grado di maturità fisica raggiunto dalla persona, senza poterne determinare l'età anagrafica; (b) il giudizio finale è il prodotto di un confronto tra una popolazione standard di riferimento e persone appartenenti a gruppi di popolazioni non raffrontabili per differenze etniche, economiche e socio-culturali; (c) la valutazione medica, quantunque attuata con metodiche quantitative, presenta notevoli limiti e margini di errore (*Benso e, Milani, 2013*); (d) l'esposizione alle radiazioni ionizzanti correlata ad un Rx manopolso per la valutazione dello sviluppo scheletrico ovvero ad una ortopantomografia per la valutazione dell'odontogenesi, seppure di minima entità, non giustificherebbe comunque l'adozione delle metodiche radiografiche perché in violazione del principio universalmente accettato della fisica sanitaria "*As Low As Reasonably Achievable*" (ALARA). In base a tale principio, l'esposizione alle radiazioni ionizzanti deve essere mantenuta a livelli più bassi possibili compatibilmente con le condizioni economiche e sociali (*Aynsley-Green et al., 2012*). Secondo il position paper di SCEP, l'esposizione alle radiazioni ionizzanti per la valutazione dell'odontogenesi e per l'analisi dello sviluppo scheletrico dovrebbe essere evitata (*SCEP, 2012*).

Analoga la posizione assunta anche da altre società scientifiche europee - tra cui "British Medical and Dental Associations", "The Royal Colleges of Paediatrics and Child Health and Radiology", "British Society for Paediatric Endocrinology and Diabetes" e "Council of the European Society for Paediatric Endocrinology" - australiane ed asiatiche - tra cui, l'Australasian Pediatric Endocrine Group", il "Royal Australasian College of Physicians", l'"Australian & New Zealand Society for Pediatric Radiology" e il "Royal

Australian and New Zealand College of Radiologist - che si sono dichiarate contrarie all'utilizzo di esami radiografici per finalità non cliniche (*Aynsley-Green et al., 2012; The Australasian Paediatric Endocrine Group et al., 2011*).

Cogliendo le suddette criticità, in altri protocolli di rango internazionale sono state proposte procedure accertativa per la stima dell'età cronologica avente sì un carattere olistico e multidisciplinare, ma basate su un utilizzo graduale di tutte le metodiche, mediche e non mediche, disponibili (*UNICEF, 2013; EASO, 2018*).

In particolare, l'EASO ha prospettato un “cascade approach” basato sull'applicazione graduale e progressivamente invasiva di «non-medical methods» (colloquio sociale e valutazione psicologica), ai quali possa far seguito il ricorso a «medical methods-radiation free» (valutazione clinica dello sviluppo fisico e dell'odontogenesi, RMN) e, solo in ultima istanza, l'impiego di «medical methods-using radiation» (esame radiografico della mano e della clavicola, OPT) (*EASO, 2018*).

Tale approccio equipara le risultanze di un colloquio sociale ovvero di una valutazione psicologica avente ad oggetto lo studio del comportamento e delle capacità cognitive alle valutazioni cliniche dello sviluppo fisico, dentale e scheletrico basate su metodiche mediche quantitative (*Smith, Brownlees, 2011*).

Di converso, le raccomandazioni elaborate dall'AGFAD non suggeriscono nel procedimento di stima dell'età alcuna valutazione cognitiva e/o comportamentale né colloqui psicologici (*Schmeling et al, 2008*).

Su queste premesse, al pari della valutazione bioetica delle cure prestate in ambito biomedico-assistenziale, è stata operata una valutazione etica delle metodiche “diagnostiche” utilizzate ai fini forensi per la stima dell'età anagrafica attraverso i paradigmi etici di beneficenza, autonomia, non maleficenza e giustizia.

Per i dettagli relativi all'approccio metodologico seguito, si rimanda all'articolo pubblicato sull'*Australian Journal of Forensic Sciences* (*De Micco et al., 2020*).

L'analisi delle metodologie per la valutazione dello sviluppo scheletrico e dell'odontogenesi ha mostrato come le tecniche di diagnostica per immagini consentano un'accurata stima dell'età anagrafica.

Per quanto attiene l'accertamento della maturità scheletrica, questa si basa sulla valutazione radiologica dei nuclei di ossificazione, stante la buona correlazione esistente tra età cronologica e maturazione ossea (*Di Vella et al., 2000*). D'altro canto, anche lo studio dell'odontogenesi è considerato uno dei metodi di stima dell'età anagrafica più precisi e ciò in relazione al fatto che l'apparato stomatognatico è un distretto anatomico poco influenzato da fattori esterni (*Liversidge HM et al., 1998*).

Ciò nonostante, diversi fattori possono influenzare l'accuratezza delle metodiche utilizzate per la stima dell'età cronologica nel soggetto vivente, sia essa diretta alla valutazione della maturità scheletrica o dell'odontogenesi. Tra questi fattori figurano quelli genetici, demografici, biologici e ambientali, tra i maggiori in grado di influenzare lo sviluppo sessuale e scheletrico (*Cameron et al., 2010*).

Una delle criticità relative alla stima dell'età anagrafica in ambito forense attiene l'affidabilità dei metodi utilizzati quando questi vengono applicati a persone appartenenti a gruppi etnici differenti ovvero a sottogruppi provenienti da diverse aree geografiche, ma fino ad ora non sono stati esperiti studi su larga scala (*Cunha et al., 2009*).

Per quanto attiene l'attività di ricerca inerente gli indici di maturità dentaria, è stata condotta una revisione sistematica della letteratura atta a valutare l'accuratezza del metodo basato sull'indice di maturità del terzo molare (I_{3M}) in popolazione di diversa etnia.

A tale scopo sono stati preliminarmente consultati i database maggiormente utilizzati e accreditati quali PubMed, Scopus, ISI Web of Science e System for information on Grey Literature in Europe (SIGLE).

Stabiliti i criteri di esclusione (studi che non presentano dati primari, studi comparativi, studi non scritti in lingua inglese), sono stati selezionati 22

articoli, per un totale di 12.286 OPT (5.723 maschi e 6.563 femmine), di età compresa tra i 14 ed i 24 anni d'età, appartenenti a 21 diverse nazionalità.

Per i dettagli relativi all'approccio metodologico seguito, si rimanda all'articolo pubblicato dalla rivista *Medicine, Science and the Law* (*De Micco et al., 2021*).

L'attività di ricerca atta alla verifica dell'affidabilità predittiva del metodo radiografico Bo/Ca per lo sviluppo scheletrico del distretto mano-polso si è articolata in una duplice fase.

Nella prima fase, il metodo "Bo/Ca" per lo sviluppo scheletrico della mano e del polso è stato applicato su un campione sudafricano di 563 subadulti, bianchi e neri (243 maschi e 320 femmine), di età compresa tra 7 e 16 anni. Le radiografie del distretto mano-polso sono state raccolte retrospettivamente da un database appartenente ad una clinica ortodontica privata con sede a Johannesburg (Sud Africa).

Disturbi endocrini e muscolo-scheletrici ed appartenenza ad una etnia mista sono stati considerati criteri di esclusione dallo studio.

Ogni immagine radiografica è stata esaminata utilizzando il software di elaborazione delle immagini "ImageJ". Le misurazioni sono state condotte da tre osservatori con diversi livelli di esperienza e per ogni individuo incluso nello studio è stata calcolata l'età cronologica sottraendo la data di nascita registrata nelle cartelle cliniche dalla data di esecuzione della radiografia.

Per entrambi i campioni sono stati calcolati il coefficiente di correlazione interclasse (ICC), l'errore tecnico di misurazione (TEM), il coefficiente di affidabilità (R) e l'accuratezza mediante l'errore standard di stima (SEE).

Nella seconda fase, è stata effettuata un'analisi comparativa tra il metodo Bo/Ca ed il metodo TW2 su un campione di 224 subadulti sudafricani (110 neri e 114 bianchi, 111 femmine e 113 maschi), di età compresa tra 6 e 16 anni.

Le radiografie, eseguite in condizioni standard, ossia in proiezione postero-anteriore e con le dita leggermente divaricate, sono state raccolte dal

medesimo database utilizzato nella prima fase, ossia una clinica ortodontica privata con sede a Johannesburg (Sud Africa).

I dati anamnestici erano negativi per patologie endocrinologiche o muscolo-scheletriche.

Due esaminatori addestrati nella valutazione dell'età scheletrica, separatamente e indipendentemente, hanno eseguito la determinazione dell'età scheletrica e la stima dell'età cronologica utilizzando il metodo Bo/Ca ed i metodi RUS, CARP e TW2-2. Un terzo ricercatore indipendente ha abbinato i risultati ottenuti dalla valutazione delle radiografie al sesso ed all'età cronologica nota. L'affidabilità inter-osservatore è stata calcolata mediante la correlazione intra-classe (ICC) ed è stata eseguita analisi statistica sui dati ottenuti.

La differenza tra età scheletrica ed età cronologica è stata utilizzata come indicatore di performance di entrambi i metodi. Adottando l'età di 13 anni quale cut-off sono stati calcolati anche la sensibilità e la specificità del metodo Bo/Ca e del metodo TW2.

Per i dettagli relativi all'approccio metodologico seguito, si rimanda agli articoli pubblicati (*Angelakopoulos et al., 2020; De Micco et al., 2021*) sull'*Australian Journal of Forensic Sciences*.

Capitolo IV

RISULTATI

IV.1 Stima dell'età biologica nei minori stranieri non accompagnati. Analisi comparativa di protocolli italiani.

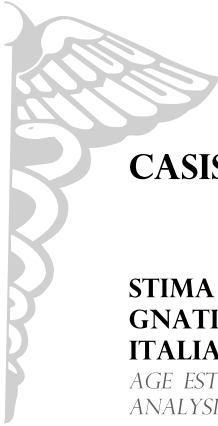
Dall'analisi comparativa dei protocolli esaminati emerge un quadro sorprendentemente disomogeneo sia in relazione alla composizione del team di specialisti cui è richiesto il compito di accertare l'età dei minori stranieri non accompagnati sia con riferimento alle modalità accertative mediante le quali dovrebbe svolgersi la procedura di valutazione dell'età cronologica e talora anche distante dalla previsione normativa (Legge 47/17 e protocollo allegato). Solo i protocolli adottati dalla Regione Piemonte e dal Comune di Milano si sono distinti per aver affidato il coordinamento del team multi-specialistico ad un medico legale *con* competenze antropologico-forensi. Si tratta di un indirizzo solitario rispetto alle altre disposizioni protocollari dove trovano maggiore considerazione la figura del pediatra con competenza auxologica, quella del neuropsichiatra infantile e dello psicologo dell'età evolutiva.

Le controverse metodiche radiologiche sono escluse nei protocolli della Regione Marche e dell'Azienda Sanitaria Provinciale di Caltanissetta, mentre in altri sono indicate come *extrema ratio* solo in caso di persistenti e fondati dubbi sull'età, all'esito delle valutazioni psicologiche/neuropsichiatriche e pediatriche/auxologiche sullo sviluppo staturale-ponderale e sessuale. Tuttavia, le metodiche radiologiche sono tra le poche metodiche attraverso le quali è possibile indicare i range di errore della valutazione, che è espressamente richiesto dalla previsione normativa (L. 47/17 e protocollo allegato) per ciascuna metodica utilizzata.

Avuto riguardo dei diritti fondamentali correlati allo status di minore, la valutazione della maturazione scheletrica mediante indagine radiografica dell'arto non dominante potrebbe costituire un elemento strutturale e non opzionale nella procedura di stima dell'età cronologica cui ricorrere in caso di persistenti dubbi sull'età del richiedente e sempre nell'ottica del principio di gradualità. L'interesse superiore del minore e il beneficio del dubbio sono le

tracce che devono guidare qualsiasi processo di stima dell'età cronologica in ambito forense, nel rispetto dei principi dell'etica medica e della tutela dei diritti umani. Si tratta di procedure (sanitarie e non) dirette alla *stima* dell'età cronologica e non ad un *accertamento* dell'età biologica. La stima dell'età biologica non potrà mai fondarsi unicamente su di un'unica tipologia di esame, richiedendo un approccio multidisciplinare atto a garantire una valutazione, la più affidabile possibile. Si rende necessario, quindi, rendere il percorso accertativo più omogeneo su tutto il territorio nazionale, in cui sia chiaramente identificata la composizione dell'équipe multi-professionale, il ruolo di ciascun specialista con relative modalità operative multi-disciplinari. La valutazione dell'età rappresenta un elemento fondante l'identità di una persona che, se minore impone misure di protezione e tutela speciali.

Lo studio, che di seguito si riporta integralmente, è stato accettato ed è in fase di stampa per la pubblicazione nel terzo fascicolo/anno 2020 della Rivista Italiana di Medicina Legale, organo ufficiale della Società Italiana di Medicina Legale e delle Assicurazioni (SIMLA).



CASISTICA E RICERCA SPERIMENTALE

STIMA DELL'ETÀ NEI MINORI STRANIERI NON ACCOMPAGNATI: ANALISI COMPARATIVA DI ALCUNI PROTOCOLLI ITALIANI

AGE ESTIMATION IN UNACCOMPAINED FOREIGN MINORS: COMPARATIVE ANALYSIS OF SOME ITALIAN PROTOCOLS

Francesco De Micco*, Federica Martino**, Danilo De Angelis***,
Marco Commaudo***, Cristina Cattaneo***, Carlo Pietro Campobasso**

RIASSUNTO

Secondo le normative nazionali ed internazionali, la determinazione dell'età anagrafica assume un'importanza fondamentale, stante le correlazioni esistenti tra minore età ed il riconoscimento di alcuni diritti fondamentali. In caso di fondati dubbi in merito all'età dei rifugiati e richiedenti asilo, il procedimento di stima dell'età dovrebbe essere esperito mediante un approccio olistico e multidisciplinare caratterizzato dal graduale e progressivo utilizzo di metodi non-medici e medici.

Tuttavia, in ambito forense non vi è consenso ed uniformità in merito alle procedure ed alle metodologie da utilizzare e ciò anche in relazione alle controversie sui limiti ed i rischi di errore correlati ad una valutazione effettuata con metodi invasivi e facendo ricorso all'utilizzo di radiazioni ionizzanti per finalità giuridico-amministrative e non diagnostico-terapeutiche.

In relazione a tali criticità ed alle evidenze che suggeriscono un'applicazione disomogenea dell'attuazione della norma che prescrive il carattere multidisciplinare dell'accertamento, con il presente contributo si mira ad intraprendere un'analisi comparativa di alcuni protocolli per la stima dell'età cronologica vigenti sul territorio italiano.

ABSTRACT

According to national and international regulations, age estimation has a fundamental

* Dipartimento di Medicina e Scienze della Salute "Vincenzo Tiberio", Università del Molise, Campobasso, Italia.

** Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università della Campania "Luigi Vanvitelli", Napoli, Italia.

*** Istituto di Medicina Legale, Dipartimento di Scienze Biomediche per la Salute, Università degli Studi di Milano, Italia.

importance for the correlations existing between the minor age and the recognition of some fundamental rights. In case of serious doubts about the age of refugees and asylum seekers, the age estimate process should be performed on a holistic and multidisciplinary approach based on the gradual and progressive use of non-medical and medical methods. However, in the forensic scenario there is no consensus and uniformity regarding the procedures and methodologies to be used and this also in relation to the disputes on the limits and the risks of error related to an assessment carried out with invasive methods and resorting to the use of radiation for legal-administrative and non-diagnostic-therapeutic purposes.

With regard to these critical issues and the evidence that suggests an uneven application of the implementation of the standard that prescribes the multidisciplinary approach of the assessment, this contribution aims to undertake a comparative analysis of some protocols for estimating chronological age in force in Italy.

Parole chiave: stima dell'età nel vivente; minori stranieri non accompagnati; protocolli nazionali; accertamento olistico-multidisciplinare.

Keywords: age estimation in the living; unaccompanied foreign minors; national protocols; holistic and multidisciplinary approach.

SOMMARIO:

1. Introduzione; 2. Evoluzione e Sintesi Normativa; 3. Il Protocollo per l'accertamento olistico multidisciplinare dell'età; 4. Analisi comparativa; 5. Considerazioni conclusive.

1. Introduzione.

La stima dell'età biologica è il presupposto affinché un *minore straniero non accompagnato* (MSNA)¹⁾ [1] possa beneficiare delle misure di protezione alle quali ha diritto in quanto minore, specie se privo di documenti identificativi ufficiali e autentici e laddove vi siano ragionevoli o fondati dubbi che l'età sia diversa da quella dichiarata. Il riconoscimento dello status di MSNA evita l'adozione di provvedimenti lesivi dei diritti del

1) La Legge 7 aprile, n. 47 all'art. 2 definisce il minore straniero non accompagnato « il minore non avente cittadinanza italiana o dell'Unione europea che si trovi per qualsiasi causa nel territorio dello Stato o che è altrimenti sottoposto alla giurisdizione italiana, privo di assistenza e di rappresentanza da parte dei genitori o di altri adulti per lui legalmente responsabili in base alle leggi vigenti nell'ordinamento italiano ».

minore quali il respingimento alla frontiera, il rimpatrio forzato, la detenzione amministrativa, la sistemazione in accoglienza insieme ad adulti.

Al 31 dicembre 2019, in base ai dati diffusi dal Ministero del Lavoro e delle Politiche Sociali il numero di MSNA presenti in Italia è stato pari a 6.054 unità, in prevalenza di sesso maschile (94,8% maschi e 5,2% femmine), di età compresa tra i 16 ed i 17 anni (87,6%), provenienti dall'Europa (il 27,7% è di origine albanese), dall'Africa (46,8%) o dall'Asia (l'8,3% è pakistano e l'8% è bengalese) [2]. Il fenomeno migratorio rappresenta tuttora una realtà emergenziale con innumerevoli problematiche organizzative, gestionali e di salute pubblica tra cui quello della tutela dei minori è uno degli aspetti più complessi. Le stime diffuse dall'Agenzia delle Nazioni Unite per i Rifugiati (UNHCR) indicano nel mondo in circa 138.600 il numero di MSNA e separati correlati al fenomeno delle migrazioni forzate [3] che spesso non dispongono di documenti ufficiali relativi alla loro data di nascita né la conoscono precisamente.

2. Evoluzione e Sintesi Normativa.

In Italia la legge 7 aprile 2017, n. 47, avente ad oggetto le disposizioni in materia di misure di protezione dei MSNA, ha inteso disciplinare in maniera più organica la questione correlata alla identificazione ed alla stima dell'età dei MSNA. La legge 47/17 prevede che, in caso di fondati dubbi sull'età dichiarata dal presunto MSNA, la Procura della Repubblica presso il Tribunale per i minorenni possa disporre esami socio-sanitari volti all'accertamento della stessa. Le procedure di stima dell'età cronologica, effettuate da professionisti esperti e adeguatamente formati, devono qualificarsi per la multidisciplinarietà e la minore invasività possibile, non essendo considerati legittimi gli esami la cui esecuzione possa determinare una compromissione dell'integrità psico-fisica [1].

In passato, le procedure accertative riguardanti la stima dell'età erano disciplinate dall'art. 8 D.P.R. n. 448/88, dall'art. 19 d.lgs. 25/08, dall'art. 4 d.lgs. n. 24/14 e dal relativo D.P.C.M. n. 234/16²⁾ [4-7]. In particolare, il D.P.C.M. 10 novembre 2016, n. 234 avente ad oggetto la determinazione dell'età dei minori accompagnati vittima di

2) Decreto del Presidente della Repubblica 22 settembre 1988, n. 448 "Approvazione delle disposizioni sul processo penale a carico di imputati minorenni": Art. 8 - Accertamento sull'età del minorenne "1. Quando vi è incertezza sulla minore età dell'imputato, il giudice dispone, anche di ufficio, perizia. 2. Qualora, anche dopo la perizia, permangano dubbi sulla minore età, questa è presunta ad ogni effetto. 3. Le disposizioni dei commi 1 e 2 si applicano altresì quando vi è ragione di ritenere che l'imputato sia minore degli anni quattordici".

Decreto Legislativo 28 gennaio 2008, n. 25 "Attuazione della direttiva 2005/85/CE recante norme minime per le procedure applicate negli Stati membri ai fini del riconoscimento e della revoca dello status di rifugiato": Art. 19 - Garanzie per i minori non accompagnati - "2. Se sussistono dubbi in ordine all'età, il minore non accompagnato può in ogni fase della procedura, essere sottoposto, previo consenso del minore stesso o del suo legale rappresentante ad accertamenti medico-sanitari non invasivi al fine di accertarne l'età. Se gli accertamenti effettuati non consentono l'esatta determinazione dell'età si applicano le disposizioni del presente articolo. 3. Il minore deve essere informato della possibilità che la sua età può essere determinata attraverso visita medica, sul tipo di visita e sulle conseguenze della visita ai fini dell'esame della domanda. Il rifiuto, da parte del minore, di sottoporsi alla visita medica, non costituisce motivo di impedimento all'accoglimento della domanda, né all'adozione della decisione".

tratta, all'art. 5 già statuiva una procedura di accertamento dell'età fondata sul principio dell'invasività progressiva, il cui carattere multidisciplinare prevedeva lo svolgimento di un colloquio sociale, una visita pediatrica auxologica ed una valutazione psicologica o neuropsichiatrica, alla presenza, se necessario, di un mediatore culturale o di un interprete [7]. Ove all'esito di ciascuna fase della procedura, cui è richiesto specificare il margine di errore, vi siano elementi certi in ordine alla minore età dell'interessato è impedito proseguire con accertamenti successivi.

In Italia il principio della multidisciplinarietà in questa tipologia di accertamenti era già stato riconosciuto, nel 2009, dal Consiglio Superiore di Sanità in relazione al parere espresso sul protocollo « Approccio multidisciplinare per la determinazione dell'età dei minori non accompagnati » (c.d. "Protocollo Ascone") [8]. A questo protocollo ha fatto poi seguito, il 3 marzo del 2016, la ratifica da parte della Conferenza delle Regioni e delle Province Autonome del nuovo « Protocollo per l'identificazione e per l'accertamento olistico multidisciplinare dell'età dei minori non accompagnati » (POM) [9]. In tale documento si richiamano, in premessa, i principi e le ragioni che sottendono la procedura identificativa e quella per la stima dell'età cronologica. Si descrive in dettaglio la composizione e le modalità operative dell'équipe multidisciplinare preposta all'accertamento dell'età del minore, da svolgersi presso i Servizi Sanitari Regionali, identificati quali luoghi d'elezione per lo svolgimento delle procedure accertative.

Si tratta di procedure che non si discostano dai più recenti protocolli di livello internazionale in quanto ne recepiscono per larga parte le raccomandazioni ed i presupposti. Queste, infatti, nel processo valutativo di stima dell'età, riconoscono pari dignità e valore ai metodi non medici rispetto ai più tradizionali e consolidati metodi medici. Si tende, per il vero, a privilegiare i metodi meno invasivi, seppur alquanto soggettivi (quali il colloquio sociale o la valutazione psicologica) rispetto a quelli più intrusivi (quali una visita medica ed un esame radiografico), sulla base di un inderogabile principio etico che deve indirizzare tali procedure accertative, rappresentato dall'interesse superiore per il minore. Quello del *best interest of the child* (BIC) è un principio insuperabile sancito dalla Convenzione delle Nazioni Unite sui Diritti del Minore [10] e ripreso esplicitamente sia dal POM [9] sia dalla Legge 47/17 [1]. In questa prospettiva sembra riproporsi l'atavica e quanto mai sanata difficoltà comunicativa tra scienze biologiche, fondate su regole predittive di natura statistico-probabilistica, e scienze giuridiche fondate sulla ragionevole certezza del diritto.

Decreto Legislativo 4 marzo 2014, n. 24 "Attuazione della direttiva 2011/36/UE, relativa alla prevenzione e alla repressione della tratta di esseri umani e alla protezione delle vittime, che sostituisce la decisione quadro 2002/629/GAI": Art. 4 - Minori non accompagnati vittime di tratta "... nei casi in cui sussistano fondati dubbi sulla minore età della vittima e l'età non sia accertabile da documenti identificativi, nel rispetto del superiore interesse del minore, si procede alla determinazione dell'età dei minori non accompagnati vittime di tratta anche attraverso una procedura multidisciplinare di determinazione dell'età, condotta da personale specializzato e secondo procedure appropriate che tengano conto anche delle specificità relative all'origine etnica e culturale del minore ...".

Infatti, per quanto riguarda i tradizionali metodici medici, sin dal 2008 lo “Study Group on Forensic Age Diagnostic” (AGFAD), un gruppo di studio multidisciplinare sull’accertamento dell’età (costituito da esperti internazionali del settore), raccomandava l’adozione di un approccio medico multi-specialistico *combinato* fondato su: 1) un esame obiettivo pediatrico per il rilievo dei principali dati antropometrici (peso, altezza, BMI, circonferenza cranica), dei segni di sviluppo puberale e di eventuali patologie dell’accrescimento; 2) un esame radiografico della mano sinistra per l’accertamento della maturità scheletrica o un esame radiografico/TC dell’epifisi mediale della clavicola in caso di completamento dello sviluppo osseo della mano; 3) un esame odontoiatrico comprensivo di ortopantomografia (OPT) per una valutazione dell’odontogenesi e della maturazione degli elementi dentari [11]. Si tratta di metodiche cliniche che, pur soffrendo di una certa imprecisione, si sono consolidate nella pratica medica, perfezionandosi gradualmente con l’obiettivo precipuo di valutare in individui di età cronologica nota eventuali ritardi o anomalie di crescita ovvero l’eventuale distanziamento del grado di maturità espresso (c.d. età biologica) dall’età anagrafica/cronologica (c.d. età legale). Le stesse metodiche hanno trovato, però, larga applicazione anche a scopi forensi per la stima dell’età legale in individui la cui data di nascita è ignota o non adeguatamente documentata. Questa diversa finalità applicativa ha evidenziato quanto fallaci possano essere le valutazioni (o meglio stime) desunte dai metodi medici, non disponendo di un dato certo di partenza, rappresentato dalla data di nascita degli individui esaminati. E questo nonostante gli innumerevoli sforzi fatti nei diversi settori specialistici (odontoiatria, radiologia, auxologia) per ridurre i margini di errore della stima dell’età sessuale, di quella dentaria come di quella scheletrica, fortemente influenzati dal sesso, dalla provenienza geografica o etnia, dalla dieta, dalla condizione socio-economica, da eventuali disordini ormonali o altre patologie metaboliche, etc. [12]. Inoltre, le indagini mediche richiedono spesso l’ausilio di esami radiologici (OPT, radiografia della mano) che, pur espressione della evidenza oggettiva delle stime formulate dagli esperti, appaiono in contrasto con il *best interest of the child* (BIC) e i diritti del minore riconosciuti da normative internazionali.

In tal senso si è espresso chiaramente sin dal 2012 il *position paper* di Separated Children in Europe Programme (SCEP) [13] secondo cui, in assenza di una reale indicazione medica, gli accertamenti sull’età cronologica rappresentano una forma di violazione del diritto internazionale: non solo quelli radiologici contraddistinti dal rischio correlato ad una ingiustificata esposizione a radiazioni ionizzanti ma anche la stessa visita medica diretta alla valutazione dello stato puberale. Infatti, la visita medica per la valutazione dello stadio puberale, possibile solo previo denudamento del minore (con messa allo scoperto dei genitali per consentirne un loro esame diretto ed una eventuale misurazione), è spesso vissuta come invasiva ed intrusiva dal minore, in relazione al differente background culturale, religioso ed etnico [13]. Siffatte indagini non trovano alcuna giustificazione etica se non in una esigenza strettamente clinica diretta a valutare lo stato

di salute del minore. Tuttavia è il caso di ricordare come, per ammissione dei minori stessi, spesso la visita per definire l'età è forse il primo ed unico atto clinico cui sono sottoposti dalla nascita e, più volte, ai sanitari incaricati gli stessi minori hanno avuto modo di manifestare tutto il loro apprezzamento per tali accertamenti. In ogni caso, nelle indagini volte all'accertamento dell'età biologica, è opportuno adottare rigorose misure di tutela del diritto dei minori secondo il principio del BIC [13]. A fronte di tali rilievi sono stati sviluppati a livello internazionale dei protocolli [14, 15] nei quali si riconosce il valore prevalente di un approccio olistico e multidisciplinare basato su un utilizzo graduale di tutte le metodiche disponibili, mediche e non mediche più coerente con la tutela dei diritti del minore ed il suo migliore interesse.

In particolare, l'European Asylum Support Office (EASO) ha prospettato un "cascade approach" basato sull'applicazione graduale e progressivamente invasiva di « non-medical methods » (rappresentati da un colloquio sociale e da una valutazione psicologica), ai quali possa far seguito solo in una seconda fase il ricorso a « medical methods-radiation free » rappresentati da una valutazione clinica dello sviluppo fisico e dell'odontogenesi (ma senza l'ausilio di esami radiografici ad eccezione delle indagini RMN, in considerazione della mancata emissione di radiazioni ionizzanti che contraddistingue detta strumentazione). Solo in ultima istanza e come ultima opzione possibile è ammesso l'impiego di « medical methods-using radiation » quali l'OPT e gli esami radiografici della mano e/o della clavicola [15].

Nella stima dell'età minore, dare uguale peso e valore all'esito delle valutazioni non mediche, alquanto soggettive ed incerte, rispetto a quelle mediche maggiormente consolidate ed oggettive non deve sorprendere. Tale apparente anomalia riflette l'eterogeneità, se non addirittura la contraddittorietà, del quadro normativo e scientifico che ha prevalso a livello internazionale almeno fino al 2012 (epoca in cui fu licenziato il primo documento SCEP finanziato dalla Commissione Europea e dal Commissariato per i Rifugiati delle Nazioni Unite). A questo primo documento hanno poi fatto seguito nel 2013 il documento UNICEF e quello EASO, recentemente aggiornato nel 2018. In questi documenti si ribadisce la necessità di implementazione da parte di tutti i Paesi di procedure accertative che non prevarichino i diritti dei minori (BIC) cui deve essere richiesto preliminarmente un consenso e l'assegnazione di un tutore o garante degli stessi in grado di accompagnare il MSNA in tutte le diverse fasi accertative. Sono ribaditi i limiti delle metodiche mediche ed il loro carattere invasivo specie dove si fa ricorso a indagini radiologiche, non affatto giustificate dalle sole finalità giuridico-amministrative piuttosto che da quelle diagnostico-terapeutiche [16, 17]. Il ricorso agli esami radiografici è considerato approssimativo ed incerto giacché lo stesso è in grado di fornire esclusivamente una stima del grado di maturità fisica (scheletrica o dentaria) senza poterne determinare a posteriori con certezza l'età biologica. L'indagine radiografica è altresì considerata immorale e potenzialmente illegale in violazione del principio "*As Low As Reasonably*

Achievable” (ALARA), secondo cui l’esposizione alle radiazioni ionizzanti, specie in età minore, deve essere la più bassa possibile [16, 17]. Gli esami radiografici quali un OPT o un esame Rx del polso esporrebbero i minori ad un rischio ingiustificato dalla procedura legale secondo quanto già prospettato dal Royal College of Radiologists nel 1996 [18].

Queste direttive e raccomandazioni sono state recepite dalla Conferenza delle Regioni e delle Province Autonome come disciplinate nel « Protocollo per l’identificazione e per l’accertamento olistico multidisciplinare dell’età dei minori non accompagnati » (POM) [9], e ribadite nella Legge 7 aprile 2017, n. 47 avente ad oggetto le disposizioni in materia di misure di protezione dei MSNA [1]. Le stesse hanno altresì trovato una loro ulteriore conferma nella recente sentenza della Corte di Cassazione di marzo 2020 (n. 5936/2020) [19] nella quale si è inteso ribadire la validità di un approccio olistico multidisciplinare e multidimensionale (comprensivo di colloquio sociale, indagine psicologica o neuropsichiatrica infantile e visita pediatrico/auxologica) che preveda una gradualità nella esecuzione dei diversi metodi (non medici in una prima fase seguiti, poi, da quelli medici) ognuno dei quali è tenuto ad esprimere il proprio margine di errore. E questo al fine di garantire nella procedura accertativa un ultimo se non più importante principio etico di tutela del minore che è quello del beneficio del dubbio. Ovvero in caso di incertezza sull’età occorre andare in favore del minore secondo quello che è un parametro di giudizio consolidato nella giurisprudenza di diritto (*in dubio pro minore*).

3. Il Protocollo per l’accertamento olistico multidisciplinare dell’età.

Il POM ratificato nel marzo 2016 dalla Conferenza delle Regioni e delle Province autonome (9), analogamente a quanto indicato dal DPCM del 10 novembre 2016 n. 234 per i minori vittima di tratta, rappresentano la traccia di riferimento che, nel territorio italiano, indirizza l’accertamento dell’età nei MSNA secondo un approccio olistico, multidisciplinare e multidimensionale. Senza tali caratteristiche la procedura di accertamento dell’età nei MSNA non è valida e non assume valore legale e, quindi, non può essere considerata lecita per quanto ribadito anche dalla Corte di Cassazione nel marzo 2020 [19].

Per quanto stabilito dal POM, l’accertamento dell’età deve essere condotto da una équipe multidisciplinare di professionisti appartenenti al Servizio Sanitario Regionale composta da un assistente sociale, un pediatra con specifiche competenze auxologiche, uno psicologo dell’età evolutiva e/o un neuropsichiatra infantile ed un mediatore interculturale, tra i quali è poi individuato un Case Manager con compiti organizzativi e di coordinamento dell’intero procedimento.

La modalità operativa con la quale si articola la procedura per l’accertamento dell’età prevede inizialmente un colloquio sociale atto a vagliare la storia e la biografia personale, familiare e sociale del presunto minore, cui segue una indagine pediatrico-auxologica ed

una valutazione neuropsichiatrica e/o psicologica. Questi ultimi accertamenti, però, integrano delle procedure mediche la cui applicazione deve seguire il principio di gradualità diretta a privilegiare quei metodi meno intrusivi per il minore, relegando appunto quelli più invasivi (tra cui gli esami radiologici) quale ultima opzione utile, ove necessaria. Secondo questo approccio progressivamente invasivo, ne consegue che se all'esito del colloquio sociale dovessero emergere elementi di certezza circa l'età minore del richiedente non sarà necessario procedere con gli accertamenti sanitari così come poi indicato nel DPCM 234/16. Questi ultimi potranno avere luogo solo se le metodiche non mediche risultino essere dubbie e inconcludenti.

Ebbene nel colloquio sociale che deve precedere qualunque procedura accertativa si richiede che lo stesso si svolga in presenza di operatori del Servizio Sanitario e del mediatore/interprete tenendo presente il sesso del presunto MSNA. Per quanto riportato nel documento dal titolo « Traccia per la conduzione della procedura olistico multidisciplinare » allegata al POM, il colloquio sociale ha anche e, soprattutto, la finalità di informare il presunto MSNA, con linguaggio comprensibile, delle modalità con cui si svolgerà l'accertamento multidisciplinare, dei benefici correlati al programma di protezione (qualora richiesto) e delle conseguenze correlate ad un eventuale rifiuto a sottoporsi alla valutazione sanitaria. Il libero consenso ad accedere al colloquio sociale (come anche alle fasi successive dell'accertamento), da parte del presunto MSNA, è la premessa per un regolare e legittimo svolgimento dello stesso. Una volta autorizzato, quindi, il colloquio segue un percorso indirizzato ad acquisire informazioni direttamente dal presunto MSNA relative alla sua vita familiare, a quella scolastica o lavorativa, svolta nel Paese di origine, nonché alle ragioni che lo hanno spinto alla migrazione ed alle modalità e circostanze del viaggio trascorso (tempi di permanenza, eventuale pagamento di quote in denaro, violenze fisiche patite o torture, etc.). È altresì prevista l'acquisizione di informazioni relative alla personale esperienza sessuale (volontaria o costretta) del MSNA da effettuarsi in presenza di uno psicologo e/o un neuropsichiatra infantile al fine di evidenziarne la libera scelta (v. matrimoni precoci), le eventuali violenze subite, lo sfruttamento della prostituzione minorile, etc.

La visita medica-auxologica rappresenta una seconda fase dell'accertamento. Per quanto riportato nel documento allegato al POM, la visita medica-auxologica ha lo scopo di valutare se l'età dichiarata sia compatibile con il suo aspetto fisico e la maturazione puberale. Anche per questo tipo di accertamento è richiesta la presenza di un mediatore culturale e di un interprete nel rispetto della riservatezza e delle convinzioni culturali e religiose del presunto MSNA. L'esame obiettivo, infatti, è preceduto da una completa raccolta anamnestica, tesa a valutare eventuali patologie e/o condizioni parafisiologiche che possono aver accelerato o ritardato la crescita, la pubertà e la maturazione ossea in modo da alterarne l'aspetto fisico. Nel corso della visita medica generale sono misurati i principali parametri auxometrici (altezza, peso, BMI, circonferenza cranica) da porre in

confronto con gli standard di crescita della popolazione generale curati dalla WHO o, in alternativa, con le scale di sviluppo fisico di Tanner [20, 21] (desunte dallo studio di una popolazione inglese) o di Cacciari [22] (desunte dallo studio di una popolazione italiana). È altresì richiesta la stadiazione puberale dei caratteri sessuali primari (solo nel maschio con la misurazione del volume testicolare con orchidometro di Prader) e secondari (nella femmina le dimensioni della ghiandola mammaria, per entrambi i generi la distribuzione della peluria corporea, pubica e ascellare). Tra gli eventuali approfondimenti è prevista l'ecografia pelvica per la valutazione dello sviluppo ovarico e la radiografia della mano per la cui lettura comparativa è consigliato il metodo di Greulich & Pyle [23] e il cosiddetto TW3 (Tanner & Whitehouse 3) [24]. Si tratta di accertamenti (questi ultimi radiografici) subordinati al fatto che l'esito del colloquio sociale, della valutazione pediatrico-auxologica e neuropsicologica sia alquanto incerto e sollevi ancora forti dubbi sull'età dichiarata. Solo in questi casi gli stessi potrebbero essere sufficientemente motivati e legittimati.

Nonostante ciò sorprende che tra gli approfondimenti non sia espressamente prevista una ortopantomografia per lo studio della maturazione degli elementi dentali che rappresenta uno degli indicatori più affidabili dell'età biologica specie nella fase sub-adulta, verso i 18 anni di età, con la mineralizzazione degli ottavi inferiori. Non risulta neanche chiaramente specificato l'uso di un esame radiografico dell'epifisi mediale della clavicola, altro indicatore di maturità scheletrica particolarmente affidabile nell'età adulta e appunto raccomandato dall'AGFAD in caso di completamento dello sviluppo osseo a livello delle ossa della mano [11]. Tuttavia, deve ritenersi che questi ulteriori accertamenti, sebbene non esplicitamente indicati, non possano essere aprioristicamente esclusi nel corso di un approccio olistico multidisciplinare prevedendo il POM che l'indagine pediatrico-auxologica possa essere appunto completata da « altri eventuali esami ». Per quanto indicato dal POM il parere conclusivo di questa parte medica della procedura accertativa deve essere sottoscritto da un pediatra-auxologo avendo cura di riportare i margini di errore della valutazione complessiva così come poi anche ribadito dal DPCM del 10 novembre 2016, n. 234.

L'indagine pediatrico-auxologica, però, non rappresenta l'unico metodo richiesto per addivenire ad una stima dell'età. Seguendo l'approccio olistico multidisciplinare, questa procedura accertativa deve essere integrata da una terza indagine eseguita da uno psicologo dell'età evolutiva e/o un neuropsichiatra infantile cui è richiesta una valutazione sulla capacità cognitiva generale, sulla capacità di comprendere il linguaggio verbale e i significati connessi, sulla capacità di discriminare la realtà dalla fantasia, l'assurdo dal plausibile, sulla capacità discriminatoria e il livello di suggestionabilità. A tale valutazione sulla idoneità generica del presunto MSNA a comprendere, ricordare e relazionarsi si aggiunge anche una valutazione sulla idoneità specifica che, tuttavia, non comporta alcuna misurazione o stima dell'età sebbene sia previsto l'impiego di test proiettivi, inclusi i disegni spontanei, test di livello e questionari di assessment tra cui quello specificata-

mente raccomandato è l'Adjective Check List (ACL). L'ACL è un test che prevede l'uso di una lista di aggettivi per la misura della personalità suddivisa in una grigliatura di 37 scale che coprono 5 diverse aree della personalità [25]. Come detto a questo tipo di indagine psicologica/neuropsichiatrica non è espressamente richiesta una stima dell'età. Questa deve essere, infatti, il risultato di una valutazione olistica multidisciplinare che deve integrare l'esito del colloquio sociale, della visita pediatrico-auxologica e di quella psicologica/neuropsichiatrica specificandone il margine di errore di ciascuno di essi e quello complessivo. Qualora il margine di errore comprenda sia la minore che la maggiore età, allora dovrà prevedersi l'applicazione del beneficio del dubbio in favore del minore secondo quanto previsto dalle raccomandazioni internazionali EASO, UNICEF, SCEP [13-15].

4. Analisi comparativa.

La Conferenza Stato Regioni ha inteso indicare con il POM un modello di riferimento per l'accertamento dell'età nei MSNA la cui validità è stata di recente affermata dalla Corte di Cassazione di marzo 2020. L'approccio olistico multidisciplinare declinato dal POM trova in questa sentenza pieno riconoscimento legale mettendo a rischio di legittimità tutte le procedure accertative che da questo approccio integrato si discostano. Si è ritenuto opportuno, così, operare una analisi comparativa del POM con i diversi protocolli operativi adottati dalle diverse Regioni e dai Comuni Italiani. Da una ricerca in rete è stato possibile verificare l'esistenza di ben 4 diversi protocolli Regionali (Friuli Venezia Giulia, Lazio, Piemonte e Sardegna), 6 documenti di intesa siglati a livello provinciale e comunale con Prefetture ed Uffici Giudiziari (Ancona, Bari, Napoli, Milano e Caltanissetta, quest'ultima siglata con l'Azienda Sanitaria Provinciale) e 1 protocollo curato dalla Procura della Repubblica presso il Tribunale dei Minorenni di Ancona [27-36]. La comparazione degli undici protocolli è illustrata sinteticamente in Tabella 1. Diverse sono le istituzioni coinvolte a vario titolo in questi documenti protocollari come riassunti in Tabella 2.

Sorprende la eterogeneità dei protocolli esaminati che talora si discostano significativamente dall'approccio olistico multidisciplinare introdotto dalle raccomandazioni internazionali, declinato dal POM e legittimato recentemente dalla Sentenza della Corte di Cassazione. In considerazione della portata innovativa nella pratica clinica introdotta dalle raccomandazioni nazionali ed internazionali nonché dalla recentissima pronuncia giurisprudenziale, si illustra di seguito nel dettaglio l'esito di questa analisi comparativa dei protocolli operativi attualmente adottati sul territorio italiano per la stima dell'età cronologica. Al riguardo si è inteso considerare, in particolare, gli aspetti differenziali che riguardano la composizione del team multidisciplinare chiamato ad espletare le procedure accertative, quelli relativi a ciascuna delle tre principali fasi di cui si compone

l'approccio olistico multidisciplinare (colloquio sociale, visita pediatrico-auxologica, indagine psicologico/neuropsichiatrica) e i requisiti richiesti nella relazione finale.

4.1. Composizione dell'equipe multidisciplinare.

La composizione dell'equipe multidisciplinare generalmente riproduce in tutti i protocolli esaminati le indicazioni del POM ma con alcune divergenze, talora anche significative.

Il team di specialisti dovrebbe prevedere la partecipazione di un assistente sociale, un pediatra con competenze auxologiche, uno psicologo dell'età evolutiva e/o neuropsichiatra infantile ed un mediatore interculturale o interprete. Detta multidisciplinarietà è soddisfatta dai protocolli siglati dalle Regioni Lazio e Friuli Venezia Giulia [26, 27] e dalle Province di Agrigento e di Caltanissetta [31, 33]. Tuttavia, diversamente dal POM la Regione Lazio prevede che il pediatra abbia nel proprio bagaglio culturale *preferibilmente*, e non obbligatoriamente (« con »), competenze auxologiche [27]. La Regione Sardegna attribuisce ad un dirigente medico esperto in medicina delle migrazioni il ruolo di *Case Manager* e, quindi, la responsabilità dell'intero procedimento e della valutazione olistica conclusiva (30) Il coinvolgimento dello specialista in medicina legale non è esplicitamente indicato dal POM e dalle raccomandazioni internazionali, seppure spesso, in diverse realtà geografiche (internazionali e locali), questi risulti essere spesso incaricato per tali accertamenti sia dall'Autorità Giudiziaria sia dalle Forze dell'Ordine per specifica esperienza e competenza. Ebbene, specifiche competenze sia operative che di coordinamento del team multidisciplinare risultano assegnate al medico legale solo nei protocolli della Regione Piemonte e del Comune di Milano dove figurano noti gruppi di studio che si sono distinti a livello internazionale nel settore dell'identificazione personale e dell'accertamento dell'età.

La Regione Piemonte, in particolare, disciplina tre differenti percorsi per l'accertamento dell'età, segnatamente per i MSNA *ex l.* 47/2017, per i minori vittima di tratta *ex* DPCM 234/2016 e per esigenze di Giustizia, in relazione ai quali è diversamente modulata la configurazione dell'equipe multidisciplinare [29].

Nel percorso piemontese per la stima dell'età cronologica per i MSNA *ex l.* 47/2017, il medico legale effettua la visita del richiedente rilevandone i parametri antropometrici e la formula dentaria. Al medico legale è concessa la facoltà di richiedere l'esame radiografico della mano sinistra ed, infine, è tenuto a redigere il referto conclusivo della procedura. In un siffatto contesto, diversamente da quanto ravvisabile in altri protocolli nonché nel POM, il pediatra auxologo assume un ruolo esclusivamente consulenziale e non strutturale nell'ambito del procedimento accertativo.

Nel caso dell'accertamento disposto per minori vittime di tratta *ex* DPCM 234/2016, l'equipe indicata nel protocollo della Regione Piemonte assume la configurazione mul-

tidisciplinare individuata dal POM, con l'apporto dello specialista in medicina legale cui spetta il ruolo di *Case Manager* e di redazione della relazione conclusiva. Al medico legale è data anche facoltà di richiedere gli accertamenti integrativi di diagnostica per immagini ove ne ravvisasse la necessità all'esito degli accertamenti socio-sanitari.

Infine, sempre per la Regione Piemonte, anche in caso di accertamenti su MSNA per esigenze di Giustizia il medico legale assume un ruolo precipuo: questi, compatibilmente con il carattere di urgenza ed indifferibilità richiesto dall'accertamento, si avvale di metodiche diagnostiche e di consulenze specialistiche.

Nel Comune di Milano il protocollo per l'accertamento dell'età dei MSNA non definisce chiaramente la composizione dell'equipe multidisciplinare, pur rilevando che la procedura accertativa deve essere svolta secondo « un approccio multidisciplinare da professionisti adeguatamente formati » (35) Diversamente dal POM ove l'indagine medico-auxologica è esperita da un pediatra con competenze auxologiche, nel protocollo del Comune di Milano si indica come la visita debba essere effettuata da un esperto « *preferibilmente medico-legale o pediatra o auxologo* ».

Pertanto, pur non essendo chiaramente definito, al pari di quanto indicato dalla Regione Piemonte (v. percorso accertativo per MSNA *ex l.* 47/2017), sembrerebbe che anche il protocollo meneghino conferisca « *preferibilmente* » al medico legale l'espletamento dell'indagine medica ivi compresa la rilevazione dei parametri auxometrici principali e la valutazione del grado di maturazione puberale. Recentemente a Milano il quadro si sta ulteriormente definendo grazie all'apertura, dalla fine del 2019, del "Centro Comunale Minori Stranieri Non Accompagnati di via Zendini" che ospita MSNA come prima tappa. Il Centro è costituito da un nucleo di educatori, assistenti sociali, mediatori, psicologi, medici legali, antropologi ed odontoiatri operativi nella sede, in stretta collaborazione con la Procura dei Minorenni di Milano. In questa sede il medico legale è la figura di riferimento per la valutazione clinica dell'età, insieme all'odontoiatra ed all'antropologo forense. La prima intervista è comunque effettuata da un assistente sociale e da uno psicologo.

Oltremodo interessante anche la composizione dell'equipe multidisciplinare fissata dal protocollo elaborato dall'Azienda Socio Sanitaria Territoriale (ASST) di Cremona, dove si prevede il coinvolgimento del pediatra, dell'odontoiatria ma anche del medico legale (che risulta essere ultimo firmatario della relazione e del radiologo con l'ausilio di un tecnico specialista in radiologia medica (TSRM). Assolutamente non prevista la figura del neuropsichiatra infantile e/o dello psicologo dell'età evolutiva [34]. Il compito del medico radiologo si estrinseca non solo nell'esecuzione dell'esame radiografico del polso e della mano e dell'eventuale OPT, ma anche nella valutazione della maturazione scheletrica con la stesura del relativo referto. Di converso, la valutazione dell'eventuale OPT è a cura dell'odontoiatra cui spetta anche la valutazione clinica dell'odontogenesi, su cui ha modo di intervenire anche lo specialista pediatra.

Al pari del protocollo di Cremona, anche la Convenzione stipulata dal Comune di Bari richiede la presenza di un radiologo nell'ambito dell'equipe multidisciplinare, mentre non si fa alcun cenno al neuropsichiatria infantile né alle specifiche competenze dello psicologo [32].

Le Linee Guida stilate dalla Procura della Repubblica presso il Tribunale per i Minorenni di Ancona, nelle more di una formale costituzione di equipe multidisciplinari da parte della Regione Marche, non indicano le professionalità da coinvolgere nel processo di stima dell'età cronologica [28].

Infine, una considerazione a parte merita il Protocollo del Comune di Napoli ratificato nel 2013, ossia in epoca precedente al DPCM 234/16, al POM quanto alla promulgazione della l. 47/2017. Il Protocollo del Comune di Napoli fa riferimento al c.d. "Protocollo Ascone" e prevede esplicitamente il coinvolgimento solo del pediatra e di un traduttore/mediatore culturale. Tuttavia, l'intervento di ulteriori e diverse professionalità appare implicito nella statuita necessità di espletare gli accertamenti presso strutture pubbliche dotate di competenze mediche, radiologiche, pediatriche, neuropsichiatriche e psicologiche [36].

4.2. Colloquio sociale.

Analogamente al POM, in molti dei protocolli esaminati [27, 28, 30, 31, 33, 36] si prevede come la prima fase della procedura accertativa sia rappresentata da un colloquio sociale svolto da un assistente sociale e strutturato con la finalità di favorire la migliore comprensione possibile della storia e della biografia personale, familiare e sociale del presunto minore.

Tuttavia, quantunque ordinariamente richiesto *ex* DPCM 234/2016 ed *ex* l. 47/2017, l'esecuzione del colloquio sociale può essere disposto a discrezione del medico responsabile della procedura nel protocollo del Comune di Milano (35) In altri protocolli, come quello della Regione Piemonte è subordinato all'urgenza ed all'indifferibilità degli accertamenti esperiti per esigenze di Giustizia [29]. In quello dell'ASST di Cremona il colloquio sociale non è affatto previsto nel corso dell'intera procedura accertativa [34].

In FVG, l'intervento del neuropsichiatra infantile e/o dello psicologo dell'età evolutiva attribuisce al colloquio sociale una chiara valenza socio-sanitaria. Infatti, integrando ed ampliando le finalità proprie del colloquio sociale delineate dal POM, ossia la comprensione della biografia personale, familiare e sociale del presunto minore, nel protocollo della Regione FVG il colloquio socio-sanitario trascende le finalità socio-anamnestiche e « mira principalmente alla valutazione della maturazione psicologica e della sua coerenza con l'età dichiarata », proprio in relazione al contributo dei professionisti della salute mentale [26].

Analogamente, anche nell'ambito della Convenzione stipulata dal Comune di Bari, il colloquio sociale assume un pregnante carattere sanitario dovendo lo stesso rilevare l'eventuale sussistenza « di problematiche psico-patologiche che possano interferire con la valutazione clinica delle capacità cognitive » nonché la « presenza di maturità psicologica congrua con l'età presunta ». Coerentemente con siffatte finalità, lo svolgimento del colloquio sociale è rimesso ad uno psicologo o a un dirigente medico della neuropsichiatria dell'infanzia e dell'adolescenza, pur non rientrando quest'ultimo ufficialmente nel team multidisciplinare composto da « pediatri, psicologi, assistenti sociali e radiologi » [32].

4.3. Visita pediatrico-auxologica.

In analogia con le raccomandazioni riportate nel POM, la gran parte dei protocolli esaminati prevede espressamente che la visita medica sia esperita da un pediatra. La finalità è quella di acquisire dati utili sull'età del presunto minore tramite la raccolta di elementi anamnestici e fisici tra cui i classici rilievi antropometrici (altezza, peso, BMI) ed eventualmente, seguendo il criterio dell'invasività progressiva, anche mediante la valutazione dello sviluppo puberale [26, 27, 30-33, 36].

Taluni protocolli individuano, in maniera congruente a quanto indicato dal POM, anche le tabelle antropometriche cui fare riferimento per la comparazione dei parametri auxometrici rilevati. Tra queste sono espressamente indicate: le scale di sviluppo fisico di Tanner [20-21] nei protocolli delle Regioni Piemonte e Sardegna [29-30], delle Aziende Sanitarie di Agrigento (31) e Cremona (34) e del Comune di Napoli [36]; le tabelle di crescita elaborate dall'Organizzazione Mondiale della Sanità - OMS (consultabili direttamente dal sito dell'OMS all'indirizzo <http://www.who.int/childgrowth/en/index.html>) nel protocollo della Regione Sardegna [30] ed in quello adottato nel Comune di Agrigento [31]; ed infine anche alcune tabelle di crescita desunte da studi sulla popolazione italiana quali quelle proposte da Cacciari et al. [22] richiamate nel documento elaborato dalla Prefettura di Agrigento [31]. In alcuni protocolli è prevista la possibilità di riferirsi ad altre scale di maturazione o tabelle di crescita, non meglio specificate [30, 31], ma in ogni caso subordinatamente alla provenienza geografica ed etnia del presunto minore [28, 32]. Si tratta di un indirizzo, quest'ultimo, particolarmente rilevante data la frequente multietnicità dei MSNA che condiziona fortemente l'accuratezza dei metodi medici. È noto in letteratura quanto possa essere elevato il margine di errore che può caratterizzare i metodi medici (clinici e radiografici), laddove questi siano applicati su individui di popolazioni diverse da quelle sulle quali sono state sperimentate e messe a punto [37-39].

Tra l'altro, contrariamente al principio di gradualità e minor invasività indicato dalle raccomandazioni internazionali e nazionali (v. DPCM 234/16 e POM) che limitano

potenzialmente al colloquio sociale la stima dell'età laddove dovessero evincersi elementi circa la minore età del richiedente, il protocollo della Regione Sardegna indica la visita pediatrica-auxologica quale accertamento necessario ed obbligatorio (step 3) unitamente all'attivazione del percorso di valutazione (step 1) ed al colloquio sociale (step 2) [30]. Di converso, il protocollo del Comune di Milano non declina in maniera particolareggiate le finalità e le modalità operative dell'indagine medico-auxologica. L'accertamento medico-legale, la visita pediatrica e quella auxologica sono tra loro indicate con la congiunzione disgiuntiva « o », sicché le stesse, pur perseguendo le medesime finalità, appaiono mutuamente esclusive e quella medico-legale da privilegiare rispetto alle altre [35].

Integrando ed ampliando i contenuti del POM, solo alcuni protocolli indicano espressamente la valutazione dell'odontogenesi quale ulteriore approfondimento del procedimento accertativo [28, 29, 34]. La Regione Piemonte, infatti, per gli accertamenti disposti *ex l.* 47/2017 per MSNA, stabilisce che la visita medica con la rilevazione dei dati antropometrici e della formula dentaria sia effettuata dal medico legale che, ove necessario, può richiedere una consulenza del pediatra-auxologo; per gli accertamenti *ex* DPCM 234/2016 (per minori vittima di tratta), invece, l'indagine clinica è eseguita dal pediatra con l'eventuale ausilio del medico legale [29].

Infine, la visita medica disciplinata dalle Linee Guida della Procura della Repubblica presso il Tribunale per i Minorenni di Ancona prevede in modo esplicito, oltre alle misurazioni antropometriche, anche la valutazione dell'odontogenesi. Inoltre, previo rilascio del consenso, l'indagine auxologica può essere completata dalla valutazione dello stadio puberale, analogamente a quanto indicato dal POM. Tuttavia, rispetto a quest'ultimo, l'indagine auxologica può essere integrata ed ampliata anche da « *esami endocrinologici* » [28]. Il protocollo predisposto dall'ASST di Cremona pur essendo corredato da una flow-chart a progressiva invasività prevede, unitamente alla valutazione antropometrica anche quella dei caratteri sessuali secondari, non integrandosi però per questi ultimi una ulteriore e distinta valutazione bisognevole di consenso così come rappresentato nel POM [34].

4.4. Visita neuropsichiatrica e/o psicologica.

Dalla comparazione dei protocolli esaminati, la valutazione neuropsichiatrica e/o psicologica non sempre integra una indagine distinta e paritaria alle altre metodiche, contrariamente a quanto raccomandato nell'ambito dell'approccio olistico multidisciplinare. La valutazione psicologica/neuropsichiatrica è talvolta parte integrante del colloquio sociale [26, 32], in altri casi è disposta solo a discrezione del medico responsabile della procedura qualora questo lo ritenga necessario [35].

La Regione Piemonte prevede la valutazione neuropsichiatrica e/o psicologica sono nel percorso *ex* DPCM 234/2016 (per minori vittima di tratta) ma non in quello *ex l.*

47/2017 per MSNA [29]. Le Linee di indirizzo della Regione Sardegna dispongono la valutazione neuropsichiatrica/psicologica solo nel caso in cui gli elementi raccolti all'esito del colloquio sociale e della visita pediatrica-auxologica non dovessero fornire indicazioni utili alla stima dell'età [30]. Infine, non è prevista alcuna valutazione neuropsichiatrica e/o psicologica sia dalle linee guida formulate dalla Procura della Repubblica presso il Tribunale per i minorenni di Ancona sia dal protocollo operativo disposto dall'ASST di Cremona [28, 34].

4.5. Diagnostica per immagini.

L'eventuale duplice approfondimento diagnostico indicato dal POM, ossia l'esame radiografico del polso e della mano (su arto non dominante) per la valutazione dello sviluppo scheletrico e l'ecografia pelvica per la valutazione del grado di maturazione ovarica, è inserito esclusivamente nel protocollo d'intesa tra la Prefettura e l'ASP di Agrigento [31].

In altri protocolli il tipo di esame radiografico da svolgere nella procedura accertativa non è chiaramente specificato, pur prevedendosi il ricorso ad esami di diagnostica per immagini esclusivamente in caso di persistente e fondato dubbio sull'età del richiedente. La Regione Sardegna, per esempio, ammette l'esecuzione degli esami radiografici solo nel caso in cui l'esito della valutazione collegiale (al termine del colloquio sociale e della visita pediatrico-auxologica) sia incerto [30]. È questa anche la condizione indicata dalla Convenzione del Comune di Bari dove la valutazione dell'età scheletrica può essere disposta solo se ritenuta necessaria e, comunque, deve far seguito al colloquio socio-sanitario ed all'indagine pediatrico-auxologica. Alla valutazione dell'età scheletrica è, poi, richiesto di indicare espressamente i parametri di riferimento e comparazione sulla base dei quali si formula la stima dell'età quali « riportati sulle tavole dei nuclei di ossificazione delle varie etnie » [32].

In altri protocolli le indagini radiografiche sono inserite nel contesto di una flow-chart decisionale a progressiva invasività. Ad esempio il protocollo della Regione FVG fa esplicito riferimento alla valutazione dell'età ossea mediante esame radiografico del polso e della mano [26, 34], mentre quello del Comune di Cremona oltre all'RX-mano e polso prevede anche l'esecuzione di una OPT per la valutazione della formula dentaria [34].

Nei protocolli delle Regioni Piemonte e Lazio come anche in quello del Comune di Napoli l'esame RX-mano e polso (sempre su arto non dominante) assume carattere costitutivo e non potenziale nell'ambito della stima dell'età dei MSNA [27, 29, 36]. In particolare, nel protocollo della Regione Piemonte si legge che l'accertamento dell'età biologica « non può prescindere » dall'accertamento della maturazione scheletrica mediante radiografia del polso e della mano sinistra. Si prevede che questa indagine (al pari della OPT) sia disposta dal medico legale nel percorso *ex l.* 47/2017 (per MSNA) ed in

quello per esigenze di Giustizia, mentre diviene possibile solo in caso di necessità nel percorso *ex DPCM 234/2016* (per minori vittima di tratta) [29].

L’RX- mano e polso (su arto non dominante) è parte integrante del procedimento accertativo anche nel protocollo del Comune di Milano per la stima dell’età dei presunti MSNA. L’esecuzione di ulteriori indagini radiologiche (quali una OPT o un RX della clavicola) sono invece ritenute opzionali e subordinate alla incertezza dell’esito della visita medica e dell’RX-mano e polso [35].

Una posizione diversa e in parte coerente con le raccomandazioni internazionali e le direttive nazionali (v. *DPCM 234/16* e *POM*) è, invece, quella adottata dal Tribunale per i Minorenni di Ancona che, preso atto dei margini di errore correlati all’indagine radiografica, talora rilevanti e tali da non consentire risultati dirimenti certi, prevede « di abbandonare l’accertamento dell’età a mezzo accertamenti radiografici » (28) Analogo provvedimento è quello inserito nel protocollo stipulato tra la Procura delle Repubblica presso il Tribunale per i Minorenni di Caltanissetta e l’Azienda Sanitaria di Caltanissetta, dove appunto non si ravvisa l’opportunità di alcun esame radiologico nello svolgimento del procedimento accertativo [33].

Nel documento elaborato dalla Regione Lazio, invece, pur non riscontrandosi alcun esplicito riferimento ad esami di diagnostica per immagini, gli stessi non sono del tutto esclusi. Infatti, nella scheda allegata al documento che fa da modello per la redazione della valutazione multidisciplinare, è indicata la possibilità di effettuare ulteriori approfondimenti quantunque solamente nel caso in cui il dubbio sull’età del minore persista [27].

Infine, solo in alcuni protocolli si indicano non solo quali indagini radiografiche effettuare ma anche i metodi utilizzabili quali riferimento per la comparazione ed interpretazione dei radiogrammi. Analogamente a quanto indicato dal *POM*, i metodi G&P e TW3 sono quelli consigliati per la determinazione dell’età scheletrica dal protocollo della Regione Piemonte e da quelli di Agrigento, Cremona e Napoli [29, 31, 24, 36]. La Regione Piemonte, in considerazione della differente complessità interpretativa tra le metodiche indicate, raccomanda il G&P quale strumento valutativo da utilizzare nel caso di accertamenti disposti in regime di urgenza ed il TW3 per gli accertamenti effettuati in elezione. Per la determinazione dell’età dentaria solo il protocollo operativo dell’Azienda Sanitaria di Cremona fa riferimento alle metodiche di Nolla [40], Demirijan [41], Portigliatti Barbos [42] e Cameriere [43].

4.6. Traccia per la relazione multidisciplinare.

Al pari del *POM* [9], al fine di rendere omogeneo il procedimento identificativo, i protocolli della Regione FVG, Lazio e Sardegna [26, 27, 30] e quelli elaborati nell’ambito delle Aziende sanitarie provinciali di Agrigento e Cremona [Tabella 2] tracciano un percorso nella conduzione della procedura olistico-multidisciplinare. In tutti la relazione

deve concludersi con l'indicazione del margine di errore della stima dell'età e, soprattutto, sul grado di probabilità o incertezza sulla minore età del MSNA. Nel protocollo della Regione FVG e del Lazio è espressamente indicato un margine di errore di +/- 2 anni, attribuito all'esito dell'approccio olistico in relazione alla variabilità biologica ed alla variabilità delle metodiche accertative, al loro grado di soggettività ed al possibile errore dell'esaminatore nella valutazione auxologica ed antropologica. E tanto perché, in conclusione, la relazione deve prevedere che *“qualora il margine di errore comprende al suo interno sia la maggiore sia la minore età”* occorre far prevalere la presunzione dell'età minore. Ovvero la presunzione dell'età minore deve essere sempre affermata secondo il principio etico e giuridico del beneficio del dubbio. Il principio della presunzione dell'età non è però esplicitamente indicata nel documento dell'Azienda sanitaria di Cremona.

Nei protocolli della Regione Marche, del Lazio e in quello dell'Azienda Sanitaria Provinciale di Caltanissetta è anche indicato come l'accertamento dell'età deve concludersi entro 72 ore dall'autorizzazione dell'Autorità Giudiziaria

5. Considerazioni conclusive.

I MSNA generalmente non dispongono di documenti di identità spesso perché, nel proprio Paese di origine, le nascite non sono registrate con regolarità. Si tratta di una evenienza quest'ultima che interessa oltre la metà dei bambini al di sotto dei cinque anni nati in Paesi in via di sviluppo [44]. Ne consegue che la determinazione dell'età biologica riveste un'importanza fondamentale nell'interesse del minore per la tutela dei suoi diritti fondamentali tra cui, per quanto previsto dalla normativa italiana, il divieto di respingimento, l'accoglienza e l'assistenza in strutture dedicate ai MSNA e non in centri per migranti adulti ed irregolari, il rilascio del permesso di soggiorno anche su richiesta dello stesso minore e prima della nomina di un tutore nonché la conversione dello stesso, al compimento del diciottesimo anno di età, in un permesso per motivi di studio, di accesso al lavoro o per esigenze sanitarie, l'iscrizione al Servizio Sanitario Nazionale [1, 45-47].

È del tutto evidente come la tutela ed il riconoscimento dei diritti sopra menzionati necessiti l'applicazione di procedure egualitarie ed indifferenziate. Di converso, dall'analisi comparativa dei protocolli adottati sul territorio nazionale emerge un quadro disomogeneo sia in relazione alla composizione del team di specialisti cui è richiesto il compito di accertare l'età del MSNA sia con riferimento alle modalità accertative mediante le quali dovrebbe svolgersi la procedura di valutazione dell'età cronologica. Tale eterogeneità nell'applicazione della Legge 47/17 espone i MSNA al concreto rischio di veder violati quei diritti che l'ordinamento intende garantire e che, si ricorda, si ispirano ai principi della Convenzione di New York sui diritti del fanciullo di non discriminazione (art. 2), del superiore interesse del minore (art. 3), del diritto alla vita, alla sopravvivenza

e allo sviluppo (art. 6), del diritto al nome e all'identità (art. 8) e del diritto all'ascolto e ad essere informati (artt. 12 e 13) [10].

La grande variabilità di comportamenti assunti dalle varie istituzioni (Regioni, Comuni, Uffici Giudiziari, ASL) sul territorio nazionale e le correlate violazioni dei diritti dei minori erano noti già prima della redazione del POM del 2016, tanto da essere indicata proprio nella premessa generale al documento redatto dalla Conferenza Stato-Regioni quale ragione per la condivisione di una procedura accertativa omogenea nella sua sequenza di attività ed azioni da compiere da parte di tutti i componenti del team di lavoro. Un obiettivo che, amaramente si constata non essere stato compiutamente raggiunto dopo oltre 4 anni dalla ratifica del POM del 2016.

La legittimità di un approccio olistico multidisciplinare è stata affermata di recente dalla Corte di Cassazione [19] che ha inteso non riconoscere alcuna validità a procedure alternative che da queste si discostino. L'approccio olistico multidisciplinare è, pertanto, l'unico in grado di soddisfare le esigenze etiche in conformità al principio del superiore interesse del minore [10], ma anche quelle normative che disciplinano la valutazione socio-sanitaria dell'età cronologica, da attuarsi solo nei casi in cui sussistano fondati dubbi sulla minore età del richiedente all'esito del procedimento identificativo. Detta procedura non può prescindere dal consenso alla sua esecuzione del presunto minore e di chi ne esercita i poteri tutelari nonché dalla presenza di un mediatore interculturale.

Sorprende il fatto che nel team multidisciplinare incaricato di svolgere un accertamento così complesso, con evidenti riflessi legali, non sia espressamente indicato il coinvolgimento di figure con competenze forensi quali un medico-legale e un odontoiatra forense ad eccezione dei protocolli della Regione Piemonte e del Comune di Milano [29, 35].

L'odontogenesi è riconosciuta come uno dei criteri più utili per la stima dell'età cronologica poiché le caratteristiche dell'eruzione e mineralizzazione sequenziale degli elementi dentari, verificabili sia clinicamente che radiologicamente, sono estremamente rilevanti nella determinazione dell'"età dentale" fino proprio al 18° anno di età [48].

La disciplina medico-legale, negli ultimi decenni, si è particolarmente distinta nel settore specifico attraverso un costante impegno nella ricerca (v. gruppi di studio a carattere multidisciplinare e innumerevoli contributi scientifici di alto profilo che rappresentano tuttora un riferimento costante nella pratica clinica) e per l'esperienza maturata nelle diverse attività di collaborazione con le Autorità Giudiziarie (queste figure sono generalmente nominate in qualità di consulenti o periti).

Nel merito, come detto, solo i protocolli adottati dalla Regione Piemonte e dal Comune di Milano [29, 35] si sono distinti tra gli altri per aver affidato il coordinamento del team multi-specialistico ad un medico legale *con* competenze antropologico-forensi. Questo riconoscimento lo si deve proprio a quei gruppi di studio che localmente si sono distinti a livello internazionale nel settore dell'identificazione personale e dell'accerta-

mento dell'età. La competenza scientifico-forense è fondamentale perché l'accertamento sia svolto secondo una rigorosa metodologia di indagine, a garanzia dell'affidabilità del suo esito, corredato da un margine di errore noto, e che consideri tutte le variabili del caso per un'adeguata traduzione del dato scientifico in quello giuridico. L'esperienza dimostra come l'accertamento clinico dell'età è una intrinseca forma di tutela della salute del minore, in quanto non poche volte ha consentito di rivelare incongruenze patologiche tra maturazione ossea e/o dentaria e sviluppo sessuale e/o fisiognomico. A fini forensi, infatti, la stima dell'età biologica nei viventi come quella da resti scheletrici [49] assume un ruolo cruciale non solo nelle procedure identificative dei rifugiati e richiedenti asilo, ma anche nei procedimenti penali e civili, nei casi di tratta degli esseri umani, pornografia infantile, pensione di vecchiaia, rettifica dell'età in casi di adozioni internazionali e negli sport agonistici [12]. Si tratta di ben noti contesti nei quali può tangibilmente essere vantaggiosa la preparazione culturale e specialistica del medico-legale che storicamente offre la propria collaborazione tecnica nella amministrazione della giustizia per accertamenti e valutazioni che richiedono conoscenze mediche e biologiche in rapporto a particolari previsioni del diritto. Considerazioni che sembrano essere state recepite dalle Regioni nella conferenza unificata che, con riferimento allo schema di accordo relativo al *"Protocollo multidisciplinare per la determinazione dell'età dei minori stranieri non accompagnati"* (accordo Stato-Regioni ai sensi dell'art. 9, comma 2, lett. c) del DLgs 28.08.1997 n. 28), hanno ravvisato l'opportunità, quale proposta emendativa alla composizione ed alle modalità operative dell'equipe multidisciplinare e multiprofessionale, di estendere la competenza medica anche alla figura medico legale in ragione proprio delle *"finalità dell'accertamento"* oltre che per consentire alle Regioni *"maggiore flessibilità organizzativa"*. Una proposta questa del tutto ragionevole ed apprezzabile in cui si prevedeva, tra l'altro, la esecuzione unitamente ad una visita pediatrica-auxologica anche di una visita medico legale. Sorprendentemente, però, detta proposta emendativa non è stata condivisa dalla Direzione Generale della Prevenzione Sanitaria del Ministero della Salute che, con nota 30.05.2020 (a firma del Dr. Rezza), ha cassato la proposta ribadendo come le procedure di tipo socio-sanitario previste per l'accertamento dell'età *"sono volte a verificare se lo sviluppo psicofisico del presunto minore è congruo con l'età dichiarata"* e come detta *"valutazione si basa su un approccio olistico, nel superiore interesse del minore"* che *"NON ha connotazione di perizia medico legale"*. Una motivazione, ci si consenta, del tutto generica, poco rispondente alle necessità pratiche del complesso processo accertativo di tipo olistico, indifferente alle competenze specialistiche sviluppate dalla disciplina medico legale ed ancora miope nei confronti delle esigenze sanitarie del minore che non possono essere disgiunte da quelle identificative volte ad accertarne l'età cronologica e legale da cui dipendono i benefici di legge.

Pertanto, quello inserito nei protocolli della Regione Piemonte e del Comune di Milano è, purtroppo, un indirizzo solitario rispetto alle scelte fatte da altri protocolli dove

trova maggiore considerazione la figura del pediatra con competenza auxologica, del neuropsichiatra infantile e dello psicologo dell'età evolutiva. Si tratta di figure disciplinari altrettanto importanti e necessarie la cui competenza specifica non è in discussione ma che potrebbero di certo beneficiare del contributo e della sintesi medico legale in attività così complesse quali l'accertamento dell'età nei MSNA. Peraltro, se l'indagine pediatrico-auxologica può vantare dei riscontri obiettivi che consentono di ancorare la stima dell'età a riferimenti metrico-ponderali attraverso la comparazione dei dati antropometrici (altezza, peso, BMI) ed ancor più degli elementi di riscontro radiografici per la valutazione dell'età dentaria e scheletrica (v. OPT, Rx-mano e polso, Rx-clavicola), purtroppo non deve sfuggire quanto l'indagine psichiatrica/psicologica sia a loro confronto ancora connotata da grande soggettività. A quest'ultima non è richiesta alcuna misurazione o confronto con dati noti e sperimentati su popolazioni di diversa etnia (come invece possibile con i rilievi radiologici) ma solo una valutazione sulla idoneità generica e specifica del richiedente anche tramite l'impiego di test proiettivi, test di livello e questionari di assessment. Quindi, pur dovendosi riconoscere al colloquio sociale come alla valutazione psicologica/neuropsichiatrica un basso grado di invasività è di tutta evidenza che, specie nelle fasce di età più critiche quali quelle prossime al 18° anno di età, nessuna di queste, se non in una minoranza di casi, potrà offrire elementi di certezza nell'accertamento dell'età cronologica. Da qui la necessità di adottare metodi clinici (tra cui anche quelli radiografici) che, seppur più intrusivi e potenzialmente dannosi, siano più oggettivi ed in grado di offrire maggiori probabilità di stimare correttamente l'età cronologica, seppur con margini di errore variabili in base alla tecnica, alle condizioni individuali e socio-culturali, ma testati su differenti studi di popolazione. Nel merito deve segnalarsi come non siano disponibili validi studi comparativi sull'efficacia predittiva nella stima dell'età dei metodi clinici di valutazione dell'età biologica e dei metodi di valutazione neuropsichiatrica e/o psicologica. Un ambito di sicuro interesse, nell'immediato futuro, per la ricerca applicata.

Per il vero, tutti gli approfondimenti in tema di valutazione dell'età cronologica soffrono dello stesso limite. I diversi metodi (medici e non medici) che fanno parte dell'approccio olistico multidisciplinare sono stati implementati e perfezionati con una finalità ben diversa da quella di determinare *sic et simpliciter* l'età anagrafica del soggetto. Lo scopo originario è per molti, come detto, quello di valutare la congruità dello sviluppo fisico-psichico (staturò-ponderale, puberale, sessuale, dentario e scheletrico) con l'età dichiarata ovvero dell'adolescente [50]. Peraltro, molti protocolli definiscono impropriamente il procedimento di valutazione dell'età in termini di « accertamento » laddove etimologicamente “accertare” significa rendere qualcuno certo di una cosa, rassicurarlo della verità di un fatto. Diversamente, le indagini utilizzate per la valutazione dell'età cronologica consentono di definire o meglio stimare un range di età, la cui ampiezza dei valori (min e max) è determinata dagli errori intrinseci allo strumento di misurazione,

all'utilizzatore ed alla variabilità biologica intrinseca [8]. Su questi margini di errore ha avuto modo di soffermarsi esplicitamente la Corte di Cassazione laddove, in linea con quanto già indicato dal DPCM 234/16 e dal POM, rileva come una procedura di stima dell'età cronologica non possa essere priva delle indicazioni relative al margine di errore complessivo e di quello di ciascun metodo impiegato, essendo questa indicazione la premessa necessaria per l'applicazione del beneficio del dubbio da parte del giudice [19].

Dallo studio comparativo dei protocolli esaminati, si evince come la valutazione neuropsichiatrica e/o psicologica sia variamente considerata, essendo in taluni casi integrata nel colloquio sociale [26, 32], mentre in altri non se ne prevede proprio la esecuzione [28, 34]. Essa rappresenta generalmente la prima fase della procedura socio-sanitaria mentre in altri è subordinata ad un esito incerto del colloquio sociale e della visita pediatrica-auxologica [30]. Per il vero, l'indagine socio-sanitaria dovrebbe integrare al contempo il colloquio sociale ed una valutazione psicologica esperita dal neuropsichiatra infantile e/o dallo psicologo dell'età evolutiva, come opportunamente disciplinato dai protocolli della Regione FVG e del Comune di Bari [26, 32]. E tanto al fine di addivenire, mediante un'intervista semi-strutturata, ad una valutazione cognitiva e comportamentale del richiedente in linea con le indicazioni operative EASO e POM secondo le quali l'ascolto del presunto minore dovrebbe svolgersi tempestivamente per rendere l'evento il meno stressante possibile e ridurre il rischio di comparsa di fenomeni di rielaborazione, ripetizione e contaminazione correlati all'introduzione di elementi spuri [9, 15].

In questa prospettiva, il ricorso alla diagnostica per immagini nelle procedure di accertamento per l'età andrebbe riconsiderata. Contrariamente a quanto indicato nei protocolli della Regione Marche e dell'Azienda Sanitaria Provinciale di Caltanissetta che ne escludono aprioristicamente l'uso negli accertamenti sull'età cronologica [28, 33], la radiologia è considerata nei protocolli internazionali EASO e UNICEF una opzione estrema, una *extrema ratio* cui far necessario riferimento solo in caso di persistenti e fondati dubbi sull'età, all'esito delle valutazioni psicologiche/neuropsichiatriche e pediatriche auxologiche sullo sviluppo staturale-ponderale e sessuale. E tanto nel rispetto dell'interesse migliore per il minore cui occorre riconoscere i diritti previsti per lo status di MSNA e nel rispetto del principio di gradualità secondo cui tali esami integrano un rischio non necessario (esposizione a radiazioni ionizzanti), non legittimato da una indicazione diagnostico-terapeutica e non adeguatamente giustificato dalla sola finalità giuridico amministrative [16, 17, 51].

Il principio ALARA non è di certo in discussione. Tutti i sanitari hanno per obbligo deontologico quello di ridurre al minimo i rischi nell'esecuzione di qualsiasi trattamento diagnostico-terapeutico potenzialmente lesivo e, nella specie, quello di ridurre al minimo la quota di radiazioni ionizzanti cui un individuo, specie se minore, può essere esposto [16, 17]. Tuttavia, non può non rilevarsi come la tecnologia moderna e le strumentazioni radiologiche attualmente in uso abbiano ridotto notevolmente la dose di radia-

zioni emesse. Si è calcolato che un cittadino americano riceve un'esposizione annuale di radiazioni ionizzanti da fonti naturali di circa 3.1 mSv (millisievert) [52], laddove la dose effettiva correlata ad un esame radiografico della mano è pari a soli 0.00017 mSv (millisievert) [53]. La probabilità che un evento fatale possa essere correlato all'esecuzione di un esame radiografico della mano è stata calcolata essere molto più bassa (1:10.000.000) rispetto alla probabilità che si verifichino in vita ben altre tipologie di eventi (naturali o violenti) quali l'annegamento (1:2.900), un omicidio (1:530), un incidente stradale (1:220), una caduta accidentale (1:140), un infarto del miocardio (1:20) o una neoplasia maligna (1:7) [54]. Peraltro, il costante impegno della disciplina medicolegale come anche dei radiologi a ridurre l'esposizione di radiazioni ionizzanti ha portato a considerare l'uso di tecnologie alternative *radiation free*, quali l'ecografia della clavicola [55], del gomito [56], del polso [57] e della cresta iliaca [58] oppure la RM della clavicola [59], del polso [60, 61] e del ginocchio [62]. La RM è, infatti, già inserita nel protocollo EASO tra i metodi preferenziali essendo una strumentazione che non utilizza radiazioni ionizzanti e apre nuovi campi di ricerca per la verifica ed approfondimento delle scale di maturazione classificate, per diversi distretti anatomici (polso, spalla, anca, ginocchio, etc.), con l'ausilio delle classiche apparecchiature radiografiche. Va ricordato, tuttavia, che l'esecuzione di una RMN può risultare dannosa in caso di elementi metallici e/o componenti ferromagnetici indovati nei visceri e/o nei tessuti (cosiddetto "effetto proiettile" provocato dalla forza di attrazione del campo magnetico), di cui il minore può non avere memoria o conoscenza.

A fronte di tali considerazioni deve aggiungersi la maggiore affidabilità dei metodi radiografici rispetto a tutti i metodi medici e non medici inclusi nell'approccio olistico multidisciplinare. La valutazione integrata dei dati risultanti dall'esame fisico e dal confronto degli indicatori di maturazione ossea e dentaria radiograficamente evidenziati (a livello oro-facciale, mano-polso e clavicola) è tuttora quella considerata maggiormente attendibile per stimare l'età anagrafica [8]. Infine, se confrontata con il carattere delle informazioni che occorre raccogliere dal minore durante il colloquio sociale e la valutazione psicologica/neuropsichiatrica inerenti la precedente attività sessuale, eventuali « violenze, l'avviamento alla prostituzione, ripetuta attività sessuale volontaria o costretta, matrimoni precoci », ovvero con l'esame fisico dei caratteri sessuali primari e secondari per la valutazione dello sviluppo puberale [9], un esame radiografico appare indiscutibilmente meno intrusivo ed invasivo.

Per i motivi sopra delineati e tenuto conto dei diritti correlati al riconoscimento della minore età, la valutazione della maturazione scheletrica mediante esame radiografico dell'arto non dominante [63] al pari di una valutazione dello sviluppo dentario (mediante esame obiettivo ed una OPT e/o RX-endorale per la mineralizzazione del terzo molare) potrebbe costituire un elemento strutturale e non opzionale nella procedura di stima

dell'età cronologica cui ricorrere in caso di persistenti dubbi sull'età del richiedente e sempre nell'ottica del principio di gradualità [64].

La valutazione dell'età non è una scienza esatta e una notevole incertezza è costitutiva in qualsiasi procedura, soprattutto perché può non tener conto delle differenze esistenti tra etnia, carenze nutrizionali e background socio-economico [13]. L'interesse superiore del minore e il beneficio del dubbio sono i riferimenti insuperabili che devono guidare qualsiasi processo di stima dell'età cronologica in ambito forense, nel rispetto dei principi dell'etica medica e della tutela dei diritti umani. Si tratta di procedure (sanitarie e non) dirette alla *stima* dell'età cronologica e non ad un *accertamento* dell'età biologica. Questa stima dell'età biologica raramente può fondarsi su di un'unica tipologia di esame. È necessario, quindi, delineare un protocollo socio-sanitaria in cui sia chiaramente identificata la composizione dell'équipe multi-professionale e le modalità operative multidisciplinari per lo svolgimento delle valutazioni specialistiche, perché l'età è un elemento essenziale dell'identità di un bambino e richiede esigenze di protezione speciali.

BIBLIOGRAFIA

- [1] L. 7 aprile 2017, n. 47.
- [2] Ministero del Lavoro e delle Politiche Sociali (2019). Report mensile minori stranieri non accompagnati (MSNA) in Italia. Dati al 31 dicembre 2019. Disponibile su: <https://www.lavoro.gov.it/temi-e-priorita/immigrazione/focus-on/minori-stranieri/Documents/Report-MSNA-mese-dicembre-2019.pdf>. Visionato il 20 aprile 2020.
- [3] The United Nations Refugee Agency (2019). Global Trends. Forced Displacement in 2018. Disponibile su: <https://www.unhcr.org/5d08d7ee7.pdf>. Visionato il 20 aprile 2020.
- [4] D.P.R 22 settembre 1988, n. 448.
- [5] D.lgs. 28 gennaio 2008, n. 25.
- [6] D.lgs. 4 marzo 2014, n. 24.
- [7] D.P.C.M. 10 novembre 2016, n. 234.
- [8] Consiglio Superiore di Sanità (2009). Parere espresso dal Consiglio Superiore di Sanità, sezione II, nella seduta del giorno 25 febbraio 2009, concernente "Accertamento dell'età dei minori non accompagnati". Disponibile su: <http://www.asgi.it/wp-content/uploads/2015/03/Parere-Consiglio-Superiore-Sanita.pdf>. Visionato il 20 aprile 2020.
- [9] Conferenza delle Regioni e delle Province autonome (2016). Protocollo Per l'identificazione e per l'accertamento olistico multidisciplinare dell'età dei minori non accompagnati. Disponibile su: https://www.minori.gov.it/sites/default/files/protocollo_identificazione_msna.pdf. Visionato il 20 aprile 2020.
- [10] UN General Assembly (1989). Convention on the Rights of the Child, 20 Novem-

- ber 1989, United Nations, Treaty Series, vol. 1577, p. 3. Disponibile su: <https://www.refworld.org/docid/3ae6b38f0.html>. Visionato il 20 aprile 2020.
- [11] SCHMELING A, GRUNDMANN C, FUHRMANN A, KAATSCH HJ, KNELL B, RAMSTHALER F, REISINGER W, RIEPERT T, RITZ-TIMME S, RÖSING FW, RÖTZSCHER K, GESERICK G (2008). Criteria for age estimation in living individuals. *Int J Legal Med*; 122:457-60.
- [12] SCHMELING A (2017). Forensic age estimation. In: Houck MM. (a cura di.) *Forensic Anthropology*, Academic Press, London, pp. 169-176.
- [13] Separated Children in Europe Programme. Position Paper on Age Assessment in the Context of Separated Children in Europe. Disponibile su: <https://www.refworld.org/docid/4ff535f52.html>. Visionato il 20 aprile 2020.
- [14] UN Children's Fund (2013). Age Assessment: A Technical Note. Disponibile su: <https://www.refworld.org/docid/5130659f2.html>. Visionato il 20 aprile 2020.
- [15] European Asylum Support Office (2018). EASO practical guide on age assessment. Disponibile su: <https://www.easo.europa.eu/sites/default/files/easo-practical-guide-on-age-assesment-v3-2018.pdf>. Visionato il 20 aprile 2020.
- [16] AYNLEY-GREEN A, COLE TJ, CRAWLEY H, LESSOF N, BOAG LR, WALLACE RM (2012). Medical, statistical, ethical and human rights considerations in the assessment of age in children and young people subject to immigration control. *Br Med Bull*; 102:17-2.
- [17] BENSO L, MILANI S. Alcune considerazioni sull'uso forense dell'età biologica. Disponibile su: http://www.asgi.it/wp-content/uploads/public/1_0013_benso_materiali.pdf. Visionato il 20 aprile 2020.
- [18] WATT I (1996). Faculty of Clinical radiology. Letter ref. BFCR 9 to all Home Clinical radiology Fellows and Members.
- [19] Cass. civ., sez. I, 3 marzo 2020, n. 5936.
- [20] MARSHALL WA, TANNER JM (1969). Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child*; 44:291-303.
- [21] MARSHALL WA, TANNER JM (1970). Variations in the pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Child*; 45:13-2.
- [22] CACCIARI E, MILANI S, BALSAMO A, SPADA E, BONA G, CAVALLO L, CERUTTI F, GARGANTINI L, GREGGIO N, TONINI G, CICOGNANI A (2006). Italian cross-sectional growth charts for height, weight and BMI (2 to 20 yr). *J Endocrinol Invest*; 29:581-593.
- [23] GREULICH W, PYLE SI (1959). *Radiographic Atlas of Skeletal Development of the Hand and Wrist*. 2nd ed, Stanford University Press, Stanford.
- [24] TANNER JM, WHITEHOUSE RH, CAMERON N, MARSHALL WA, HEALY MJR, GOLDESTINE H (2001). *Assessment of Skeletal Maturity and Prediction of Adult Height (TW3 Method)*. Academic Press, London.
- [25] GOUGH HG (1979). A creative personality scale for the Adjective Check List. *Journal of Personality and Social Psychology*; 37:1398-1405.
- [26] Giunta Regionale della regione Friuli Venezia Giulia (2019). Deliberazione della Giunta Regionale n. 2190 del 20 dicembre 2019 avente ad oggetto la Procedura per l'accertamento multidisciplinare dell'età dei minori stranieri non accompagnati (MSNA) presso le strutture del SSR della regione Friuli Venezia Giulia. Disponibile su: <http://m>

tom.regione.fvg.it/storage//2019_2190/Allegato%201%20alla%20Delibera%202190-2019.pdf. Visionato il 20 aprile 2020.

[27] Giunta Regionale della regione Lazio (2018). Deliberazione della Giunta Regionale n. 590 del 16 ottobre 2018 avente ad oggetto l'approvazione del documento concernente "Indicazioni e procedure per l'accoglienza e la tutela sanitaria dei richiedenti protezione internazionale". Disponibile su: <https://www.simmweb.it/gris-lazio/936-regione-lazio-dgr-590-2018>. Visionato il 20 aprile 2020.

[28] Procura della Repubblica presso il Tribunale per i minorenni di Ancona (2017). Linee guida sull'identificazione e sull'accertamento dell'età dei minori stranieri non accompagnati. Disponibile su: http://www.procuraminorenni.ancona.it/documentazione/D_9981.pdf. Visionato il 20 aprile 2020.

[29] Giunta Regionale della regione Piemonte (2018). Deliberazione della Giunta Regionale n. 35-6586 del 9 marzo 2018, avente ad oggetto l'adozione Protocollo Tecnico regionale per l'accertamento dell'età dei minori stranieri non accompagnati (MSNA) presenti nel territorio piemontese ed individuazione delle Strutture Sanitarie Aziende Locali ed Ospedaliere preposte all'attuazione dei previsti procedimenti. Disponibile su: http://www.regione.piemonte.it/governo/bollettino/abbonati/2018/13/attach/dgr_06586_1050_09032018.pdf. Visionato il 20 aprile 2020.

[30] Regione Autonoma della Sardegna (2017). Deliberazione n. 631 del 23 giugno 2017 avente ad oggetto "Linee di indirizzo regionali per l'accertamento dell'età del minore straniero non accompagnato (MSNA)". Disponibile su: https://www.regione.sardegna.it/documenti/1_38_20170711112723.pdf. Visionato il 20 aprile 2020.

[31] Prefettura di Agrigento, Azienda Sanitaria Provinciale di Agrigento (2017). Protocollo d'intesa tra Prefettura di Agrigento ed ASP di Agrigento per l'attivazione in via sperimentale dell'équipe multidisciplinare, già in forza presso la suddetta struttura sanitaria, per l'accertamento dell'età sui MSNA, nei casi in cui sussista un fondato dubbio sulla loro minore età segnalato dai Centri di Prima accoglienza per minori. Disponibile su: http://www.prefettura.it/FILES/allegatinews/1245/Protocollo_firmato.pdf. Visionato il 20 aprile 2020.

[32] Azienda Sanitaria Locale della Provincia di Bari (2018). Deliberazione del Direttore Generale dell'Azienda Sanitaria Locale della Provincia di Bari n. 793 del 16 aprile 2018 avente ad oggetto la Presa d'atto della Convenzione stipulata tra la Procura della Repubblica presso il Tribunale per i minorenni di Bari, l'ASL Bari, L'Azienda Ospedaliera Universitaria Consorziata Policlinico - Giovanni XXIII di Bari, il Comune di Bari per pianificare l'attività diretta all'accertamento dell'età dei sedicenti minori non accompagnati. Disponibile su http://www.asl.bari.it/pdf/DELIB_793_2018_.pdf. Visionato il 20 aprile 2020.

[33] Procura della Repubblica presso il Tribunale per i minorenni di Caltanissetta, Azienda Sanitaria Provinciale di Caltanissetta (2018). Protocollo per l'identificazione e per l'accertamento olistico multidisciplinare dell'età dei minori stranieri non accompagnati stipulato tra la Procura della Repubblica presso il Tribunale per i Minorenni e

- l'A.S.P. di Caltanissetta. Disponibile su: <http://www.procmin.caltanissetta.giustizia.it/it/News/Detail/111422>. Visionato il 20 aprile 2020.
- [34] Azienda Socio-Sanitaria Territoriale di Cremona (2018). Protocollo operativo per l'accertamento multidisciplinare dell'età in soggetti minori non accompagnati. Disponibile su: http://www.prefettura.it/FILES/AllegatiPag/1162/Procedura_operativa.pdf. Visionato il 20 aprile 2020.
- [35] Prefettura di Milano, Tribunale per i minorenni di Milano, Procura della Repubblica presso il Tribunale per i minorenni di Milano, Comune di Milano, Questura di Milano, Università degli Studi di Milano (2017). Protocollo operativo per l'accertamento dell'età dei minori stranieri non accompagnati del comune di Milano. Disponibile su: <https://www.cgil.lombardia.it/wp-content/uploads/2017/12/Protocollo-accertamento-età-Milano-firmato-13-11-171.pdf>. Visionato il 20 aprile 2020.
- [36] Procura Generale della Repubblica presso la Corte d'appello del Tribunale di Napoli, Procura della Repubblica presso il Tribunale di Napoli, Procura della Repubblica presso il Tribunale per i minorenni di Napoli, Centro Giustizia Minorile della Campania, AORN Santobono Pausilipon, Questura di Napoli, Comando Provinciale dei Carabinieri di Napoli, Comando Provinciale della Guardia di Finanza di Napoli, Comune di Napoli, Polizia Municipale di Napoli, Cooperativa sociale Dedalus (2013). Protocollo d'intesa per l'accertamento dell'età dei minori migranti non accompagnati del comune di Napoli nell'ambito dei procedimenti civili e penali. Disponibile su: http://www.prefettura.it/napoli/allegati/Download:Protocollo_d_intesa_per_l_accertamento_dell_eta_di_minori_stranieri_non_accompagnati-5818104.htm. Visionato il 20 aprile 2020.
- [37] MORA S, BOECHAT MI, PIETKA E, HUANG HK, GILSANZ V (2001). Skeletal age determinations in children of European and African descent: applicability of the Greulich and Pyle standards. *Pediatr Res*; 50:624-628.
- [38] SCHMITT A, MURAIL P, CUNHA E, ROUGÉ D (2002). Variability of the pattern of aging on the human skeleton: evidence from bone indicators and implications on age at death estimation. *J Forensic Sci*; 47:1203-1209.
- [39] OLZE A, SCHMELING A, TANIGUCHI M, MAEDA H, VAN NIEKERK P, WERNECKE KD, GESERICK G (2004). Forensic age estimation in living subjects: the ethnic factor in wisdom tooth mineralization. *Int J Legal Med*; 118:170-3.
- [40] NOLLA CM (1960). The development of the permanent teeth. *J Dent Child*; 27:254-266
- [41] DEMIRJIAN A, GOLDSTEIN H, TANNER JM (1973). A new system of dental age assessment. *Hum Biol*; 45:211-227.
- [42] PORTIGLIATTI BARBOS M, ROBETTI I, IORIO M, FESTA T (1982). L'accertamento dell'età dentaria nel secondo decennio di vita quale contributo alla definizione della competenza dei Tribunali minorili. *Riv It Med Leg*; 4:863-873.
- [43] CAMERIERE R, FERRANTE L, DE ANGELIS D, SCARPINO F, GALLI F (2008). The comparison between measurement of open apices of third molars and Demirjian stages to test chronological age of over 18 year old in living subjects. *Int J Legal Med*; 122: 493-7.

- [44] United Nations Children's Fund (2017) A snapshot of civil registration in Sub-Saharan Africa. https://www.unicef.org/media/files/Embargoed_11_Dec_Birth_Registration_report_low_res.pdf. Visitato il 20 aprile 2020
- [45] D.lgs. 25 luglio 1998, n. 286.
- [46] R.D.L. 20 luglio 1934, n. 1404.
- [47] D.P.C.M. 15 giugno 2015, n. 84.
- [48] INTRONA F, CAMPOBASSO CP (2006). Biological vs Legal Age of Living Individuals. In Schmitt A, Cunha E, Pinheiro J (a cura di). *Forensic Anthropology and Medicine: complementary sciences from recovery to cause of death*. Humana Press Inc, Totowa, New Jersey, pp 57-82
- [49] CUNHA E, BACCINO E, MARTRILLE L, RAMSTHALER F, PRIETO J, SCHULIAR Y, LYNNERUP N, CATTANEO C (2009). The problem of aging human remains and living individuals: a review. *Forensic Sci Int*; 193:1-13.
- [50] HERMANUSSEN M, BOGIN B (2014). Auxology - an editorial. *Ital J Pediatr*; 23:40-8.
- [51] SCHMELING A, DETTMAYER R, RUDOLF E, VIETH V, GESERICK G (2016). In reply. *Dtsch Arztebl Int*; 113:488.
- [52] United States Nuclear Regulatory Commission (2017). Biological Effects of Radiation. Disponibile su: <https://www.nrc.gov/reading-rm/doc-collections/fact-sheets/bio-effects-radiation.html>. Visitato il 20 aprile 2020.
- [53] OKKALIDES D, FOTAKIS M (1994). Patient effective dose resulting from radiographic examinations. *Br J Radiol*; 67:564-72.
- [54] SCHMELING A, SCHMIDT S, SCHULZ R, OLZE A, REISINGER W, VIETH V (2010). Practical imaging techniques for age evaluation. In: Black A, Payne-James J, Aggrawal A (a cura di). *Age Estimation in the Living: The Practitioners Guide*. John Wiley & Sons, New York, pp 130-149.
- [55] SCHULZ R, ZWIESIGK P, SCHIBORR M, SCHMIDT S, SCHMELING A (2008). Ultrasound studies on the time course of clavicular ossification. *Int J Legal Med*; 122:163-7.
- [56] SCHULZ R, SCHIBORR M, PFEIFFER H, SCHMIDT S, SCHMELING A (2014). Forensic age estimation in living subjects based on ultrasound examination of the ossification of the olecranon. *J Forensic Leg*; 22:68-72.
- [57] SCHMIDT S, SCHIBORR M, PFEIFFER H, SCHMELING A, SCHULZ R (2013). Age dependence of epiphyseal ossification of the distal radius in ultrasound diagnostics. *Int J Legal Med*; 127:831-8.
- [58] SCHMIDT S, SCHIBORR M, PFEIFFER H, SCHMELING A, SCHULZ R (2013). Sonographic examination of the apophysis of the iliac crest for forensic age estimation in living persons. *Sci Justice*; 53:395-401.
- [59] SCHMIDT S, MÜHLER M, SCHMELING A, REISINGER W, SCHULZ R (2007). Magnetic resonance imaging of the clavicular ossification. *Int J Legal Med*; 121:321-4.
- [60] DVORAK J (2009). Detecting over-age players using wrist MRI: science partnering with sport to ensure fair play. *Br J Sports Med*; 43:884-5.
- [61] DVORAK J, GEORGE J, JUNGE A, HODLER J (2007). Application of MRI of the wrist for

age determination in international U-17 soccer competitions. Br J Sports Med; 41:497-500.

[62] KRÄMER JA, SCHMIDT S, JÜRGENS KU, LENTSCHIG M, SCHMELING A, VIETH V (2014). The use of magnetic resonance imaging to examine ossification of the proximal tibial epiphysis for forensic age estimation in living individuals. Forensic Sci Med Pathol; 10:306-13.

[63] ANGELAKOPOULOS N, GALIĆ I, DE LUCA S, CAMPOBASSO CP, MARTINO F, DE MICCO F, COCCIA E, CAMERIERE R (2020). Skeletal age assessment by measuring planar projections of carpals and distal epiphyses of ulna and radius bones in a sample of South African subadults. Australian Journal of Forensic Sciences; in press, DOI: 10.1080/00450618.2020.1766111

[64] DE MICCO F, MARTINO F, CAMPOBASSO CP (2020). Ethical issues in age Assessment by the third molar development. Australian Journal of Forensic Sciences; in press, DOI: 10.1080/00450618.2020.1789220.

	Composizione equipe	Colloquio sociale	Visita pediatrica-auxologica	Valutazione neuropsichiatrica /psicologica	Diagnostica per immagini	Formato standard
Conferenza delle Regioni e delle Province Autonome 16/30/CR09/C7-C15	- Assistente sociale - Pediatra con competenze auxologiche - Psicologo dell'età evolutiva e/o neuropsichiatra infantile - Mediatore interculturale	Si	Si	Si	- Rx mano (arto non dominante) (ev.) - Ecografia pelvica (ev.)	Si
Friuli Venezia Giulia (allegato alla Delibera n. 2190 del 20/12/2019)	- Assistente sociale - Pediatra con competenze auxologiche - Psicologo dell'età evolutiva e/o neuropsichiatra infantile - Mediatore culturale	Si	Si	Si	- Rx mano (arto non dominante) (ev.)	Si
Lazio (D.G.R. 590/2018)	- Assistente sociale - Pediatra preferibilmente con competenze auxologiche - Psicologo dell'età evolutiva e/o neuropsichiatra infantile - Mediatore culturale	Si	Si	Si	- Non specificato	Si
Marche (Procura della Repubblica presso il Tribunale per i minorenni di Ancona)	No	Si	Si	No	No	No

Piemonte (D.G.R. 68-6173/ 2017)	<i>Accertamento ex L. 47/ 2017</i> - Mediatore culturale - Medico legale - Pediatra auxologo (ev.)	Si	Si(ev.)	No	- Rx mano sinistra - OPT (ev.)	No
	<i>Accertamento ex DPCM 234/2016</i> - Medico legale - Assistente sociale - Pediatra - Psicologo e/o neuropsichiatra	Si	Si	Si	- Rx mano (non dominante) (ev.) - OPT (ev.) - Altro (ev.)	No
	<i>Accertamento per esigenze di Giustizia</i> - Medico legale	No	Si (medico-legale)	No	- Rx mano (arto non dominante)	No
Sardegna (Det. n. 631 del 23.6.2017)	- Dirigente medico esperto nella medicina delle migrazioni - Assistente sociale - Pediatra con competenze auxologiche - Psicologo dell'età evolutiva e/o neuropsichiatra infantile - Mediatore interculturale	Si	Si	Si(ev.)	- Si, ma tipologia non specificata (ev)	Si
Agrigento	- Assistente sociale - Pediatra con competenze auxologiche - Psicologo dell'età evolutiva e/o neuropsichiatra infantile - Mediatore interculturale	Si	Si	Si	- Rx mano (arto non dominante) (ev.) - Ecografia pelvica (ev.)	Si
Bari	- Pediatra - Psicologo - Assistente sociale - Radiologo	Si	Si	Si	- Si, ma tipologia non specificata (ev)	No
Caltanissetta	- Assistente sociale - Pediatra con competenze auxologiche - Psicologo dell'età evolutiva e/o neuropsichiatra infantile - Mediatore interculturale	Si	Si	Si	No	No
Cremona	- Pediatra - Radiologo - TSRM - Odontoiatra - Medico legale - Mediatore culturale	No	Si	No	- Rx mano (arto non dominante) (ev.) - OPT (ev.)	Si

CASISTICA E RICERCA SPERIMENTALE

Milano	No	Si(ev.)	Si	Si(ev.)	- Rx mano (arto non dominante) - OPT (ev.) - Rx Clavicola (ev.)	No
Napoli (Prot. N. 20576 del 19.11.2013)	- Pediatra - Mediatore culturale/ traduttore	Si	Si	No	- Rx mano (arto non dominante)	No

Tab. 1: Sinossi comparativa dei protocolli. La tabella evidenzia la composizione dell'equipe multidisciplinare, le procedure diagnostiche previste e l'esistenza di un documento/traccia per la conduzione della procedura e verbalizzazione finale.

Legenda: (ev.) eventuale.

	Enti estensori	Classificazione del documento
Friuli Venezia Giulia	Regione Friuli Venezia Giulia	Allegato a Delibera Regionale
Lazio	Regione Lazio	Deliberazione di Giunta Regionale
Marche	Procura della Repubblica presso il Tribunale per i minorenni di Ancona	Linee Guida
Piemonte	Regione Piemonte	Deliberazione di Giunta Regionale
Sardegna	Regione Sardegna	Determinazione
Agrigento	- Prefettura di Agrigento - Azienda Sanitaria Provinciale (ASP) di Agrigento	Protocollo d'intesa
Bari	- Procura della Repubblica presso il Tribunale per i minorenni di Bari - ASL della Provincia di Bari - AOU Consorzio Policlinico - Giovanni XXIII - Comune di Bari	Convenzione
Caltanissetta	- Procura della Repubblica presso il Tribunale per i minorenni di Caltanissetta - Azienda Sanitaria Provincia di Caltanissetta	Protocollo
Cremona	Azienda Socio Sanitaria Territoriale (ASST)	Protocollo
Milano	- Prefettura di Milano - Tribunale per i minorenni - Procura della Repubblica presso il Tribunale per i minorenni di Ancona - Comune di Milano - Questura di Milano - Università degli Studi di Milano	Protocollo
Napoli (Prot. N. 20576 del 19.11.2013)	- Procura Generale della Repubblica presso la Corte d'appello del Tribunale di Napoli - Procura della Repubblica presso il Tribunale di Napoli - Procura della Repubblica presso il Tribunale per i minorenni di Napoli - Centro Giustizia Minorile della Campania - A.O.R.N. Santobono Pausillipon - Questura di Napoli - Comando Provinciale dei Carabinieri di Napoli - Comando Provinciale della Guardia di Finanza di Napoli - Comune di Napoli - Polizia Municipale di Napoli - Cooperativa sociale Dedalus - Associazione La Bacchetta magica - Croce Rossa Italiana - Comitato Regionale della Campania - UNICEF Campania	Protocollo d'intesa

Tab. 2: Sinossi comparativa dei documenti esaminati in relazione alla tipologia ed agli Enti promotori ed estensori.

IV.2 Problematiche etiche nella stima dell'età cronologica mediante lo studio radiologico del terzo molare.

Quantunque i metodi radiografici siano stati nel loro insieme indicati come intrusivi e non giustificati eticamente, non rispondendo ad alcuna finalità clinico-terapeutica ma solo ed esclusivamente amministrativo-giudiziario, riteniamo sia quanto mai opportuno rammentare come dette metodiche siano tra quelle più oggettive, il cui margine di errore è stato ampiamente verificato mediante studi esperiti su diverse popolazioni.

A tal riguardo, quindi, la stima dell'età cronologica mediante le metodiche oggetto di analisi non si ritiene debba essere giudicata aprioristicamente non etica, in quanto dalla nostra analisi è risultata rispondente ai quattro principi del Principialismo bioetico

Nello specifico, il principio di autonomia è rispettato allorquando il minore viene adeguatamente informato sulle finalità e modalità dell'accertamento, accetta liberamente e comprende i benefici ed i potenziali rischi della valutazione dell'età. Ricordiamo, a tal proposito, come la Direttiva 2013/32/UE del Parlamento europeo e del Consiglio del 26 giugno 2013 statuisca come gli accertamenti medici espletati al fine di accertare l'età del MSNA debbano essere preceduti da un'adeguata informazione sulla tipologia di visita medica prevista, sulle possibili conseguenze dei risultati e sulle conseguenze cui va incontro il minore non accompagnato che si rifiuti di sottoporsi a visita medica, fermo restando che l'eventuale rifiuto non osta a che l'autorità accertante prenda una decisione sulla domanda di protezione internazionale

Appaiono altresì soddisfatti i principi di beneficenza e non maleficenza allorquando l'applicazione dei metodi radiografici segua quella gradualità propria dell'approccio olistico al fine di ridurre il rischio di danni fisici, psicologici o emotivi. Peraltro, la radiografia convenzionale (e attualmente quella digitale) implica un'esposizione a dosi molto basse di radiazioni, in ossequio al principio della fisica sanitaria "ALARA" (As Low As Reasonably Achievable) che impone di ridurre al minimo possibile l'uso di radiazioni ionizzanti.

I metodi radiologici per la valutazione della maturazione del terzo molare appaiono altresì conformi al principio di giustizia in quanto forniscono un trattamento uguale per tutti gli individui durante la valutazione dell'età senza discriminazione di genere ed etnia, offrendo la possibilità di calcolare con grande affidabilità il range di errore della stima, in base al sesso ed al gruppo etnico di provenienza, elementi in grado di interferire in maniera significativa sulla stima dell'età cronologica.

Questo dato appare estremamente rilevante nonché rispondente all'auspicio della Forensic Anthropology Society of Europe (FASE) rivolto alla comunità scientifica sulla necessità di espletare studi su popolazioni di diversa etnia al fine di raggiungere un adattamento di ogni metodo in base alla popolazione specifica (*Cunha E et al., 2009*). Infatti, il range di errore della stima rappresenta un elemento valutativo richiesto dalla Legge 47/17 come dai protocolli EASO, UNICEF e SCEP per l'applicazione del beneficio del dubbio in favore del minore. Ovvero laddove vi sia incertezza sull'età adulta, ricorrendo un *range* di errore che includa un'età <18 anni, dovrà essere attribuita al richiedente lo status di minore.

Pertanto, è auspicabile che i metodi radiologici per la valutazione dell'età dentaria possano, specie quando ci si trovi in prossimità dell'età adulta, trovare maggiore applicazione nei protocolli internazionali ufficiali per la stima dell'età cronologica o legale, al fine di fornire il grado di probabilità di stima dell'età in base al sesso e il gruppo etnico.

L'esperienza dimostra come l'accertamento clinico dell'età è una intrinseca forma di tutela della salute del minore, in quanto non poche volte ha consentito di rivelare incongruenze patologiche tra maturazione ossea e/o dentaria e sviluppo sessuale e/o fisiognomico.

Avuto riguardo dell'analisi etica svolta, emerge come il ricorso a metodiche radiologiche per lo studio della maturazione del terzo molare soddisfa un'esigenza primaria del minore, ossia quella di trarre informazioni utili alla sua identificazione personale ed alla valutazione clinica, premessa necessaria alla tutela dei diritti del minore. Molti MSNA, infatti, ignorano la loro data di nascita, non sono in possesso di alcun documento identificativo che

ne accerti l'epoca, provengono da paesi dove non sono attivati sistemi di rilevazione anagrafica. Ecco che una valutazione clinica globale, comprensiva anche di una visita odontoiatrica atta a valutare anche lo sviluppo del terzo molare, specie in una fascia d'età prossima ai 18 anni, risponde anche all'esigenza di verificare eventuali ritardi di crescita, patologie dello sviluppo e, in ogni caso, orienta il clinico per un'età cronologica nell'interesse del miglior interesse del minore. E tanto affinché questi possa beneficiare delle misure di protezione spettanti in quanto minore, specie laddove vi sono ragionevoli o fondati dubbi che l'età sia diversa da quella dichiarata.

Lo studio, che di seguito si riporta integralmente, è stato pubblicato sull'*Australian Journal of Forensic Sciences* (*De Micco et al., 2020*)




Ethical issues in age assessment by the third molar development

Francesco De Micco , Federica Martino & Carlo Pietro Campobasso

To cite this article: Francesco De Micco , Federica Martino & Carlo Pietro Campobasso (2020): Ethical issues in age assessment by the third molar development, Australian Journal of Forensic Sciences, DOI: [10.1080/00450618.2020.1789220](https://doi.org/10.1080/00450618.2020.1789220)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/00450618.2020.1789220>

 Published online: 12 Jul 2020.

 Submit your article to this journal [↗](#)

 View related articles [↗](#)

 View Crossmark data [↗](#)

Full Terms & Conditions of access and use can be found at
<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=tajf20>



Ethical issues in age assessment by the third molar development

Francesco De Micco^a, Federica Martino^b and Carlo Pietro Campobasso^b

^aDipartimento di Medicina e Scienze della Salute “Vincenzo Tiberio”, Università del Molise, Campobasso, Italy; ^bDipartimento di Medicina Sperimentale, Università della Campania “Luigi Vanvitelli”, Naples, Italy

ABSTRACT

According to international regulations, unaccompanied minor status determination implies a different set of rights, needs and entitlements than migrant adults. In forensic scenarios, the age assessment of refugee and asylum seekers who do not have reliable documentation is based on the application of different medical and non-medical methods. A multidisciplinary and holistic approach based on a gradual implementation of these methods is recommended worldwide. Many healthcare professionals consider medical age assessment, especially when performed through radiology, highly intrusive and ethically questionable because it is conducted without medical or therapeutic benefits. About dental examination, the evaluation of the third molar development can provide very useful information on the crucial age limit of 18 years. Demirjian’s scoring system and the third molar maturity index (I_{3M}) developed by Cameriere et al. (2008) are the two most common quantitative methods for dental age estimation. An ethical evaluation of the dental age estimation performed by these radiological methods through the four principles of biomedical ethics (autonomy, beneficence, non-maleficence and justice) is discussed here.

ARTICLE HISTORY

Received 1 April 2020
Accepted 10 June 2020

KEYWORDS

Medical ethics; age estimation; Cameriere’s method; Demirjian’s system; children’s rights; forensic odontology

Introduction

Around the world there is a growing demand for age estimation of the living, mostly related to the global increase in migration movements.¹ At the end of 2018, 70.8 million individuals were forcibly displaced worldwide as a result of persecution, conflict, or human rights violations² and many more are expected in the near future due to the Covid-19 outbreak. Approximately 138,600 have been listed as being separated children or unaccompanied minors (UM), mostly males, but these data are significantly underestimated.² Children below 18 years of age seem to be about half the total refugee population coming mostly from African Countries and/or the Middle East.³

The United Nations Convention on the Right of the Child (UN-CRC) states that *minor* is every human being below the age of 18 years unless the law applicable to the child is attained earlier. This is the age of majority in most of the Countries, which legally divides childhood from adulthood. Asylum-seeking and refugee children should receive appropriate assistance and humanitarian protection as set out in Article 22 of the UN-CRC.^{3–5}

CONTACT Federica Martino  federica.martino@unicampania.it

© 2020 Australian Academy of Forensic Sciences

UM status implies child rights protection, including the appointment of a guardian/representative to act in the best interest of the child (BIC), accommodation in special facilities for minors, tailored healthcare services, automatic access to education with a personalized learning plan, social welfare assistance and integration plans.⁶ Because children have special rights, needs and entitlements some immigrants declare a false age to gain these benefits.⁷

In this context, age assessment has a considerable importance because a child incorrectly assessed as an adult may be in danger if placed within an adult environment, while placing an adult incorrectly in a children's environment may expose children to risks.⁸

Furthermore, in forensic practice, age estimation in the living is crucial not only for refugee and asylum seekers procedures but also in criminal and civil proceedings, human trafficking, child pornography, old-age pension and competitive sports.⁹

The holistic multidisciplinary approach

Estimation of age represents a central focus of forensic anthropological analysis of the living¹⁰ and one of the two most popular topics in forensic anthropology research.¹¹ Since 2013, the UN International Children's Emergency Fund (UNICEF) and the European Asylum Support Office (EASO) recommend a multidisciplinary and holistic approach in forensic age assessment of UM based on a *gradual* implementation of the different methods available.^{12,13} This approach was proposed in 2012 by a joint initiative of the International Save the Children Alliance (ISCA) and the UN High Commissioner for Refugees (UNCHR), better known as the Separated Children in Europe Programme (SCEP). Aims were mainly referred to the promotion and protection of the rights of migrant UM that every State has the duty to ensure.⁵

According to these fundamentals, EASO and UNICEF developed recommendations, mostly guided by principles of medical ethics and, in particular, by the BIC addressed by Article 3 of the UN-CRC.^{4,12-14} The BIC should be a primary consideration in all actions concerning children among which, age assessment procedures are also established.

A multidisciplinary holistic approach involves medical and non-medical methods, including a child social interview, a paediatric auxological examination and a psychiatric or psychological evaluation, preferably performed together with an intercultural-linguistics mediator. Less intrusive non-medical methods, such as the child interview and the psychosocial examination, are recommended at first in order to assess cultural and psychological maturation.^{5,12,13}

Although quite subjective, this kind of evaluation has the priority compared with the more objective and reliable medical methods based on physical, developmental and radiological indicators. According to the holistic approach, the results from tests assessing the cultural and psychological maturity should have the same weight as the results from assessing physical, dental and skeletal development through medical procedures.^{12,13} Based on the gradual implementation of the age assessment process, methods involving radiation should be applied as the very last option when radiation-free methods are uncertain.^{12,13} Among the medical radiation-free methods, physical development assessment and dental observation are included, of course. Dental growth and emergence have long been recognized as the most useful criteria for assessing chronological/legal age through clinical observation and, even better, radiologically.^{1,9} In late adolescence, just about the critical age limit of 18 years,

the calcification process of third molars is usually completed.^{8,10} The walls of root canal become parallel and the apical ends tend to close.¹⁵ Unfortunately, they can be examined only by Orthopantomography (OPG) X-ray or a cephalometric radiograph.

However, according to the Australian Society of Forensic Odontology, the third molars are the most reliable indicators of dental maturity as they can correlate accurately with chronological age¹⁶, although they are quite variable with regard to size, time of formation, and sometimes they are congenitally absent, malformed, impacted or extracted.¹⁵ Similarly, EASO also claimed that wisdom tooth development provides the best way to discriminate between adulthood and childhood compared with other physical and radiological indicators.¹³

Dental age

According to these fundamentals, assessment of dental age through dental observation can be reliable up to the median age of 15–16 years, when all permanent teeth except the third molars have finished their development. In fact, if the third molar crowns are less than half complete, it is virtually certain that the subject is younger than 14 years old.¹⁵ Late in adolescence, only the wisdom teeth continue to form¹⁷ and their roots are the only dental structures that can be used for age estimation up to a median age of about 20–25 years, when apex closure has taken place.¹⁸

In forensic practice, the worldwide reference method for dental age estimation still remains Demirjian's system, which classifies eight different stages of crown and root formation used to score the third molar development.¹⁹ Adequate probabilities of age assessment based on the level of third molar formation were later provided by Mincer et al. who studied 823 American children, mostly Caucasians, aged between 14 and 24 years.¹⁵ Unfortunately, there is considerable controversy over the accuracy of an OPG for assessing age. Demirjian's system has been applied in comparison to nine different populations, showing differences in the wisdom tooth development in the age range considered.²⁰ A study suggests that the Demirjian's method is inappropriate to assess population differences in dental maturity, and adapting scores for age or age for scores for different groups of children is probably unnecessary.²¹

More recently, Cameriere et al. developed a method for estimating the age among Caucasians based on the relationship between age and the third molar maturity index (I_{3M}).²² The I_{3M} is defined as the ratio between the two apical pulp widths and the total tooth length of the left inferior third molar. If the root apex of the third molar is closed, the root development is completed and then $I_{3M} = 0$; in cases of incomplete development (open apices), the I_{3M} is evaluated as being the sum of the distances of the inner sides of open apices divided by the tooth length.²³ According to this approach, a cut-off value of $I_{3M} < 0.08$ was determined to assign an individual to adult age over 18 years or older with 95% confidence interval, thus discriminating adults from minors. The left inferior third molar is recommended for the measurements and assessment of I_{3M} due to its longer duration of development.²²

Unfortunately Demirjian's system as well as the I_{3M} can be investigated only by radiograph.

As for the radiographic examination of the bone maturity status, similar controversial issues have been raised for the radiographic evaluation of dental development. It should

be applied to a measure of last resort when in the BIC and according to the ethical principles of any radiographic assessment. Several European scientific associations consider X-ray age assessment inaccurate, unethical and potentially illegal.⁸ Similarly, some other Australasian scientific associations considered unethical the use of X-rays for non-clinical purposes (immigration control), especially if without informed consent, and no therapeutic benefit to the subject.²⁴

Aim of the study

The aim of this paper is to evaluate the ethical issues related to radiological methods such as the I_{3 M} and the Demirjian's system in the assessment of dental maturity and legal age, with a special focus on UM. According to Principlism, which is an applied ethic approach to the examination of moral dilemmas²⁵, ethical evaluation of the I_{3 M} method is performed and discussed through the four principles that form the core of modern bioethics discussion: autonomy, beneficence, non-maleficence and justice.²⁶

Autonomy

The principle of autonomy is based on the duty to protect and encourage the free and unforced choices of a patient.²⁷ In a health care setting, the principle of autonomy translates into the principle that any medical intervention should be preceded by the patient's valid informed consent. This is also true for the age assessment process. According to UNICEF and EASO guidelines, examinations should only be carried out with the consent of the child or his/her guardian.^{12,13} Article 12 of the UN-CRC outlines the child's right to participate in decision-making processes that impact upon them.⁴ However, in order to give valid consent, children need accurate information about the process of the assessment.

UM must be informed in a language that the child can understand in a gender-sensitive and age-appropriate manner (UN Committee General Comment).¹⁴ The method of examination and the possible consequences of the examination need to be explained in order to apply as asylum seekers. In the age assessment setting, several authors have pointed out that obtaining full and informed consent is not easy.²⁸ Linguistic and cultural barriers, the maturity of children, the inability to understand the consequences of a choice, past traumatizing experiences, should raise doubt on the validity of the consent of a UM. The information should concern the reasons for the assessment, the methods used and the consequences on health as well as on the request for asylum in case of a refusal.

In fact, the applicant has the right to refuse to undergo any medical examinations. Such refusal should not imply an automatic consideration of age of majority and should not prevent the determining authority from deciding on the application for international protection.²⁹

Regarding the informed consent to medical examination, there is wide agreement on the fact that many children possess the cognitive and emotional abilities to understand the consequences of their decisions, including their health care.³⁰ Already the Oviedo Convention on Human Rights and Biomedicine approved on 1997 stated (Art. 6) that the opinion of the minor should be taken into consideration as an increasingly determining factor in proportion to his/her age and degree of maturity.³¹ Nevertheless, as underlined

in the UN Committee on the Rights of the Child's General Comment No 6 (27), in conducting the age assessment no reference should be made to the status of the child as an asylum-seeker or refugee.¹⁴ The principle of confidentiality is intrinsically linked with safety considerations. The safety of the family members of the UM remaining in the country of origin may be endangered if the principle of confidentiality is not observed.

Non-maleficence

The principle of non-maleficence is based on the duty not to damage the patient.²⁷ I_{3M} and Demirjian's method are based on radiography and, therefore, radiation exposure cannot be avoided. In this regard, as well as for radiographic assessment of bone maturity, it is necessary to evaluate the potential risk comparing the exposure to natural and civil radiation with the one to X-rays related to the age assessment process.

In the forensic age assessment process, one of the main controversial issues related to X-ray methods is the non-clinical purpose and the risk of exposing to radiations subjects in the growth phase. This is particularly true for the radiological assessment of skeletal maturity commonly performed by X-rays of the left hand/wrist or the medial epiphysis of the clavicle, knee and even hip.⁹ In fact, radiological examination of the hand/wrist is still the most common and quick method used in 23 European countries for forensic estimation of skeletal age.^{13,32}

However, Directive 97/43/Euratom invites attention to be paid to radiation exposure of children since the net benefit to an individual must outweigh the risks of impairment.³³ According to the As-Low-As-Reasonably Achievable (ALARA) principle, medical methods using any ionizing radiation can be part of the holistic multidisciplinary approach only as last resort and only when the advantages exceed the risks of inflicting radiation impairment on an individual.⁸ EASO and UNICEF guidelines explicitly recommend that methods involving radiation should be used only if non-medical methods and radiation free-methods such as a physical or dental observation showed inconclusive results.^{12,13}

However, the features of the third molar development investigated through Demirjian's system and the I_{3M} both need radiation exposure. For example, the length of the roots of the inferior third molar is one of the main measurements considered by the I_{3M} along with the two apical pulp widths. They can be taken easily and directly from a dental X-ray of the single third molar. Therefore, it is worth of mentioning that the I_{3M} can be investigated by a digital intraoral X-ray, which is safer than a panoramic examination such as an OPG or a cephalometric radiograph.

The effective dose from an OPG is 0.02 mSv (millisieverts)³⁴ which is equivalent to three days background radiation, and even less when compared with an intraoral X-ray of the single wisdom tooth.³⁵ An individual can receive an annual radiation exposure from natural sources of about 3.1 mSv.³⁶ The radiation exposure from two OPGs is equivalent to the radiation exposure from an intercontinental flight.⁹ The mortality related to OPG (likelihood of fatal event 1:380,000) is much lower than other life risks, such as drowning (1:2900), homicide (1:530), accident (1:220), fall (1:140), myocardial infarction (1:20) and malignant tumour (1:7).³⁷ Few epidemiological articles have studied young children exposed to diagnostic radiation for long enough periods to assess the risk in adulthood.³⁸ However, the exposure level related to OPG or an intraoral dental X-ray can be classified as negligible risk to a person's health. In addition, the

ALARA principle requires that radiation can be justified, regardless of the dosage of any radiological procedure. In this regard, it is necessary to weight up the actual benefits of radiography with the potential damage that might be caused to a child. Dental imaging can bring significant benefits with a risk of limited damage. The benefits related to the application of OPGs largely outweigh the risks for UM of being misclassified as adults.⁸ The superior interest of children is subordinated to the exercise of the protection rights related to UM status recognition. The very low radiation exposure and the benefits related to age assessment satisfy the ALARA principle and the BIC. In any case, the exposure to radiation should only take place with the consent of the individual after he/she has been fully informed of the risks inherent in the procedure.³³

Beneficence

The principle of beneficence is based on the duty to promote good and act in the BIC.²⁷ The main question to be answered is 'when is an age assessment considered to be in the BIC?'

According to the BIC, any invasive or intrusive exams, including a physical inspection for the evaluation of sexual maturation and radiation exposure for teeth or bone analysis, must be avoided, although of invaluable assistance in the age-estimation practice (SCEP, EASO, UNICEF).^{5,12,13} The exhibition of physical parts at physical inspection can be traumatic and difficult to understand for children and adolescents with different cultural backgrounds. For this reason, any method involving nudity or the examination, observation or measurement of genitalia or intimate parts should not be used for forensic age assessment purposes.^{5,13} Especially when they are not justified by any clinical need or based on medical indication.

According to UNICEF standards, individuals should only be requested to undergo an age assessment when it is considered to be in the BIC. Age assessment procedures can only be initiated if non-medical and radiation-free methods are inconclusive and serious doubts about the child's age exist.¹² Serious doubts can frequently occur at the age of 18 years when physical and sexual indicators (height, weight, BMI, axillary and pubic hair distribution, breast enlargement in females, size of penis and scrotum in males) usually reflect an adult stage. Mineralization of third molar root apices by the $I_3 M$ and Demirjian's method can provide the most useful information for age assessment. Special protection measures such as health care and social services depend on the verification of the minor status because age is an essential part a child's identity. Therefore, if the age assessment procedure can help in the identification of a minor, imaging of teeth can be considered in agreement with the principle of beneficence mainly because its aim is to follow physical maturity in the BIC and for the protection of his/her rights from traffickers, conscription or dangerous works.¹¹

Unfortunately, radiological methods can take place only as a measure of last resort, although they are more objective and reliable than non-medical methods.¹² This is also related to the inaccuracy of the current methodologies in forensic age assessment. In fact, there are no exact methods able to estimate age with 100% accuracy³⁹ and an error in age assessment can result in a child being treated as an adult, or an adult as a child.⁴⁰ In the forensic field, the discrimination performance of any age estimation method should have better specificity (individuals correctly classified as minors) than sensitivity (individuals correctly classified as adults). In this regard, using Demirjian's eight-grade classification,

Mincer reported adequate probabilities of age assessment providing regression formulae to determine whether an individual is at least 18 years of age.¹⁵ If the root apex is completely closed (stage H of Demirjian's system), there is a high probability (90.1% for white males and 92.2% for white females) that an individual is at least 18.

However, Cameriere's $I_3 M$ shows a better specificity (the proportion of subjects correctly classified younger than 18 years based on $I_3 M > 0.08$) compared with Demirjian's stage G in adolescence, and a better sensitivity (the proportion of subjects correctly classified as older than or equal to 18 years based on $I_3 M < 0.08$) compared with Demirjian's stage H for adult age.²² A recent meta-analysis reports that the $I_3 M$ is also a suitable method for estimating adulthood for forensic purposes, since it has a high accuracy in discriminating if an individual has reached 18 years of age.⁴¹ An overall sensitivity for both sexes ranging from 51.8% to 93.4% and a specificity ranging from 86.2% to 100% have been reported with a total proportion of correctly classified individuals ranging from 74% to 95%.⁴²

Justice

The principle of justice is based on the equitable distribution of the life-enhancing opportunities afforded by health care.²⁷ Age assessment must be based on the application of general principles and human rights: presumption of childhood, care and protection prior to and during age assessment, primary consideration to the BIC, the rights to non-discrimination, confidentiality and data protection.⁴³ The UN-CRC establishes the non-discrimination principle that requires the equal treatment of an individual or group irrespective of their particular characteristics in order to assess neutral criteria and guarantee that human rights are exercised without discrimination.⁴

It would be wrong to discriminate against a child because of his/her or their parents/carers, age, race, religion, language, gender, national, ethnic or social origin, disability, sexual orientation, political or other status. In a forensic setting, age assessment should be based only on objective factors (Article 2 of the UN-CRC) and not on subjective factors, such as nationality, ethnicity and gender.^{4,14} Any age assessments should only be applied and undertaken without discrimination. In this regard, the risk/benefit analysis of the $I_3 M$ method is definitely in favour of children due to its better specificity than Demirjian's method. These methods require a very low dose of radiation compared with the benefits derived from the recognition of the UM status, especially in an age range where health care has limited resources against unlimited demand.⁴⁴

Furthermore, tooth development is less affected by external factors such as malnutrition or disease status, except ethnicity. There are differences in the wisdom teeth development between different population groups. Black Africans display a quicker third molar development compared with Europeans, while a slight delay in tooth mineralization has been recorded in Asian people.⁴⁵⁻⁴⁷ Several limitations of the Demirjian's method have also been raised, among which is the risk of inaccurate age assessment if applied to a modern and different ethnic group that is not the study sample of French-Canadian girls and boys analysed in 1973. Every age assessment method should provide population-specific standards to increase accuracy and the margin of error referred to population-specific reference studies. According to a review of 22 studies on different ethnic populations, the $I_3 M$ has resulted in being easy to use, with a slight risk of underestimation in

both sexes, and showing good reliability and reproducibility in the main ethnic groups and subgroups of different geographical distributions.⁴² The intra- and inter observer repeatability did not reveal any significant variability, indicating substantial homogeneity of evaluation between operators.²²

Conclusion

According to most of the immigration laws, a third-country national or stateless person under the age of 18 is a minor.²⁹ The legal age of a person has implications for the protection of the individual's rights not only related to the refugee status of UM but also for criminal responsibility, access to the labour market or to health care and social services, giving consent to marriage, reporting underage sexual relationships. However, only half of the UM under 5 years old in developing countries have their births registered.⁴⁸

Every State has the duty to protect the rights of UM but it is mandatory to establish first if the child is under or over the age of 18 years for the BIC: a child incorrectly assessed as an adult may be in danger if placed within an adult environment, while placing an adult incorrectly in a children's environment may expose children to risks.

A multidisciplinary and holistic approach based on a gradual implementation of medical and non-medical methods is recommended. However, the most objective medical investigations, like the imaging of teeth and collar or carpal bones are considered highly intrusive and ethically questionable because they are conducted without medical or therapeutic benefits, and they are also dangerous owing to radiation exposure.^{8,24}

Against these critical points, age estimation by the $I_3 M$ and Demirjian's classification seems to be performed according to ethical principles of autonomy, beneficence, non-malevolence, and justice.

Although these methods imply imaging of teeth based on OPG or an intraoral dental X-ray of the single third molar, they minimize the radiation exposure according to the ALARA principle.

The benefits related to the recognition of UM status largely outweigh the negligible risk related to radiation exposure. Dental imaging could be considered as the first option among the intrusive medical methods (non radiation-free) in agreement with the recommendations issued by EASO and UNICEF as well as by the Study Group on Forensic Age Diagnostic (AGFAD) and Forensic Anthropology Society of Europe.^{1,12,13,49} AGFAD and FASE recommend that chronological age estimation of a living person should be the result of a combined approach of medical methods only: (a) a physical inspection for recording anthropometric data, dental development, signs of sexual maturation and any age-relevant developmental disorders; (b) X-rays of the left hand for the assessment of bone maturity and of the medial epiphysis of the clavicle if the skeletal development of the wrist is completed; (c) a dental examination by OPG for the assessment of dental maturity if permanent teeth development is completed with the exception of third molars.^{1,49} Unfortunately, the margin of error can be substantial even by using combined methods due to the poor correlation between maturity (biological age) and chronological/legal age. In this regard, $I_3 M$ and Demirjian's classification are reliable quantitative methods designed specifically for differentiating childhood from adulthood for forensic purposes not for clinical purposes. The child's best interests are pursued in accordance to the principles of BIC and the benefit of the doubt. $I_3 M$ has a high degree of accuracy showing a better specificity (individuals correctly classified as

minors) than sensitivity (individuals correctly classified as adults) compared with the most common Demirjian technique.²² I_{3M} reference data are also obtained on modern study populations (from 2013 to 2019) covering all ethnic groups with different socio-economic characteristics from five continents while Demirjian's study sample is represented by French-Canadian girls and boys analysed in 1973. Compared with Demirjian's system, the I_{3M} is based on reproducible data, collected randomly but with a homogeneous sample size of age and gender, verified on a test sample, with a very good intra- and inter-observer reliability.²²

In our opinion, radiological techniques for the evaluation of the third molar development such as the I_{3M} and Demirjian's classification are valid methods for age estimation, lawful at ethical level. They are respectful of the principle of autonomy when the UM is adequately informed and freely agrees understanding the benefits and potential risks of the age assessment process.²⁷ They are both in compliance with the principles of beneficence and non-maleficence when age assessment is applied step-by-step according to the holistic approach and reducing the risk of physical, psychological or emotional harm.^{12,13} The use of conventional radiograph to the wisdom tooth only implies very low radiation exposure and can be considered respectful of the principle of non-maleficence according to ALARA.^{33,34} These radiological methods are also in compliance with the principle of justice as they provide an equal treatment for all individuals during age assessment without discrimination.^{27,43} Regarding asylum seekers, these methods are in favour of the child's benefits because the BIC to achieve the protection rights related to UM status recognition is fully satisfied.^{6,14}

Therefore, it would be appropriate to insert the radiological evaluation of the third molar development by I_{3M} and Demirjian's method in official international protocols dealing with the assessment of dental maturity and legal age in order to provide the degree of probability of age estimation according to sex and ethnic group. I_{3M} and Demirjian's system suffer the same limitations of other medical methods as none of the current techniques of age assessment are able to determine a specific age with certainty.⁴⁷ The benefit of the doubt should be always applied according to the margin of error referred to population-specific reference studies when results are inconclusive, and the individual must be treated as a child.^{12,13}

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the author(s).

Funding

This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

References

1. Schmeling A, Geserick G, Reisinger W, Olze A. Age estimation. *Forensic Sci Int.* 2007;165(2–3):178–181. doi:10.1016/j.forsciint.2006.05.016
2. The United Nations Refugee Agency. Global Trends. Forced displacement in 2018. 2019 [cited 2019 Dec 8]. Available from: <https://www.unhcr.org/statistics/unhcrstats/5d08d7ee7/unhcr-global-trends-2018.html>

3. UNICEF. Age matters! 2016 [cited 2020 May 7]. Available from: https://agemattersnow.org/downloads/YPL_Age_Matters_Final_Report_Oct2016.pdf
4. UN Commission on Human Rights, Convention on the Rights of the Child. 1990 [cited 2020 Apr 15]. Available from: <https://www.refworld.org/docid/3b00f03d30.html>
5. Separated Children in Europe Programme, Position Paper on Age Assessment in the Context of Separated Children in Europe. 2012 [cited 2020 May 11]. Available from: <https://www.refworld.org/docid/4ff535f52.html>
6. European Migrant Network. Approaches to unaccompanied minors following status determination in the EU plus Norway. Synthesis Report for the EMN Study. 2017 [cited 2019 Dec 8]. Available from: https://ec.europa.eu/homeaffairs/sites/homeaffairs/files/00_eu_synthesis_report_unaccompanied_minors_2017_en.pdf
7. Thevissen PW, Kvaal SI, Willems G. Ethics in age estimation of unaccompanied minors. *J Forensic Odontostomatol.* 2012;30(Suppl 1):84–102.
8. Aynsley-Green A, Cole TJ, Crawley H, Lessof N, Boag LR, Wallace RMM. Medical, statistical, ethical and human rights considerations in the assessment of age in children and young people subject to immigration control. *Br Med Bull.* 2012;102(1):17–42. doi:10.1093/bmb/lds014
9. Schmeling A. Forensic age estimation. In: Houck MM, editor. *Forensic Anthropology*. London: Academic Press; 2017. p. 120–145.
10. Ubelaker DH, Khosrowshahi H. Estimation of age in forensic anthropology: historical perspective and recent methodological advances. *Forensic Sci Res.* 2019;4(1):1–9. doi:10.1080/20961790.2018.1549711
11. Lei G, Liu F, Liu P, Zhou Y, Jiao T, Dang YH. 2019. Worldwide tendency and focused research in forensic anthropology: A bibliometric analysis of decade (2008–2017). *Leg Med (Tokyo).* 37:67–75. doi:10.1016/j.legalmed.2019.01.008
12. UN Children’s Fund (UNICEF), age assessment: a technical note. 2013 [cited 2020 May 11]. Available from: <https://www.refworld.org/docid/5130659f2.html>
13. European Asylum Support Office. EASO practical guide on age assessment. 2018 [cited 2019 Dec 8]. Available from: <https://www.easo.europa.eu/sites/default/files/easo-practical-guide-on-age-assesment-v3-2018.pdf>.
14. UN Committee on the Rights of the Child (CRC), General comment no. 6 (2005): treatment of unaccompanied and separated children outside their country of origin. 2005 [cited 2020 May 7]. Available from: <https://www.refworld.org/docid/42dd174b4.html>
15. Mincer HH, Harris EF, Berryman HE. The A.B.F.O. study of third molar development and its use as an estimator of chronological age. *J Forensic Sci.* 1993;38(2):379–390. doi:10.1520/JFS13418J
16. Australian Human Rights Commission. An age of uncertainty. 2012 [cited 2020 May 8]. Available from: https://humanrights.gov.au/sites/default/files/content/ageassessment/report/an_age_of_uncertainty.pdf
17. Kullman L, Johanson G, Akesson L. Root development of the lower third molar and its relation to chronological age. *Swed Dent J.* 1992;16(4):161–167.
18. Levesque GY, Demirjian A, Tanguay R. Sexual dimorphism in the development, emergence, and agenesis of the mandibular third molar. *J Dent Res.* 1981;60(10):1735–1741. doi:10.1177/00220345810600100201
19. Demirjian A, Goldstein H, Tanner JM. A new system of dental age assessment. *Hum Biol.* 1973;45(2):211–227.
20. Thevissen PW, Fieuws S, Willems G. Human third molars development: comparison of 9 country specific populations. *Forensic Sci Int.* 2010;201(1–3):102–105. doi:10.1016/j.forsciint.2010.04.054
21. Liversidge HM. Interpreting group differences using Demirjian’s dental maturity method. *Forensic Sci Int.* 2010;201(1–3):95–101. doi:10.1016/j.forsciint.2010.02.032
22. Cameriere R, Ferrante L, De Angelis D, Scarpino F, Galli F. The comparison between measurement of open apices of third molars and Demirjian stages to test chronological age of over 18

- year old in living subjects. *Int J Legal Med.* 2008;122(6):493–497. doi:10.1007/s00414-008-0279-6
23. Galić I, Lauc T, Brkić H, Vodanović M, Galić E, Biazevic MGH, Brakus I, Badrov J, Cameriere R. 2015. Cameriere's third molar maturity index in assessing age of majority. *Forensic Sci Int.* 252:191.e1–5. doi:10.1016/j.forsciint.2015.04.030
 24. The Australasian Pediatric Endocrine Group, the Royal Australasian College of Physicians, the Australian & New Zealand Society for Pediatric Radiology, and the Royal Australian and New Zealand College of Radiologist. Assessment of age of refugees and those persons accused of providing refugees with illegal access to Australia: the unethical use of Ionizing Radiation (X-Rays) and/or Genital examination. 2011 [cited 2019 Dec 8]. Available from: <https://www.ranzcr.com/special-interest-groups-anzspr>
 25. Henk ten Have. *Encyclopedia of Global Bioethics*. Switzerland: Springer Reference; 2016.
 26. Beauchamp TL, Childress JF. *Principles of biomedical ethics*. New York: Oxford University Press; 2001.
 27. Sulmasy LS, Bledsoe TA, Ethics ACP. Professionalism and Human Rights Committee. American college of physicians ethics manual: seventh edition. *Ann Intern Med.* 2019;170(2_Supplement):S1–S32. doi:10.7326/IsTranslatedFrom_M18-2160_Spanish
 28. Sauer PJ, Nicholson A, Neubauer D. Advocacy and Ethics Group of the European Academy of Paediatrics. Age determination in asylum seekers: physicians should not be implicated. *Eur J Pediatr.* 2016;175(3):299–303. doi:10.1007/s00431-015-2628-z
 29. European Parliament and Council of the European Union. Directive 2013/32/EU. 2013 [cited 2019 Dec 8]. Available from: <https://www.easo.europa.eu/sites/default/files/public/Dve-2013-32-Asylum-Procedures.pdf>
 30. Redding RE. Children's competence to provide informed consent for mental health treatment. *Wash Lee Law Rev.* 1993;50:696–751.
 31. Council of Europe. Convention for the protection of human rights and dignity of human being with regards to the application of biology and medicine: convention on human rights and biomedicine. 1997 [cited 2019 Dec 8]. Available from: www.coe.int/en/web/conventions/full-list/-/conventions/rms/090000168007cf98
 32. Angelakopoulos A, De Luca S, Campobasso CP, Martino F, De Micco F, Coccia E, Cameriere R. Skeletal age assessment by measuring planar projections of carpals and distal epiphyses of ulna and radius bones in a sample of South African subadults. *Australian Journal of Forensic Sciences.* 2020. doi:10.1080/00450618.2020.1766111
 33. Council of the European Union Council Directive 97/43/Euratom. 1997 [cited 2019 Dec 8]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/TXT/?uri=CELEX%3A31997L0043>
 34. Regulla DF, Eder H. Patient exposure in medical X-ray imaging in Europe. *Radiat Prot Dosimetry.* 2005;114(1–3):11–25. doi:10.1093/rpd/nch538
 35. Okano T, Sur J. Radiation dose and protection in dentistry. *Jpn Dent Sci Rev.* 2010;46(2):112–121. doi:10.1016/j.jdsr.2009.11.004
 36. United States Nuclear Regulatory Commission. Biological effects of radiation. 2017 [cited 2019 Dec 8]. Available from: <https://www.nrc.gov/reading-rm/doc-collections/fact-sheets/bio-effects-radiation.html>.
 37. Schmeling A, Schmidt S, Schulz R, Olze A, Reisinger W, Vieth V. Practical imaging techniques for age evaluation. In: Black A, Payne-James J, Aggrawal A, editors. *Age estimation in the living: the practitioners guide*. Hoboken: John Wiley & Sons; 2010. p. 130–149.
 38. Linet MS, Slovis TL, Miller DL, Kleinerman R, Lee C, Rajaraman P, Berrington de Gonzalez A. Cancer risks associated with external radiation from diagnostic imaging procedures. *CA Cancer J Clin.* 2012;62(2):75–100. doi:10.3322/caac.21132
 39. Gulsahi A, De Luca S, Cehreli SB, Tirali RE, Cameriere R. 2016. Accuracy of the third molar index for assessing the legal majority of 18 years in Turkish population. *Forensic Sci Int.* 266:584.e1–584.e6. doi:10.1016/j.forsciint.2016.04.034
 40. Pinchi V, Norelli GA, Bartolini V. Ethical implications of Italian legislation on 'epilepsy and driving'. *J Med Ethics.* 2014;40(8):552–557. doi:10.1136/medethics-2012-100863

41. Santiago BM, Almeida L, Cavalcanti YW, Magno MB, Maia LC. Accuracy of the third molar maturity index in assessing the legal age of 18 years: a systematic review and meta-analysis. *Int J Legal Med.* 2018;132(4):1167–1184. doi:10.1007/s00414-017-1766-4
42. De Micco F, Martino F, Velandia Palacio LA, Cingolani M, Campobasso CP. Third molar maturity index and legal age in different ethnic populations. *Med Sci Law.* Forthcoming 2019.
43. Wenke D. Council of Europe. Age assessment: council of Europe member states' policies, procedures and practices respectful of children's rights in the context of migration. 2017 [cited 2019 Dec 8]. Available from: <https://rm.coe.int/age-assessment-council-of-europe-member-states-policies-procedures-an-d/168074b723>
44. Ransom H, Olsson JM. Allocation of health care resources: principles for decision-making. *Pediatr Rev.* 2017;38(7):320–329. doi:10.1542/pir.2016-0012
45. Olze A, Schmeling A, Taniguchi M, Maeda H, Niekerk PV, Wernecke KD, Geserick G. Forensic age estimation in living subjects: the ethnic factor in wisdom tooth mineralization. *Int J Legal Med.* 2004;118(3):170-173. doi:10.1007/s00414-004-0434-7
46. Olze A, Niekerk PV, Ishikawa T, Zhu BL, Schulz R, Maeda H, Schmeling A. Comparative study on the effect of ethnicity on wisdom tooth eruption. *Int J Legal Med.* 2007;121(6):445–448. doi:10.1007/s00414-007-0171-9
47. Introna F, Campobasso CP. Biological vs legal age of living individuals. In: Schmitt A, Cunha E, Pinheiro J, editors. *Forensic anthropology and medicine. Complementary sciences from recovery to cause of death.* New York: Humana Press; 2006. p. 57–82.
48. UNICEF. Progress for children: achieving the MDGs with equity. 2010 [cited 2019 Dec 8]. Available from: https://www.unicef.org/publications/files/Progress_for_Children-No.9_EN_081710.pdf
49. Cunha E, Baccino E, Martrille L, Ramsthaler F, Prieto J, Schuliar Y, Lynnerup N, Cattaneo C. The problem of aging human remains and living individuals: a review. *Forensic Sci Int.* 2009;193(1–3):1–13. doi:10.1016/j.forsciint.2009.09.008

IV.3 Indice di maturità del terzo molare (I_{3M}) e stima dell'età cronologica in popolazioni di differente etnia

Sono stati considerati 22 studi inerenti l'applicazione dell'indice di maturità del terzo molare (I_{3M}) su popolazioni di diversa provenienza geografica, rappresentativi di tutti e cinque i continenti e comprendenti diversi sottogruppi etnici.

I dati analizzati mostrano come il rischio di sovrastimare l'età legale dell'adolescenza sia piuttosto basso utilizzando l'indice di maturità del terzo molare, ma non si possono escludere valutazioni imprecise dell'età cronologica in base ai risultati complessivi di sensibilità e specificità.

Al riguardo, la sensibilità attiene alla capacità della metodica di identificare correttamente i soggetti maggiorenni mentre la specificità indica la capacità della metodica di identificare correttamente i soggetti minorenni.

La maturità dentale valutata mediante l'applicazione della metodica I_{3M} ha mostrato: una sensibilità complessiva compresa tra il 51,8% registrato in Arabia Saudita (*AlQahtani et al., 2017*) ed il 93,4% della popolazione colombiana (*Dardouri et al., 2016*); una specificità compresa tra l'86,2% riportata in Brasile (*Deitos et al., 2015*) ed il 100% riportata in Turchia e Libia (*Dardouri et al., 2015; Gulsahi et al., 2016*); una proporzione di individui classificati correttamente compresa tra il 74% in Arabia Saudita (*AlQahtani et al., 2017*) ed il 95% in Turchia (*Gulsahi et al., 2016*).

I dati disaggregati per il genere maschile hanno mostrato una sensibilità complessiva compresa tra il 52,3% in Arabia Saudita (*AlQahtani et al., 2017*) ed il 96,2% in Kosovo (*Kelmendi et al., 2018*), una specificità compresa tra l'85% riportata in Australia (*Franklin et al., 2016*) ed il 100% riportata in Turchia, Libia ed Arabia Saudita (*Dardouri et al., 2015; Gulsahi et al., 2016; AlQahtani et al., 2017*) ed una proporzione di individui classificati correttamente compresa tra il 75,6% in Arabia Saudita (*AlQahtani et al., 2017*) ed il 97,6% in Turchia (*Gulsahi et al., 2016*).

Per la popolazione femminile, la revisione sistematica ha mostrato una sensibilità complessiva compresa tra il 51,3% in Arabia Saudita (*AlQahtani et al., 2017*) ed il 95,1% in Colombia (*De Luca et al., 2016*), una specificità



compresa tra il 67,2% in Brasile (*Deitos et al., 2015*) ed il 100% in Turchia e Libia (*Dardouri et al., 2015; Gulsahi et al., 2016*) ed una proporzione di individui classificati correttamente compresa tra il 72,4% in Arabia Saudita (*AlQahtani et al., 2017*) ed il 94,5% in Libia (*Dardouri et al., 2015*).

Sulla base di questi risultati, l'I_{3M} risulta un metodo affidabile in ambito forense in grado di esprimere i margini di errore in relazione al sesso ed alla provenienza geografica. Gli esaminatori sono tenuti a considerare questo margine di errore in tutte le valutazioni eseguite a scopo medico-legale.

Lo studio, che di seguito si riporta integralmente, è stato pubblicato dalla rivista *Medicine, Science and the Law* (*De Micco et al., 2021*)

Third molar maturity index and legal age in different ethnic populations: Accuracy of Cameriere's method

Medicine, Science and the Law
2021, Vol. 61(1S) 105–112
! The Author(s) 2020
Article reuse guidelines:
sagepub.com/journalsPermissions
DOI: 10.1177/0025802419900686
journals.sagepub.com/home/msl
SAGE

Francesco De Micco¹, Federica Martino² ,
Luz Andrea Velandia Palacio³, Mariano Cingolani³  and
Carlo Pietro Campobasso^{1,2}

Abstract

Molar development is widely accepted as a reliable indicator of chronological age in a forensic context. A quantitative method for age estimation has been proposed by Cameriere et al. based on the relationship between chronological age and the third molar maturity index (I_{3M}), which is the ratio between the two apical pulp widths and the total tooth length. Cameriere's cut off value of 0.08 was found to be a reliable tool in assessing the threshold of 18 years of age. The aim of this study was to evaluate the accuracy of the I_{3M} in different ethnic populations focusing on its specificity (subjects correctly classified as < 18 years based on $I_{3M} > 0.08$) and sensitivity (subjects correctly classified as ≥ 18 years based on $I_{3M} < 0.08$). A review of 22 scientific articles was performed, representing data from panoramic radiographs of 12,286 individuals (5723 males and 6563 females) from all over the world, including some ethnical subgroups. The I_{3M} showed an overall sensitivity for both sexes ranging from 51.8% to 93.4% and a specificity ranging from 86.2% to 100%. The proportion of correctly classified individuals ranged from 74% to 95%. These results can be useful to refer the age estimation with the margin of error of subjects correctly classified as minors (specificity) or adults (sensitivity), according to sex, ethnicity and geographical distribution. The I_{3M} can be considered a suitable method for estimating adulthood in forensic settings, regardless of sex. However, ethnic group can affect the accuracy.

Keywords

Age estimation, third molar, dental age, Cameriere's method, legal age, forensic odontology

Introduction

Forensic age estimation in the living is crucial in criminal and civil proceedings, such as for refugee and asylum seeker procedures, human trafficking, child pornography, old-age pension and competitive sports.¹ The determination of adult or juvenile status is a scientific and legal challenge that forensic professionals need to solve using reliable methods.² According to the recommendations issued by the Study Group on Forensic Age Diagnostic (AGFAD) and Forensic Anthropology Society of Europe (FA SE), chronological age estimation of a living person should consist of:

- a physical inspection for recording anthropometric data, signs of sexual maturation and any age-relevant developmental disorders;
- X-rays of the left hand for the assessment of bone maturity or conventional radiography/computed tomography of the medial epiphysis of the clavicle

if the skeletal development of the wrist is completed; and

- a dental examination and an orthopantomogram for the assessment of dental maturity.^{1,3–5}

Regarding dental age estimation, methods commonly applied in adolescence are based on tooth development

¹Dipartimento di Medicina e Scienze della Salute 'Vincenzo Tiberio', Università del Molise, Italy

²Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università della Campania 'Luigi Vanvitelli', Italy

³Istituto di Medicina Legale, Università di Macerata, Italy

Corresponding author:

Federica Martino, Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università della Campania 'Luigi Vanvitelli', via Santa Maria di Costantinopoli 16, 80138, Naples, Italy.

Email: federica.martino@unicampania.it

compared to a set of developmental stages charts,^{6,7} while in late adolescence such an estimation is based on the crown and root features of the third molar, such as Demirjian's system.⁸

The mineralisation of permanent teeth is very helpful until the age of 15–16 years, when second molars have also finished their development.^{6,7,9} However, in many countries, 18 years is the age of majority at which the individual is generally defined as an adult.¹⁰ With specific reference to this threshold of adulthood, third molars are the last teeth to complete their development, and therefore they represent the best dental indicators of legal age.^{11,12} In fact, the development of third molars takes place between 14 and 23 years of age, during a specific age span from late adolescence to early adulthood, when their mineralisation is completed in most healthy individuals.^{6,7,9,13,14}

Mincer et al.¹⁵ first recommended the use of the molar development as an estimator of chronological age in forensic context using Demirjian's system.^{8,15} More recently, Cameriere et al.¹⁶ developed a method for estimating age among Caucasian people and discriminating adults and minors based on the relationship between age and the third molar maturity index (I_{3M}). The I_{3M} is defined as the ratio between the two apical pulp widths and the total tooth length.¹⁷ According to this approach, a cut-off I_{3M} value of <0.08 was determined in order to assign an individual as an adult age ≥ 18 years with a 95% confidence interval. The left inferior third molar is recommended for the measurements and assessment of I_{3M} due to its longer duration of development.¹⁶ In this regard, it is well known that the root growth in the third upper molar finishes earlier than the lower one.^{6,7,9,16} Cameriere's I_{3M} showed a better specificity (the proportion of subjects correctly classified as <18 years based on $I_{3M} > 0.08$) compared to Demirjian's stage G in adolescence and a better sensitivity (the proportion of subjects correctly classified as ≥ 18 years based on $I_{3M} < 0.08$) compared to Demirjian's stage H for adult age.¹⁶ Furthermore, the use of the I_{3M} method can be particularly suitable when used in conjunction with the other skeletal maturity markers.¹⁸

However, the application of Cameriere's I_{3M} is strongly dependent upon the presence of the third molars, which may be congenitally absent or surgically removed.^{17,19} Unfortunately, if the root development of the third molar is complete, there is no possibility of measuring the open apices, and therefore the I_{3M} is always <0.08 (adult). Therefore, the possibilities of using this method for assessing the age of majority are limited by the variable duration of the third molar's development. There are also a wide range of factors associated with the timing of maturation, including genetic, biological and environmental

influences, which can affect the time of appearance and progression of maturity indicators.²⁰ Based on the variability in geographical distribution of dental maturity and physical development according to ethnicity, nutrition and socio-economic status, the aim of this study was to evaluate the accuracy of Cameriere's method as applied to different populations, and the sensitivity and specificity of the I_{3M} cut-off value (0.08) in discriminating adults and minors.

Methods

A critical literature review was conducted independently by two examiners. Studies evaluating the accuracy of Cameriere's I_{3M} method¹⁷ were derived from the following electronic databases: PubMed, Scopus, ISI Web of Science and System for information on Grey Literature in Europe (SIGLE).

Exclusion criteria were studies not having primary data (editorials, literature reviews, commentaries, case reports, letters), studies where I_{3M} was compared to other age estimation methods, studies not reporting data on sensitivity and specificity of the I_{3M} cut-off value and studies not in English. No filters were applied for the date of publication.

Two examiners independently provided an initial selection of articles to determine whether they might potentially fit the inclusion criteria. Disagreements were solved between the two examiners; if no agreement could be reached, it was resolved using a third co-author as a reviewer.

A data extraction sheet was developed and for each selected study, and the following items were recorded: first author's name, year of publication, study's country, sample size (overall, male and female), age range, sensitivity, specificity and accuracy (overall, male and female when available).

Results

The search of PubMed, Scopus, ISI Web of Science and SIGLE databases provided a total of 973 articles. Of these, 951 studies were discarded because they did not meet the inclusion criteria following review (studies in English with primary data on sensitivity and specificity of the I_{3M} cut-off value).

A total of 22 research studies were identified and were included in the critical literature review.^{2,12,16,19,21–38} In Table 1, the main findings of the 22 studies are summarised, including country, sample size (male and female), age range, sensitivity, specificity and data accuracy according to sex and 95% confidence interval.

The 22 studies cover a huge population, from five continents of the world, including Africa, Asia, Australia, Europe and South America. The three

Table 1. Data from selected articles showing sensitivity, specificity and accuracy.

Author (year)	Country	Sample size (male/female)	Age range	Sensitivity, male (%)	Specificity, male (%)	Sensitivity, female (%)	Specificity, female (%)	Sensitivity, male and female (%)	Specificity, male and female (%)	Accuracy (%)	95 confidence interval (%)
AlQahtani et al. (2017) ²¹	Saudi Arabia	272 (127/145)	14–22	52.3	100	51.3	97	51.8	98.5	m: 75.6 f: 72.4	87–91
Angelakopoulos et al. (2017) ²²	South Africa	833 (333/500)	14–24	–	–	–	–	80	95	90	
Antunovic et al. (2018) ²³	Montenegro	683 (324/359)	13–24	92	94	82	96	87	95	m: 93 f: 89	m: 90–96 f: 85–91
Balla et al. (2017) ²	India	150 (79/71)	7–15	90.2	95.1	83.3	98.3	86.7	96.7	m: 93.1 f: 91.2	m: 88.2–98 f: 86–96.4
Boyacioglu et al. (2017) ¹⁹	Holland	360 (180/180)	14–22	84	95	72.7	96.3	78.3	95.6	m: 88.9 f: 83.3	m: 83.3–91.8 f: 77.7–85.8
Cameriere et al. (2014) ²⁴	Albania	286 (134/152)	15–22	94.1	90.9	75.4	96.6	84.7	93.7	m: 92.5 f: 87.5	m: 85.9–96.2 f: 81.2–90.4
Cameriere et al. (2018) ²⁵	Chile	822 (350/472)	11–22	–	–	–	–	70.5	88.4	m & f: 83	
Cavric et al. (2016) ²⁶	Botswana	1294 (582/712)	13–23	88	94	88	96	88	95	m: 91 f: 92	m: 88–93 f: 90–93
Chiu et al. (2018) ²⁷	China	840 (420/420)	12–25	87.1	95.6	77.2	98.4	82.1	97	m: 90.7 f: 87.6	m: 87.9–93.5 f: 84.5–90
Dardouri et al. (2016) ²⁸	Libya	307 (144/163)	14–22	90.9	100	90.6	100	90.7	100	m: 95.1 f: 94.5	m: 91.5–98.7 f: 90.9–98.1
De Luca et al. (2013) ¹²	Italy	397 (205/192)	13–22	–	–	–	–	86.6	95.7	91.4	
De Luca et al. (2016) ²⁹	Colombia	288 (125/163)	13–22	91.7	90.6	95.1	93.8	93.4	92.2	m: 91.2 f: 94.4	
Deitos et al. (2015) ³⁰	Brazil	444 (205/239)	11–22	87.6	86.9	86.5	67.2	77.4	86.2	87.4	
Franklin et al. (2016) ³¹	Australia	143 (72/71)	14–22	90	85	90	88	90	86.5	m: 87 f: 88	m: 80–95 f: 81–96
Galic et al. (2015) ¹⁶	Croatia	1336 (578/758)	14–23	91.2	91.9	84.3	95.4	87.7	93.5	m: 91.5 f: 88.8	m: 89–93.5 f: 86.3–90.9
Gulsahi et al. (2016) ³²	Turkey	293 (128/165)	14–22	94.6	100	85.9	100	90.2	100	m: 97.6 f: 92.7	
Kelmendi et al. (2017) ³³	Kosovo	1221 (543/678)	12–23	96.2	97.6	82.6	99.1	89.4	98.3	m: 96.8 f: 90.9	m: 92.6–98.5 f: 87–91.7
Kumagai et al. (2019) ³⁸	Japan	276 (139/137)	14–24	89	96	84	93	86.5	94.5	m: 91 f: 87	m: 87–96 f: 81–93

(continued)

Table 1. Continued

Author (Year)	Country	Sample size (male/female)	Age range	Sensitivity, male (%)	Specificity, male (%)	Sensitivity, female (%)	Specificity, female (%)	Sensitivity, male and female (%)	Specificity, male and female (%)	Accuracy (%)	95 confidence interval (%)
Rózyło-Kalinowska et al. (2018) ³⁴	Poland	982 (547/435)	15–24	86.2	91.2	82.6	93	84.4	92.1	87.6	m: 84.8–90.3 f: 82–88.6
Spinas et al. (2018) ³⁵	Sardinia (Italy)	131 (63/68)	16–23	85	91	79	100	82	95	87	m: 84.8–90.3 f: 82–88.6
Tafrount et al. (2018) ³⁷	France	339 (155/184)	14–22	87.1	95.3	81.3	96.2	84.2	95.7	84	m: 82–91 f: 78–89
Zelic et al. (2015) ³⁶	Serbia	589 (290/299)	13–24	96	94	86	98	91	96	95	m: 92–98 f: 87–92

great human races (white, black and Asian) are also represented, including some ethnical subgroups such as Latino Americans,^{25,29,30} black and white Africans,^{22,26,28} Saudi Arabians,²¹ Indians,² Chinese²⁷ and Japanese.³⁸

The total number of individuals recruited in the analysed studies was 12,286 (5723 males and 6563 females) mostly with an age range of 14–24 years. The geographical distribution of the individuals was: 6324 from European countries (Albania, Croatia, France, Italy, Sardinia, Kosovo, Montenegro, Netherlands, Poland and Serbia), 1554 from South America (Brazil, Chile and Colombia), 1830 from Asia (China, India, Saudi Arabia, Turkey and Japan), 2434 from Africa (Botswana, Libya and South Africa) and 143 from Australia.

The dental maturity of the above study group assessed by the I_{3M} showed an overall sensitivity for both the male and female samples ranging from 51.8% (Saudi Arabia)²¹ to 93.4% (Colombia)²⁹ and a specificity ranging from 86.2% (Brazil)³⁰ to 100% (Libya and Turkey).^{28,32} Regarding the proportion of individuals correctly classified as ≥ 18 years of age ($I_{3M} < 0.08$), it is worth mentioning that the second lowest value of sensitivity after the one reported in the Saudi Arabia population (51.8%)²¹ was found in Chile (70.5%).²⁵ The overall proportion of correctly classified individuals was between 74% (Saudi Arabia)²¹ and 95% (Turkey).³²

In Figure 1, the distribution of sensitivity, specificity and accuracy calculated for each country is represented by histograms.

In terms of sex, for the male sample only, the sensitivity ranged from 52.3% (Saudi Arabia)²¹ to 96.2% (Kosovo)³³ and the specificity from 85% (Australia)³¹ to 100% (Saudi Arabia, Libya and Turkey).^{21,28,32} For the female sample, the sensitivity was between 51.3% (Saudi Arabia)²¹ and 95.1% (Colombia),²⁹ and the specificity was between 67.2% (Brazil)³⁰ and 100% (Libya and Turkey).^{28,32} Unfortunately, three studies did not provide data according to sex analysis, and they were from South Africa,²² Chile²⁵ and Italy.^{12,35}

In terms of geographical distribution, for the European population, the lowest sensitivity value was 78.3% found in Holland,¹⁹ while the highest was 91% reported in Serbia.³⁶ The minimum and maximum values of specificity were 92.1% in Poland³⁴ and 98.3% in Kosovo,³³ respectively. The overall proportion of individuals correctly classified (accuracy) ranged between 85.1% (Sardinia)³⁵ and 93% (Serbia).³⁶ For the African countries, the minimum and maximum values of sensitivity were 80% in South Africa²² and 90.7% in Libya, respectively.²⁸ The specificity range was between 95% (Botswana and South Africa)^{22,26} and 100% (Libya),²⁸ while the

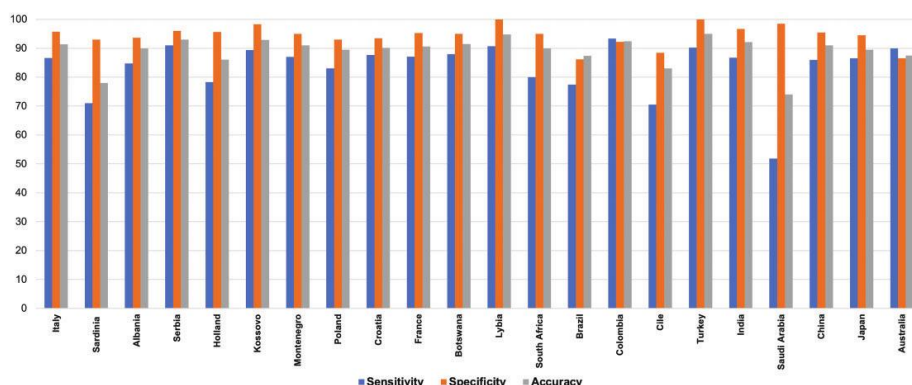


Figure 1. Distribution of sensitivity, specificity and accuracy by country.

accuracy ranged between 90% (South Africa)²² and 94.8% (Libya).²⁸ For the Asian population, the sensitivity ranged from 51.8% (Saudi Arabia)²¹ to 90.2% (Turkey),³² the specificity from 94.5% (Japan)³⁸ to 100% (Turkey)³² and the proportion of individuals correctly classified from 74% (Saudi Arabia)²¹ to 95% (Turkey).³² In Latin American populations, the sensitivity ranged from 70.5% (Chile)²⁵ to 93.4% (Colombia),²⁹ the specificity from 86.2% (Brazil)³⁰ to 92.2% (Colombia)²⁹ and the accuracy from 83% (Chile)²⁵ to 92.4% (Colombia).²⁹

Discussion

The demand for forensic age determination in living individuals is growing all over the world. According to the 2017 Global Trends Report, by the end of the 2017, 68.5 million individuals had been identified as having been forcibly displaced throughout the world as a result of feared persecution, internal conflicts or generalised violence.³⁹ About 3.1 million people asylum seekers are still waiting for a decision on their application, and 173,800 are unaccompanied minors.³⁹ Moreover, in developing countries, only half of children younger than five years of age have birth certificates.⁴⁰ For individuals with no valid proof of birth date (also known as legal age), age estimation is therefore crucial, and it represents one of the main requests made by police and judicial authorities.¹⁹ There is wide agreement in the literature that the most appropriate approach to legal age estimation of a living person must include the assessment of somatic and sexual maturity as well as of skeletal and dental maturity by radiographic examinations.^{3-5,41,42} Dental growth and emergence have long been recognised as the most useful criteria, especially in adolescents and young adults, and

several methods are available.^{8,15,16} Unfortunately, the margin of error can be substantial, even when using combined methods.^{3,43} In fact, no method is able to estimate age 100% precisely.³² An error in estimating legal age can result in a child being treated as an adult, or an adult as a child.⁴⁴ According to the FASE and AGFAD recommendations, the estimates should necessarily refer to the margin of error or the possible range of variation around the mean associated with the particular method adopted.³ Cameriere's method provides such a margin of error for males and females according to their geographical distribution. In this regard, the I_{3M} can provide reliable support for chronological age assessment.^{14,19} The proportion of individuals correctly classified as ≥ 18 years of age ($I_{3M} < 0.08$) is $>70.5\%$ in all countries, except for the Saudi Arabia sample (51.8%).²¹ This can be considered as poor sensitivity if compared to the higher specificity of the I_{3M} cut-off value ranging from 86.2% (Brazil)³⁰ to 100% (Libya and Turkey).^{28,32} However, this is a relevant result considering that, based on the present critical review, the high proportion of subjects correctly classified as < 18 years of age (based on $I_{3M} > 0.08$) is fully consistent with the principles of medical ethics. It has been emphasised¹⁶ that from a forensic perspective, the discrimination performance of any age estimation method should have better specificity than sensitivity, reducing the risk of overestimating the chronological age of adolescence. Based on inaccurate estimates, authorities could incarcerate minors in adult detention centres, which are unsafe and inappropriate for children, not protecting children from child labour or early marriage.^{10,41} Minors must be treated as children, with the full benefit of safeguarding through being children in care.¹⁸ Therefore, within a forensic context, it is ethically better to underestimate the age of an

individual because of the judicial implications involving a possible adult.

The overall results show a lower sensitivity of 84.3% and higher specificity of 94.4% compared to a previous meta-analysis (94.6% and 88.8%, respectively) that did not include nine recently published research studies^{19,22,23,25,33–35,37,38} dealing with the application of the I_{3M} to other ethnical subgroups (e.g. Chinese, Japanese, South African and Chilean people). Of course, the I_{3M} has some limitations mainly related to its variation in position, morphology and development.^{6,7,9} Such limitations should be underlined in any expert opinion in order to protect the person from the risk of overestimation.

The results of this meta-analysis show that Cameriere's I_{3M} is easy to use and practical for forensic practitioners, with a slight risk of under-estimation in both sexes. The I_{3M} method also shows good reliability and reproducibility in the main ethnic groups and different subgroups according to their geographical distribution. In fact, the cut-off value (0.08) is a reliable and valuable threshold for discriminating adults and minors (high specificity in both sexes for every population studied), even in geographically isolated populations. It is worth mentioning that positive results of reliability and reproducibility were also found in a unique population such as Sardinians, known as one of the most extreme in its relative lack of heterogeneity.³⁵

Actually, it is not fully understood how ethnic origin can influence tooth development. A comparative study of wisdom tooth mineralisation has been carried in white, Asian and African populations on the basis of Demirjian's stages.⁴⁵ Based on their results, the authors recommended the use of population-specific standards in order to enhance the accuracy of forensic age estimation.⁴⁵ In this regard, the I_{3M} method can be applied all over the world, according to the margin of error of living subjects correctly classified as minor (specificity) or adults (sensitivity) found in each country for males and females.

Conclusion

Forensic science evidence is closely linked to the rates at which examiners make errors.^{46,47} The I_{3M} provides such error rates for males and females according to the geographical distribution of population spread across five continents. The risk of overestimating the legal age of adolescence is pretty low using the I_{3M} method, but inaccurate estimates of chronological age cannot be excluded according to the overall results of sensibility and specificity. Although the I_{3M} is a suitable method

in forensic settings, examiners must be careful in any legal age assessment, keeping in mind the known rate of error of such evidence and its probative value.


Declaration of conflicting interests


The authors declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship and/or publication of this article.

Funding

The authors received no financial support for the research, authorship and/or publication of this article.

ORCID iDs

Federica Martino  <https://orcid.org/0000-0002-0063-3890>

Mariano Cingolani  <https://orcid.org/0000-0003-1916-1819>

References

- Schmeling A. Forensic age estimation. In: Houck MM (ed) *Forensic anthropology*. London: Academic Press, 2017, pp.120–145.
- Balla SB, Galic I, Karunaker P, et al. Validation of third molar maturity index (I_{3M}) for discrimination of juvenile/adult status in South Indian population. *J Forensic Leg Med* 2017; 49: 2–7.
- Introna F and Campobasso CP. Biological vs legal age of living individuals. In: Schmitt A, Cunha E and Pinheiro J (eds) *Forensic anthropology and medicine. Complementary sciences from recovery to cause of death*. New York: Humana Press, 2006, pp.57–82.
- Cunha E, Baccino E, Martrille L, et al. The problem of aging human remains and living individuals: a review. *Forensic Sci Int* 2009; 193: 1–13.
- Schmeling A, Geserick G, Reisinger W, et al. Age estimation. *Forensic Sci Int* 2007; 165: 178–181.
- AlQahtani SJ, Hector MP and Liversidge HM. Brief communication: the London atlas of human tooth development and eruption. *Am J Phys Anthropol* 2010; 142: 481–490.
- Ubelaker DH. *Human skeletal remains: excavation, analysis, interpretation*. 2nd ed. Washington, DC: Taraxacum, 1989.
- Demirjian A, Goldstein H and Tanner JM. A new system of dental age assessment. *Hum Biol* 1973; 45: 211–227.
- Anderson DL, Thompson GW and Popovich F. Age of attainment of mineralization stages of the permanent dentition. *J Forensic Sci* 1976; 21: 191–200.
- Black S, Aggrawal A and Payne-James J. *Age estimation in the living: the practitioner's guide*. New York: Wiley-Blackwell, 2010.
- Liversidge HM. Timing of human mandibular third molar formation. *Ann Hum Biol* 2008; 35: 294–321.
- De Luca S, Pacifici A, Pacifici L, et al. Third molar development by measurements of open apices in an Italian

- sample of living subjects. *J Forensic Leg Med* 2016; 38: 36–42.
13. Thevissen PW, Fieuids S and Willems G. Human third molars development: comparison of 9 country specific populations. *Forensic Sci Int* 2010; 201: 102–105.
 14. Thevissen PW, Alqerban A, Asaumi J, et al. Human dental age estimation using third molar developmental stages: accuracy of age predictions not using country specific information. *Forensic Sci Int* 2010; 201: 106–111.
 15. Mincer HH, Harris EF and Berryman HE. The ABFO study of third molar development and its use as an estimator of chronological age. *J Forensic Sci* 1993; 38: 379–390.
 16. Cameriere R, Ferrante L, De Angelis D, et al. The comparison between measurement of open apices of third molars and Demirjian stages to test chronological age of over 18 year olds in living subjects. *Int J Legal Med* 2008; 122: 493–497.
 17. Galić I, Lauc T, Brkić H, et al. Cameriere's third molar maturity index in assessing age of majority. *Forensic Sci Int* 2015; 252: 191.e1–5.
 18. De Luca S, Biagi R, Begnoni G, et al. Accuracy of Cameriere's cut-off value for third molar in assessing 18 years of age. *Forensic Sci Int* 2014; 235: 102.e1–6.
 19. Boyacıoğlu Doğru H, Gulsahi A, Çehreli SB, et al. Age of majority assessment in Dutch individuals based on Cameriere's third molar maturity index. *Forensic Sci Int* 2018; 282: 23.
 20. Cameron N and Jones LL. Growth maturation and age. In: Black S, Aggrawal A and Payne-James J (eds) *Age estimation in the living: the practitioner's guide*. New York: Wiley-Blackwell, 2010, pp.95–129.
 21. AlQahtani SJ, Kawthar A, AlAraik A, et al. Third molar cut-off value in assessing the legal age of 18 in Saudi population. *Forensic Sci Int* 2017; 272: 64–67.
 22. Angelakopoulos N, De Luca S, Velandia Palacio LA, et al. Third molar maturity index (I_{3M}) for assessing age of majority: study of a black South African sample. *Int J Legal Med* 2018; 132: 1457–1464.
 23. Antunovic M, Galic I, Zelic K, et al. The third molars for indicating legal adult age in Montenegro. *Leg Med* 2018; 33: 55–61.
 24. Cameriere R, Santoro V, Roca R, et al. Assessment of legal adult age of 18 by measurement of open apices of the third molars: study on the Albanian sample. *Forensic Sci Int* 2014; 245: 205.e1–5.
 25. Cameriere R, Velandia Palacio LA, Pinares J, et al. Assessment of second (I_{2M}) and third (I_{3M}) molar indices for establishing 14 and 16 legal ages and validation of the Cameriere's I_{3M} cut-off for 18 years old in Chilean population. *Forensic Sci Int* 2018; 285: 205.e1–5.
 26. Cavrić J, Galić I, Vodanović M, et al. Third molar maturity index (I_{3M}) for assessing age of majority in a black African population in Botswana. *Int J Legal Med* 2016; 130: 1109–1120.
 27. Chu G, Wang YH, Li MJ, et al. Third molar maturity index (I_{3M}) for assessing age of majority in northern Chinese population. *Int J Legal Med* 2018; 132: 1759–1768.
 28. Dardouri AAK, Cameriere R, De Luca S, et al. Third molar maturity index by measurements of open apices in a Libyan sample of living subjects. *Forensic Sci Int* 2016; 267: 230.e1–6.
 29. De Luca S, Aguilar L, Rivera M, et al. Accuracy of cut-off value by measurement of third molar index: study of a Colombian sample. *Forensic Sci Int* 2016; 261: 160.e1–5.
 30. Deitos AR, Costa C, Michel-Crosato E, et al. Age estimation among Brazilians: younger or older than 18. *J Forensic Leg Med* 2015; 33: 111–115.
 31. Franklin D, Karkhanis S, Flavel A, et al. Accuracy of a cut-off value based on the third molar index: validation in an Australian population. *Forensic Sci Int* 2016; 266: 575.e1–6.
 32. Gulsahi A, De Luca S, Cehreli SB, et al. Accuracy of the third molar index for assessing the legal majority of 18 years in Turkish population. *Forensic Sci Int* 2016; 266: 584.e1–6.
 33. Kelmendi J, Cameriere R, Koçani F, et al. The third molar maturity index in indicating the legal adult age in Kosovar population. *Int J Legal Med* 2018; 132: 1151–1159.
 34. Różyło-Kalinowska I, Kalinowski P, et al. Validity of the third molar maturity index I_{3M} for indicating the adult age in the Polish population. *Forensic Sci Int* 2018; 290: 352.
 35. Spinas E, De Luca S, Lampis L, et al. Is the third molar maturity index (I_{3M}) useful for a genetic isolate population? Study of a Sardinian sample of children and young adults. *Int J Legal Med* 2018; 132: 1787–1794.
 36. Zelic K, Galic I, Nedeljkovic N, et al. Accuracy of Cameriere's third molar maturity index in assessing legal adulthood on Serbian population. *Forensic Sci Int* 2016; 259: 127–132.
 37. Tafrount C, Galić I, Franchi A, et al. Third molar maturity index for indicating the legal adult age in south-eastern France. *Forensic Sci Int* 2018; 294: 218.e1–6.
 38. Kumagai A, Takahashi N, Palacio LAV, et al. Accuracy of the third molar index cut-off value for estimating 18 years of age: validation in a Japanese samples. *Leg Med (Tokyo)* 2019; 38: 5–9.
 39. The United Nations Refugee Agency. Global Trends. Forced Displacement in 2017. www.unhcr.org/global-trends2017/ (2017, accessed 30 July 2019).
 40. UNICEF. Progress for Children: Achieving the MDGs with Equity. www.unicef.org/publications/files/Progress_for_ChildrenNo.9_EN_081710.pdf (2010, accessed 30 July 2019).
 41. Schmeling A, Grundmann C, Fuhrmann A, et al. Criteria for age estimation in living individuals. *Int J Legal Med* 2008; 122: 457–460.
 42. Santoro V, De Donno A, Marrone M, et al. Forensic age estimation of living individuals: a retrospective analysis. *Forensic Sci Int* 2009; 193: 129.e1–4.
 43. Schmeling A, Olze A, Reisinger W, et al. Statistical analysis and verification of forensic age estimation of living

- persons in the Institute of Legal Medicine of the Berlin University Hospital Charité. *Legal Med* 2003; 5: S367–S371.
44. Pinchi V, Norelli GA and Bartolini V. Ethical implications of Italian legislation on 'epilepsy and driving'. *J Med Ethics* 2014; 40: 552–527.
45. Olze A, Schmeling A, Taniguchi M, et al. Forensic age estimation in living subjects: the ethnic factor in wisdom tooth mineralization. *Int J Legal Med* 2004; 118: 170–173.
46. Du M. Analysis of errors in forensic science. *J Forensic Sci Med* 2017; 3: 139–143.
47. Ribeiro G, Tangen JM and McKimmie BM. Beliefs about error rates and human judgment in forensic science. *Forensic Sci Int* 2019; 297: 138–147.

II.4 Valutazione dell'età scheletrica mediante la misurazione planare delle ossa del carpo e dell'epifisi distale di radio ed ulna in un campione di subadulti sudafricani.

L'applicazione del metodo Bo/Ca nella popolazione sudafricana di riferimento (563 subadulti sudafricani: 179 neri e 384 bianchi, 320 femmine e 243 maschi), ha consentito di classificare correttamente gli individui appartenenti al campione di studio. L'errore standard di stima (SEE) ha indicato un errore di 1.19 anni nei maschi e 1.09 anni nelle femmine con un range compreso tra 0.84 (femmine di 12 anni) e 3.09 (maschi di 16 anni).

L'analisi della varianza (ANOVA) non ha mostrato significative differenze tra età scheletrica ed età cronologica tra i neri ed i bianchi.

Il coefficiente di correlazione interclasse (ICC) per la ripetibilità intra-operatore è risultato pari a 0,916 (IC 95%: da 0,809 a 0,963), 0,985 (IC 95%: da 0,966 a 0,993) e 0,901 (IC 95%: da 0,568 a 0,907) per i tre esaminatori. L'ICC per l'affidabilità inter-operatore è risultato pari a 0,951 (CI 95%: 0,904–0,977) e 0,929 (CI 95%: 0,863-0,967) rispettivamente per il primo ed il secondo ciclo di misurazioni. I risultati dell'ICC ottenuti hanno mostrato un accordo quasi completo, evidenziando che il metodo è affidabile ed appropriato allo scopo prefissato.

La differenza tra età scheletrica ed età cronologica è risultata inferiore ad un anno e la sottostima più significativa è stata riscontrata negli individui appartenenti alla fascia di età compresa tra i 14 ed i 16 anni. In particolare, nella popolazione maschile la differenza tra età scheletrica ed età cronologica variava in un range compreso tra - 0,05 anni nei bambini di 10 anni e - 1,42 anni negli adolescenti appartenenti alla fascia di età compresa tra 15 e 16 anni; nella popolazione femminile la differenza tra età scheletrica ed età cronologica variava tra - 0,10 anni nelle bambine di 8 anni e - 1,35 anni nelle adolescenti di 16 anni.

L'indagine ha quindi evidenziato l'affidabilità del metodo Bo/Ca in ambito forense, per cui la stima dell'età cronologica basata su un'analisi quantitativa dello sviluppo scheletrico del distretto mano-polso può essere utilizzato in una popolazione sud africana, purché si tenga conto delle criticità

evidenziate in questo studio. Infatti, questa tecnica ha mostrato una maggiore imprecisione nell'età compresa tra 13 e 16 anni, in entrambe i sessi, per cui il contributo nella tarda adolescenza potrebbe essere limitato.

Lo studio, che di seguito si riporta integralmente, è stato pubblicato sull'*Australian Journal of Forensic Sciences* (*Angelakopoulos et al., 2020*).



Skeletal age assessment by measuring planar projections of carpals and distal epiphyses of ulna and radius bones in a sample of South African subadults

N. Angelakopoulos , I. Galić , S. De Luca , C.P. Campobasso , F. Martino , F. De Micco , E. Coccia & R. Cameriere


To cite this article: N. Angelakopoulos , I. Galić , S. De Luca , C.P. Campobasso , F. Martino , F. De Micco , E. Coccia & R. Cameriere (2020): Skeletal age assessment by measuring planar projections of carpals and distal epiphyses of ulna and radius bones in a sample of South African subadults, Australian Journal of Forensic Sciences, DOI: [10.1080/00450618.2020.1766111](https://doi.org/10.1080/00450618.2020.1766111)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/00450618.2020.1766111>




Published online: 21 May 2020.




[Submit your article to this journal](#) 



[View related articles](#) 



[View Crossmark data](#) 

Full Terms & Conditions of access and use can be found at
<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=tajf20>



Skeletal age assessment by measuring planar projections of carpals and distal epiphyses of ulna and radius bones in a sample of South African subadults

N. Angelakopoulos^{a*}, I. Galic^{b*}, S. De Luca^{c,d*}, C.P. Campobasso^e, F. Martino^e,
F. De Micco^f, E. Coccia^g and R. Cameriere^d

^aDepartment of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, University of Bern, Bern, Switzerland;

^bDepartment of Research in Biomedicine and Health, School of Medicine, University of Split, Split, Croatia;

^cÁrea de Identificación Forense, Unidad de Derechos Humanos, Servicio Médico Legal, Santiago de Chile, Chile; ^dAgEstimation Project, University of Macerata, Macerata, Italy; ^eDepartment of Experimental Medicine, University of Campania "Luigi Vanvitelli", Napoli, Italy; ^fDepartment of Medicine and Health Sciences "Vincenzo Tiberio", University of Molise, Campobasso, Italy; ^gDepartment of Odontostomatology and Specialized Clinical Sciences (DISCO), Polytechnic University of Marche, Ancona, Italy

ABSTRACT

The ratio of the projection of the carpal bones (Bo), and the total area of the carpal bones to the distal ulna and radius epiphyses (Ca), or (Bo/Ca), is a quantitative method for assessing skeletal age in immature subjects. The Cameriere method, based on this ratio, was applied in two samples of 563 South African Black and White subadults (243 boys and 320 girls), aged between 7 and 16 years. The Intraclass Correlation Coefficient (ICC), the Technical Error of Measurement (TEM) (absolute and relative values) and the Coefficient of Reliability (R) for both intra- and inter-examiner agreement were determined and compared. The accuracy was tested by assessing the Standard Error of Estimate (SEE). The results of SEE indicated a method error of 1.19 years and 1.09 years in boys and girls, respectively, and ranged from 0.84 years in 12 year old girls to 3.09 years in 16 year old boys. A one-way analysis of variance showed no statistically significant difference in SA-CA between Blacks and Whites. This method is useful for this population but the results of SEE must be taken into account in forensic contexts and whenever this technique is applied.

ARTICLE HISTORY

Received 26 February 2020
Accepted 4 May 2020

KEYWORDS

Forensic sciences; skeletal age; carpal bones; South Africa

Introduction

Migration, human trafficking, child pornography and disputes in competitive sports are only a few of the civil and criminal challenges and applications for which forensic sciences are often requested to estimate an individual's age.¹ The forensic literature suggests that age estimation in minors is a standardized process which includes the determination of body statistics (height and weight) and signs of sexual maturation, a radiological examination of the left hand-wrist and an examination of the oral cavity by means of orthopantomography.^{2,3}

CONTACT S. De Luca  sdeluca@sml.gob.cl

*These authors contributed equally to this work

© 2020 Australian Academy of Forensic Sciences

Hand-wrist radiographs are useful for age estimation since they are easy to obtain, inexpensive and non-invasive.⁴ The radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist⁵ is still the most commonly used bone age standard manual followed by the Thiemann-Nitz method in German-speaking countries.⁶ By applying these methods, a hand-wrist radiograph of the subject can be evaluated by comparison with the standard images in the atlas, allowing the closest match to be obtained.

The applicability of the Greulich-Pyle standards to samples which differ from their reference population, a sample of children of North European ancestry with high socioeconomic status who were born in the United States of America in 1930s, is often questioned. In fact, when the Greulich and Pyle standards were applied to contemporary populations, several differences in growth rate and maturation were highlighted and attributed to secular trends and differences in genetic origin, health status and economic status.³

The Tanner-Whitehouse systems (TW hereafter)⁷ and FELS⁸ represent other reliable methods. They are frequently applied in paediatric endocrinology and also in orthodontics and paediatric orthopaedics.³ In fact, bone age is considered to be a reliable indicator for diagnosing and monitoring metabolic or organic disorders and determining the timing of treatment. For these techniques, the hand-wrist bone development is determined to assign numerical scores to bones, depending on their level of maturity.

Concerning the TW, although it is a more sophisticated assessment technique than the Greulich-Pyle method, several studies showed different levels of variability in the timing of skeletal development and variable prediction accuracy.^{3,9} As Roche et al.⁸ noted, it is not possible to calculate confidence intervals for the estimated skeletal ages when using Tanner-Whitehouse methods, which are important for a proper interpretation of skeletal age. In addition, this method strongly depends on the experience of the observer, leading to certain average imprecision (low to moderate intra-observer repeatability and inter-observer reproducibility).^{9,10}

With respect to FELS method, it is a computer-assisted procedure that provides the confidence limits of each estimate developed on a sample of children belonging to middle class.⁸ The maximum likelihood method is used for converting the grades and ratios of each measurement to an SA at a given CA. Its main drawback is a progressive overestimation of chronological age, becoming greater at older ages.³

Cameriere et al.¹¹ developed a quantitative method using computer-aided software for the measurements of carpal bones on radiographs. The study, performed on a sample of 150 Italian children and adolescents, aged between 5 and 17 years, showed that the median of the absolute values of residuals (observed age minus predicted age) was 0.08 years, with a quartile deviation of 1.59 years and a standard error of estimate of 1.19 years. Subsequently, De Luca et al. established a new regression formula that was tested in a sample of 204 Italian infants and children.¹²

There are still many unanswered methodology questions regarding the applicability of the Cameriere et al.¹¹ standards for subadults of different ethnic backgrounds. African children have shown to be more advanced in skeletal development than children of European origin in developed country settings.^{13,14} Conversely, comparisons between black children in Africa and black children in the United States of America (USA),¹⁵ showed US African American children to be more advanced in terms of their skeletal maturity than African children living in Africa. It was suggested that this observation may be as a result of health and nutritional factors rather than the ethnicity itself.

This study aimed to evaluate the Cameriere method for assessing skeletal age in two samples of Black and White South African subadults, and to assess whether this methodology is suitable for South African subjects of different ethnicity.

Materials and methods

The studied sample consisted of 563 subadults of which 179 were of black South African ethnicity (102 girls, 77 boys) and 384 of European ethnicity living in South Africa (218 girls, 166 boys). The individuals were aged between 7 and 16 years old (Table 1). The digital hand-wrist radiographs were retrospectively collected from a private orthodontic clinic as part of growth evaluation for treatment in Johannesburg, South Africa. Only radiographs of the left hand of subadults without abnormal skeletal development were used in the study. Medical records were also negative for endocrine and musculoskeletal disorders. Their data were recorded in a Microsoft Excel file (identification number, sex, ethnicity, date of birth, and the date that the radiographs were performed) and anonymized before their study.

All the data registrations were carried out by the first author (NA) and, during this ethnicity determination procedure, Coloureds, Indian, mixed race European and Eurasian juveniles and subadults were not included in the study. No mixed heritage subjects were included and the homogeneity of the Black and White sample was assured from cross checking the family name and facial pictures. Possible doubts regarding the homogeneity of the sample were solved during the registration procedure with the help of the practice co-ordinator. There was no distinction between the different Black South African ethnic groups.

Privacy of the participant data found in the folders was respected and confidentiality was strictly maintained. The socioeconomic status of the participants was not considered as an evaluation criterion. This study was carried out under the ethical standards laid down by the Declaration of Helsinki (Finland).¹⁶

Measurements

Each X-ray image was examined by using ImageJ, an open-source image-processing software.¹⁷ A polygonal selection tool was used to detect the projections of the total

Table 1. Age, sex and black/white distribution of the training sample of the hand and wrist X-rays.

Age group	Black		Black Total	White		White Total
	Boys	Girls		Boys	Girls	
7–7.9	4	1	5	1	3	4
8–8.9	2	2	4	4	5	9
9–9.9	2	4	6	7	7	14
10–10.9	5	14	19	12	25	37
11–11.9	17	20	37	32	44	76
12–12.9	13	18	31	44	65	109
13–13.9	22	19	41	34	38	72
14–14.9	4	13	17	19	20	39
15–15.9	5	6	11	13	11	24
16–16.9	3	5	8	-	-	-
Total	77	102	179	166	218	384

area of eight carpal bones, and epiphyses of ulna and radius (Bo) and the total carpal area including spaces between ulna and radius epiphyses (Ca) (Figures 1 and 2(a,b)).¹⁸ The area of each carpal bone present was computed to calculate carpal bone area or Bo. In contrast, if the epiphyses of the radius and ulna were fused, and no epiphyseal plate was present, the Ca was not determined and the participant was excluded from the study.

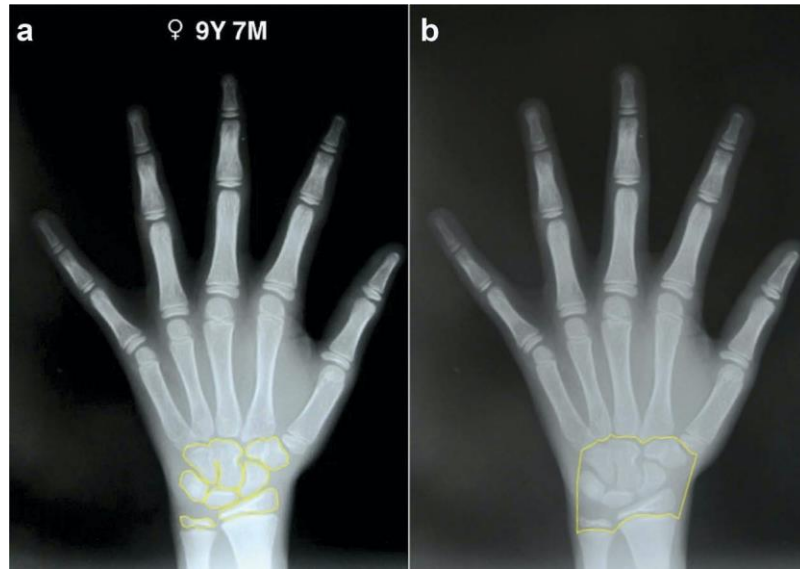


Figure 1. An example of the Bo and Ca areas selected using the ImageJ polygonal selection tool in 9 years and seven months old subject.

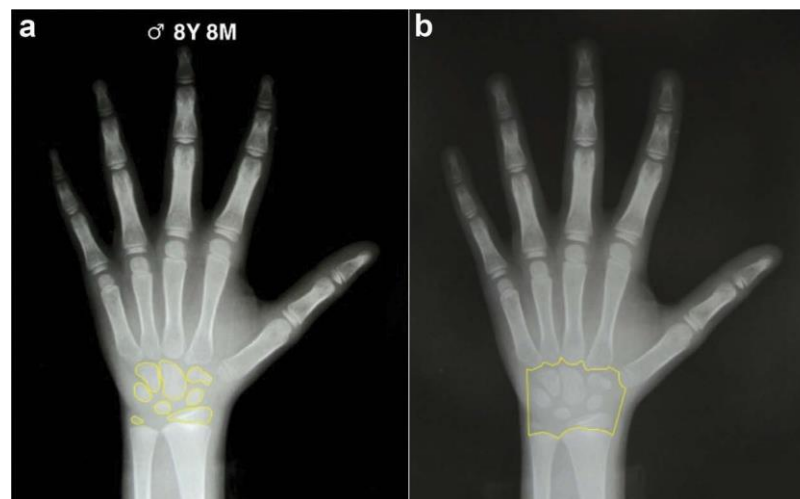


Figure 2. An example of the Bo and Ca areas selected using the ImageJ polygonal selection tool in 8 years and eight months old subject.

Statistical analysis

Three observers, with varying levels of experience, participated in the age estimation process: the first observer (EC) was a PhD student in immune-metabolic pathologies; the second (FM) was a student undergoing training in legal medicine, while the third (FDM) was a PhD student in translational and clinical medicine.

A calibration session was performed initially on a sub-sample of 25 randomly selected radiographs. The chronological age (CA hereafter) was calculated by subtracting the birth-date recorded in the dental charts from the date the X-ray was exposed for each participant. During the calibration process, the method was explained to the observers and they were also shielded from the CA data. Finally, a Bo/Ca ratio was determined for each participant.

Repeatability analysis or intra-observer agreement was performed on a subset of 25 randomly selected X-rays of each observer after one month while inter-observer agreement among three observers was performed on a subset of 50 randomly selected X-rays taken from the total sample. An Intraclass Correlation Coefficient (ICC hereafter) was used for the analysis, a two-way mixed-effect model based on a single rating assessed the intra-observer repeatability for either examiner while a two-way random-effect model was based on single ratings and absolute agreement assessed the inter-examiner repeatability.¹⁹

Absolute and relative technical error of measurement (TEM and rTEM) and the Coefficient of Reliability (R) were calculated to quantify observer error in recording carpal measurements. The formulae used to calculate TEM, rTEM and R respectively, were as follows:

$$\begin{aligned} TEM &= \sqrt{(\sum D^2)/2N}; \quad rTEM = TEM/Mean \times 100; \quad R \\ &= 1 - (TEM^2/Mean^2)/(SD^2/Mean^2) \end{aligned}$$

where D^2 is the squared difference between the first and second measurements, N is the sample size measured, Mean is measurement's average and SD is the standard deviation for that measurement. The advantage of using TEM is that it is expressed in the unit of the measurement examined while rTEM is a measure of precision (or imprecision) unaffected by scale or sample size that allows for the direct comparison of measurements of different scales.²⁰

A Bo/Ca ratio was calculated for each participant. A Kolmogorov-Smirnov test indicated that the distributions of Bo/Ca variable did not follow a normal distribution in boys, $D(243) = 0.074$, $p = 0.003$ and girls, $D(320) = 0.081$, $p < 0.001$.²¹

A linear regression formula based on the Italian sample was used to calculate the skeletal age (SA hereafter) of each participant. The Italian linear regression formula provided the following equation:¹¹

$$SA(\text{years}) = -3.253 + 0.719g + 20.610Bo/Ca \quad (1)$$

where g means sex, 1 for boys and 0 for girls.

The accuracy of the formula on the South African sample was presented as the difference between SA and CA, and the absolute difference between SA and CA. In addition, a Standard Error of the Estimate (SEE hereafter) was used to accurately quantify method error, for both the overall group, as well as by age groups and biological sex.

A difference in SA-CA between Blacks and Whites was tested by independent samples Mann-Whitney U test.²¹ A sample related Wilcoxon signed-rank test was used to compare SA and CA. Statistical analysis was carried out by using the SPSS (v. 20.0, SPSS, USA). The statistical significance was set at a level of $p < 0.05$.

Results

The ICC for the intra-examiner repeatability was 0.916 (95% CI: 0.809 to 0.963), 0.985 (95% CI: 0.966 to 0.993) and 0.901 (95% CI: 0.568 to 0.907) for examiners EC, FM and FDM, respectively. ICC for inter-examiners reliability was 0.951 (CI 95%: 0.904–0.977) and 0.929 (CI 95%: 0.863–0.967) for the first and second round of measurement among observers, respectively.

According to Landis and Koch,²² the results of ICC showed strong to a near-complete agreement, highlighting that the method is reliable and appropriate for its purpose.

There was no statistically significant difference in the mean age between boys and girls ($p = 0.372$) (Figure 1).

As regards the TME, rTME and R, they indicated that the errors of precision were small and unlikely to have influenced the results (Table 2).

A Mann-Whitney U test showed no statistically significant difference in the results of SA-CA between Black and White boys examined ($U = 6316$, $z = -0.147$, $p = 0.883$) and girls ($U = 10083$, $z = -1.342$, $p = 0.180$).

A Wilcoxon Signed Rank Test revealed an underestimation of SA by -0.49 years in boys, which was statistically significant, $z = -6.33$, $p < 0.001$ and by -0.11 years in girls, which was not statistically significant, $z = -1.19$, $p = 0.234$ (Table 3). The mean underestimation was -0.49 years in boys and -0.11 years in girls.

The difference between SA and CA was less than a year (Table 4) and the most significant underestimation was found in the oldest participant belonging to the age group of 14 to 16 years. In boys, the difference between SA and CA ranged from

Table 2. Technical error of measurement (TEM), relative technical error of measurement (rTEM) and the coefficient of reliability (R) values for both intra- and inter-observer agreement.

TEST	INTRA-OBSERVER			INTER-OBSERVER	
	Observer 1 (EC)	Observer 2 (FM)	Observer 3 (FDM)	Round 1	Round 2
TEM (pixels)	0.03	0.011	0.028	0.024	0.031
rTEM (%)	3.959	1.429	3.778	1.351	1.732
R	0.909	0.969	0.789	0.993	0.991

Table 3. Comparison of chronological age (CA) and skeletal age (SA) and Standard Error of Estimate (SEE) (years) calculated by the Italian regression formula on South African sample of X-rays of carpals and epiphyses of radius and ulna.

Sex	N	CA \pm SD	SA \pm SD	SEE	(CA-SA) \pm SD	SEE	95% CI	MAE \pm SD	t(df)	P
Boys	243	12.54 \pm 1.78	12.05 \pm 1.74	1.19	-0.49 \pm 1.09	1.19	-0.61 to -0.36	0.98 \pm 0.62	-7.09(242)	<0.001
Girls	320	12.41 \pm 1.75	12.30 \pm 1.52	1.09	-0.11 \pm 1.08	1.09	-0.23 to 0.01	0.89 \pm 0.62	-1.86(319)	0.063

SA, skeletal age; CA, chronological age; SA-CA – a difference between skeletal and chronological age; 95 CI, 95% Confidence Interval of SA-CA; MAE – mean absolute error between skeletal and chronological age; SD – standard deviation; t, a paired-test; df – degrees of freedom.

Table 4. Comparison of chronological age (CA) and skeletal age (SA) and standard error of estimate (SEE) (years) calculated by the Italian regression formula on South African sample of X-rays of carpals and epiphyses of radius and ulna for boys (B) and girls (G) across different age groups.

Age group	Sex	N	CA±SD	SEE		CA-SA										MAE±SD ^b	Wilcoxon (z)	P
				SA ± SD	Mean ± SD	Min	Q1	Med	Q2	Max								
7-7.9	B	5	7.44 ± 0.23	7.54 ± 0.60	0.91	0.10 ± 0.82	-1.24	-0.66	0.44	0.69	0.83	0.63 ± 0.43	0.405	0.686				
	G	4	7.47 ± 0.33	8.11 ± 1.02	1.29	0.64 ± 0.74	-0.43	-0.14	0.91	1.16	1.19	0.86 ± 0.34	1.461	0.144				
8-8.9	B	6	8.45 ± 0.37	8.06 ± 1.54	1.92	-0.39 ± 1.67	-1.89	-1.67	-1.14	1.61	1.94	1.53 ± 0.36	-0.314	0.753				
	G	7	8.60 ± 0.35	8.50 ± 1.12	1.24	-0.10 ± 1.12	-1.61	-1.03	0.18	0.63	1.63	0.90 ± 0.57	-0.169	0.869				
9-9.9	B	9	9.72 ± 0.28	9.63 ± 1.41	1.35	-0.09 ± 1.26	-2.23	-1.11	-0.36	0.98	1.48	1.06 ± 0.58	0.059	0.953				
	G	11	9.56 ± 0.28	9.70 ± 0.92	1.09	0.14 ± 1.02	-1.61	-0.85	0.13	1.07	1.45	0.85 ± 0.51	0.622	0.534				
10-10.9	B	17	10.55 ± 0.28	10.50 ± 1.32	1.26	-0.05 ± 1.22	-2.36	-1.15	-0.07	1.15	1.81	0.96 ± 0.71	-0.260	0.795				
	G	39	10.56 ± 0.28	11.22 ± 0.89	1.16	0.66 ± 0.93	-2.26	0.24	0.72	1.20	2.72	0.94 ± 0.65	3.935	<0.001				
11-11.9	B	49	11.54 ± 0.28	11.37 ± 1.04	1.00	-0.18 ± 0.97	-1.95	-0.91	-0.20	0.52	1.96	0.81 ± 0.55	-1.149	0.251				
	G	64	11.49 ± 0.32	11.77 ± 1.09	1.07	0.28 ± 1.02	-3.06	0.01	0.56	0.99	1.88	0.87 ± 0.59	2.722	0.006				
12-12.9	B	57	12.51 ± 0.26	12.36 ± 1.09	1.08	-0.15 ± 1.06	-2.66	-0.90	-0.25	0.60	1.96	0.87 ± 0.62	-1.069	0.285				
	G	83	12.44 ± 0.28	12.62 ± 0.82	0.84	0.18 ± 0.81	-1.72	-0.41	0.20	0.82	1.84	0.68 ± 0.47	1.989	0.047				
13-13.9	B	56	13.51 ± 0.32	12.63 ± 0.94	1.30	-0.87 ± 0.94	-2.85	-1.63	-0.75	-0.12	0.58	0.99 ± 0.80	-5.237	<0.001				
	G	57	13.52 ± 0.29	12.96 ± 0.94	1.13	-0.57 ± 0.96	-3.09	-1.21	-0.48	0.22	1.38	0.88 ± 0.68	-3.778	<0.001				
14-14.9	B	23	14.34 ± 0.25	13.44 ± 0.84	1.27	-0.90 ± 0.84	-2.19	-1.58	-1.04	-0.22	0.58	1.04 ± 0.65	-3.528	<0.001				
	G	33	14.53 ± 0.28	13.39 ± 0.66	1.35	-1.14 ± 0.66	-2.71	-1.61	-1.11	-0.59	0.05	1.14 ± 0.66	-4.994	<0.001				
15-15.9	B	18	15.52 ± 0.27	14.10 ± 0.82	1.68	-1.42 ± 0.73	-2.42	-2.04	-1.43	-0.93	0.34	1.46 ± 0.64	-3.680	<0.001				
	G	17	15.50 ± 0.30	14.23 ± 0.87	1.64	-1.27 ± 0.89	-2.49	-2.28	-0.96	-0.50	0.01	1.27 ± 0.88	-3.574	<0.001				
16-16.9	B	3	16.36 ± 0.28	14.94 ± 1.05	3.09	-1.42 ± 1.31	-2.22	-2.22	-2.14	0.00	0.09	1.48 ± 1.21	-1.069	0.285				
	G	5	16.59 ± 0.16	15.24 ± 0.57	1.86	-1.35 ± 0.56	-2.24	-1.85	-1.24	-0.90	-0.75	1.35 ± 0.56	-2.023	0.043				

Abbreviation: skeletal age, SA; chronological age, CA; SA-CA – a difference between skeletal and chronological age; Mean, mean SA-CA, Min, minimal SA-CA; Q1, first quartile of SA-CA, Med, Median of SA-CA, Q3, third quartile of SA-CA, Max, Maximal SA-CA; MAE – mean absolute error between skeletal and chronological age; SD – standard deviation; Wilcoxon, related samples Wilcoxon Signed Rank Test standardized statistics.

–0.05 years in 10-year olds to –1.42 years in 15 and 16 year olds. In girls ranged between –0.10 years in 8-year olds, to –1.35 years in 16-year olds (Figure 3). The results of SEE indicated a method error of 1.19 years and 1.09 years in boys and girls, respectively. The SEE results ranged from 0.84 years in 12 year old girls to 3.09 years in 16 year old boys (Tables 3 and 4).

A one-way analysis of the variance showed that there is no statistically significant difference in the results of SA-CA between Blacks and Whites in tested samples in both sexes (Table 5).

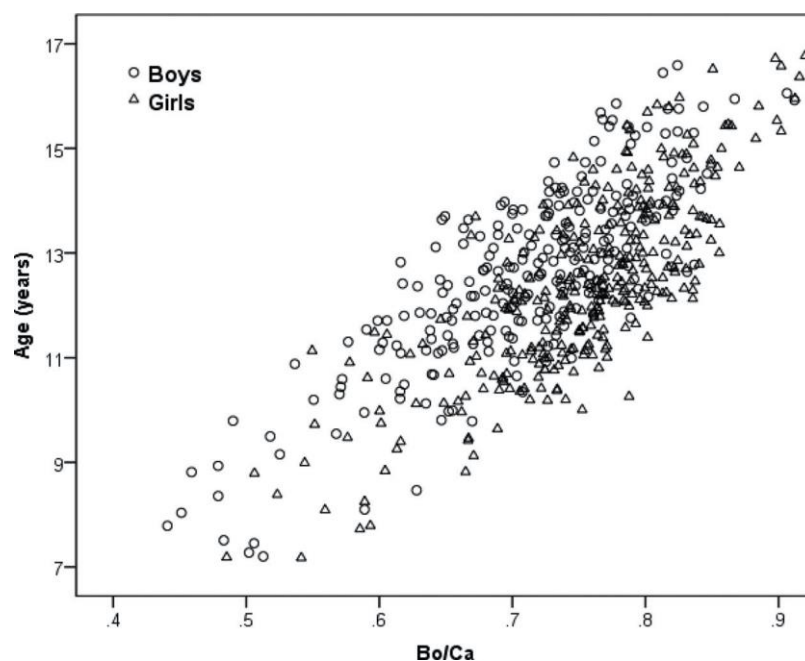


Figure 3. Box-plots of difference between the estimated skeletal age (SA) and the chronological age (CA) (SA-CA) according to age groups in boys and girls. The box-plot shows median and inter-quartile range; the whiskers indicate the range, excluding outliers.

Table 5. One-way analysis of variances of SA-CA difference between South African black and white boys and girls.

Sex	Source	df	SS	MS	F	p
Boys	Between Groups	1	0.197	0.197	0.166	0.684
	Within Groups	241	285.825	1.186		
	Total	242	286.022			
Girls	Between Groups	1	2.585	2.585	2.220	0.137
	Within Groups	318	370.250	1.164		
	Total	319	372.835			

Abbreviation: SA, skeletal age; CA, chronological age; df, degrees of freedom; SS, the sum of squares; MS, mean square; F, F statistic; p, significant at $p < 0.05$ level.

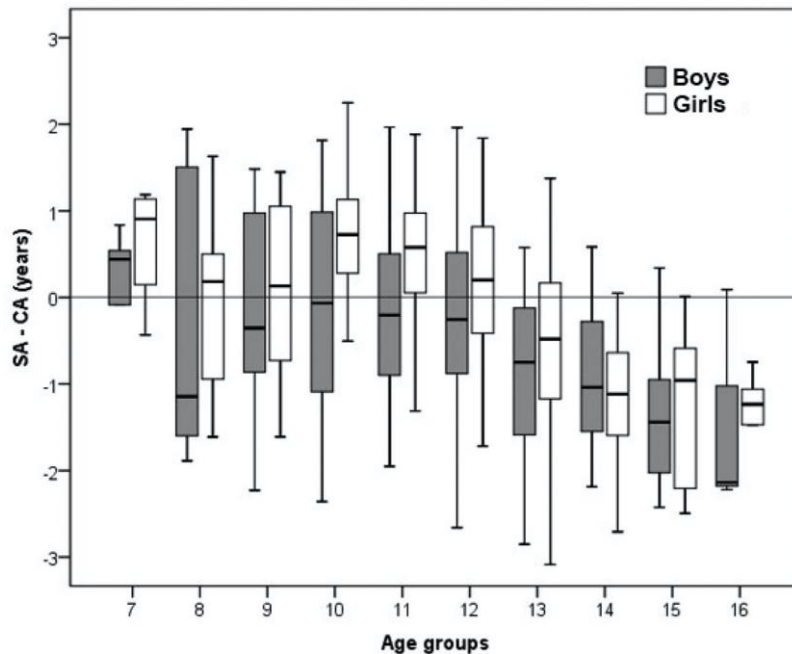


Figure 4. Scatterplot of the relationship between Bo/Ca and chronological age in the South African sample.

Discussion

The radiographic analysis of the hand-wrist is the most widely used method for comparing dental and skeletal maturity among child development specialists.¹ Moreover, examination by X-rays is an easy, accurate and cost-effective method for the assessment of skeletal age in forensic cases.^{23,24} In addition, computer-aided-diagnosis methods have been previously developed for judiciary cases or criminal proceedings where there is a need for a more objective technique of skeletal age assessment.²⁵

This is the first cross-sectional radiographic study that used measurements on planar projections of carpals and distal epiphyses of ulna and radius in two South African samples of Black and White subadults.

Few previous qualitative studies have been published on Black South African samples of subadults. Two had reported an average underestimation of age by approximately one year when the Greulich-Pyle test was applied.^{26,27} Govender and Goodier²⁶ performed a retrospective study in a digital database of 102 hand-wrist X-ray images from KwaZulu-Natal, South Africa. Although the method showed an excellent intra- and inter-observer agreement, the Greulich-Pyle atlas underestimated age with the greatest mean underestimation being 11.5 ± 17 months and 7.4 ± 13.2 months for the 10.1 to 15 year age groups in boys and girls, respectively. Dembetembe and Morris²⁷ showed high agreement but low accuracy in a South African sample of 131 hand-wrist radiographs of male patients (13–22 years old) and noted the increasing tendency for the age to be underestimated as chronological age increased. Hawley et al.²⁸ assessed age using the TW3 RUS technique in a sample of 244 South African subjects (birth to 20 years old) showing an

average of 0.66 and 1-year delay in boys and girls, respectively, when CA was compared with SA. Cole et al.²⁹, studied a sample of 607 Black and White boys and girls (birth to 20 years old) by means of TW3 RUS), and showed that black boys compared with white boys were significantly delayed in skeletal maturity. However, in general, a significant secular increase in the skeletal maturity of urban black South African children occurred between 1962 and 2001, while non-significant increases were seen in white children. The increase in skeletal maturity may reflect the removal of growth constraint, particularly in black children.³⁰

In the present study, the results obtained indicated that the accuracy of the method, that is, the degree of similarity between measurements performed at different times, on the same sample, by the same or a different observer, was high. In addition, TEM, rTEM and R were calculated to quantify observer error highlighting the importance of executing correct measurements and the need of ongoing good training and supervision. Some previous studies,^{11,12,31-33} in which the Cameriere method has been tested, also established a high level of agreement among observers. Conversely, Schmidt et al.³⁴ showed that, in various studies, contrasting descriptions of Cameriere's method had been indicated. According to the authors, this could decrease the accuracy of age estimation, the reproducibility of the procedure and the strength of the correlation between skeletal maturity and chronological age. For this reason, to achieve sounder and more accurate results, the same technique as described in the previous work¹¹ should always be applied in both clinical settings and courts of justice.

In this study, according to SEE, the results showed a progressive increase of estimation error for the older ages, with the highest being for 16 year old boys. El-Bakary et al.³¹ studied a sample of Egyptian subadults using the same method but after developing a new regression model, they achieved a mean SEE of 1.85 years which was better than the Mean Prediction Error (MdE) obtained with the Italian formula on the same sample (MdE = 1.96). In the original study, the mean SEE was 1.19 years.¹⁸ Cameriere and Ferrante obtained a mean SEE of 0.73 in a sample of 150 Caucasian Italian subadults (89 boys and 61 girls) aged between 5 and 15 years.¹¹

In addition, a slight underestimation was observed, as is clearly illustrated in [Figure 4](#), and the difference between SA and CA was less than a year. The accuracy estimates showed that underestimation is more significant in boys than in girls and the oldest age groups of 16 to 17 years.

The assessment of SA is basically a method to estimate the level of skeletal maturity that a child has attained at a given point in time relative to reference data for healthy children. The underestimation could be interpreted as a delay in skeletal maturation in girls compared to boys among these samples.²⁸ It may be also a statistical artefact resulting from the small sized population in specific age categories, specifically of the youngest and oldest age groups, according to the hypothesis of 'age mimicry' or 'attraction of the middle', whereby the composition of the reference samples inappropriately influences the estimated age of the target specimen.³⁵ This is consistent with several previous studies in which Cameriere's method has displayed an unpredictable bias: linear regression models tended to overestimate age in children and underestimated it in adolescents, when a rapid acceleration of growth was generally observed (pubertal growth spurt).

Since the rapid acceleration of growth is occurring as a general pattern at approximately 12 to 13 years in almost every subject,³ and taking into account that the adolescent growth spurt may vary significantly in different ethnic groups, climates, and geographic regions, the relationship between skeletal maturity and peak adolescent height velocity should be well assessed. Considering that skeletal maturation is a continuing process, a quantitative method should be the most useful tool to accurately measure skeletal maturation as an indicator of biological age in children and young adults.³

Studies such as this provide the forensic practitioner with increased data with which to support the age estimations that they try to assess. However, the differences that have been found between CA and SA, and the increasing SEE in the older groups, must be taken into consideration whenever this method is applied forensically. Further additional research should be performed to obtain more information on each age group of the study sample. In the future, questions may arise in terms of whether these radiographic assessments are reliable and repeatable in different forensic contexts and how much training and supervision are required to achieve high accuracy in these measurements. Ultimately, further studies are recommended to determine the most important differences when a transition from expert to non-expert observer occurs.

Conclusion

The present study showed low intra- and inter-observer error and good values of TEM, rTEM and R. This was consistent with previous studies in which the same method was applied showing high reproducibility for the measurements of hand-wrist bones in X-rays.^{12,32,33,36}

The obtained results raised the following issues: 1) measurements by ImageJ in X-rays proved a reliable tool when used by experienced personnel or well-trained researchers; 2) the hand-wrist bones approach, based on the quantitative analysis of carpal bones, may be used for legal purposes in South Africa as long as the differences highlighted in this study are taken into account; 3) like the other methods based on the analysis of carpal bones for assessing skeletal maturity,^{5-9,37} this technique could be slightly imprecise if aiming to assess the age of a boy or girl in the age group of 13 to 16 years and its contribution in later adolescence could be somewhat limited.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the author(s).

Informed consent

No informed consent was required in the study.

References

1. Schmeling A. Forensic age estimation. In: Houck MM, editor. Forensic anthropology. London: Academic Press; 2017. p. 169–176.

2. Introna F, Campobasso CP. Biological vs legal age of living individuals. In: Schmitt A, Cunha E, Pinheiro J, editors. *Forensic anthropology and medicine. Complementary sciences from recovery to cause of death*. New York (NY): Humana Press; 2006. p. 57–82.
3. Black S, Aggrawal A, Payne-James J. Age estimation in the living. *The practitioners guide*. 1st ed. Chichester (West Sussex): Wiley; 2010.
4. Benjavongkulchai S, Pittayapat P. Age estimation methods using hand and wrist radiographs in a group of contemporary Thais. *Forensic Sci Int*. 2018;287:218.e1–218.e8. doi:10.1016/j.forsciint.2018.03.045
5. Greulich WW, Pyle SI. *Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist*. 2nd ed. Stanford: Stanford University Press; 1959.
6. Thiemann HH, Nitz I. *Röntgenatlas der normalen hand im kindesalter*. Leipzig: Thieme; 1991.
7. Tanner JM, Healy MJR, Goldstein H, Cameron N. Assessment of skeletal maturity and prediction of adult height (TW3 method). London: Saunders; 2001.
8. Roche AF, Cameron Chumlea W, Thissen D. Assessing the skeletal maturity of the hand-wrist: FELS method. Springfield: Charles C. Thomas; 1989.
9. Franklin D, Flavel A, Noble J, Swift L, Karkhanis S. Forensic age estimation in living individuals: methodological considerations in the context of medico-legal practice. *Res Rep Forensic Med Sci*. 2015;5:53–66. doi:10.2147/RRFMS.S75140
10. Bull RK, Edwards PD, Kemp PM, Fry S, Hughes IA. Bone age assessment: a large scale comparison of the Greulich and Pyle, and Tanner and Whitehouse (TW2) methods. *Arch Dis Child*. 1999;81(2):172–173. doi:10.1136/adc.81.2.172
11. Cameriere R, Ferrante L. Age estimation in children by measurement of carpals and epiphyses of radius and ulna and open apices in teeth: A pilot study. *Forensic Sci Int*. 2008;174(1):59–62. doi:10.1016/j.forsciint.2007.03.013
12. De Luca S, Mangiulli T, Merelli V, Conforti F, Velandia Palacio LA, Agostini S, Spinass E, Cameriere R. A new formula for assessing skeletal age in growing infants and children by measuring carpals and epiphyses of radio and ulna. *J Forensic Leg Med*. 2016;39:109–116. doi:10.1016/j.jflm.2016.01.030
13. Mackay DH. Skeletal maturation of the hand: a study of development in East African children. *T Roy Soc Trop Med H*. 1952;46:135–150. doi:10.1016/0035-9203(52)90086-2
14. Platt RA. The skeletal maturation of Negro schoolchildren. Unpublished M.A. Thesis, University of Pennsylvania, Philadelphia; 1956.
15. Alshamrani K, Messina F, Offiah AC. Is the Greulich and Pyle atlas applicable to all ethnicities? A systematic review and meta-analysis. *Eur Radiol*. 2019;29:2910. doi:10.1007/s00330-018-5792-5
16. World Medical Association. World medical association declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA*. 2013;310:2191–2194. doi:10.1001/jama.2013.281053
17. Rasband WS. ImageJ, U.S. National Institutes of Health. Bethesda (MD); 1997–2018. <https://imagej.nih.gov/ij/>
18. Cameriere R, Ferrante L, Mirtella D, Cingolani M. Carpals and epiphyses of radius and ulna as age indicators. *Int J Legal Med*. 2006;120(3):143–146. doi:10.1007/s00414-005-0040-3
19. Perinetti G. StaTips Part IV: selection, interpretation and reporting of the intraclass correlation coefficient. *South Eur J Orthod Dentofac Res*. 2018;5(1):3–5. doi:10.5937/sejodr5-17434
20. Langley NR, Jantz LM, McNulty S, Maijanen H, Ousley SD, Jantz RL. Data for validation of osteometric methods in forensic anthropology. *Data Brief*. 2018;19:21–28. doi:10.1016/j.forsciint.2018.04.004
21. Pallant J. *SPSS survival manual: a step by step guide to data analysis using SPSS for windows*. 3rd ed. Maidenhead: Open University Press; 2007.
22. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. 1977;33:159–174. doi:10.2307/2529310
23. Santoro V, De Donna A, Marrone M, Campobasso CP, Introna F. Forensic age estimation of living individuals: a retrospective analysis. *Forensic Sci Int*. 2009;193:129.e1–129.e4. doi:10.1016/j.forsciint.2009.09.014

24. Choi JA, Kim YC, Min SJ, Khil EK. A simple method for bone age assessment: the capitohamate planimetry. *Eur Radiol.* 2018;28:2299–2307. doi:10.1007/s00330-017-5255-4
25. Mansourvar M, Ismail MA, Herawan T, Raj RG, Kareem SA, Nasaruddin FH. Automated bone age assessment: motivation, taxonomies, and challenges. *Comput Math Methods Med.* 2013;2013:1–11. doi:10.1155/2013/391626
26. Govender D, Goodier M. Bone of contention: the applicability of the Greulich–Pyle method for skeletal age assessment in South Africa. *S Afr J Radiol.* 2018;22(1):1348.a1348. doi:10.4102/sajr.v22i1.1348
27. Dembetembe KA, Morris AG. Is Greulich-Pyle age estimation applicable for determining maturation in boy Africans? *S Afr J Sci.* 2012;108(9–10):1–6. doi:10.4102/sajs.V108I9/10.1036
28. Hawley NL, Rousham EK, Johnson W, Norris SA, Pettifor JM, Cameron N. Determinants of relative skeletal maturity in South African children. *Bone.* 2012;50:259–264. doi:10.1016/j.bone.2011.10.029
29. Cole TJ, Rousham EK, Hawley NL, Cameron N, Norris SA, Pettifor JM. Ethnic and sex differences in skeletal maturation among the birth to twenty cohort in South Africa. *Arch Dis Child.* 2015;100(2):138–143. doi:10.1136/archdischild-2014-306399
30. Hawley NL, Rousham EK, Norris SA, Pettifor JM, Cameron N. Secular trends in skeletal maturity in South Africa: 1962–2001. *Ann Hum Biol.* 2009;36(5):584–594. doi:10.1080/03014460903136822
31. El-Bakary AA, Attalla SM, Hammad SM, El-Ashry RA, De Luca S, Ferrante L, Cameriere R. Age estimation in Egyptian children by measurements of carpals and epiphyses of the ulna and radius. *J Forensic Radiol Imaging.* 2014;2(3):121–125. doi:10.1016/j.jofri.2014.03.009
32. Cameriere R, Ferrante L, Ermenc B, Mirtella D, Strusd K. Age estimation using carpals: study of a Slovenian sample to test Cameriere’s method. *Forensic Sci Int.* 2007;174(2–3):178–181. doi:10.1016/j.forsciint.2007.04.212
33. Cameriere R, De Luca S, Biagi R, Cingolani M, Farronato G, Ferrante L. Accuracy of three age estimation methods in children by measurements of developing teeth and carpals and epiphyses of the ulna and radius. *J Forensic Sci.* 2012;57(5):1263–1270. doi:10.1111/j.1556-4029.2012.02120.x
34. Schmidt S, Ribbecke S, Pfeiffer H, Schmeling A. Die Methode zur Skeletaltersbestimmung nach Cameriere et al. (2006) – ein erfolgversprechender Ansatz für die forensische Altersschätzungspraxis? *Arch Kriminol.* 2018;241:198–217.
35. Liversidge HM, Holly Smith B, Bias MM. Accuracy of age estimation using developing teeth in 946 children. *Am J Phys Anthropol.* 2010;143:545–555. doi:10.1002/ajpa.21349
36. Cameriere R, Bestetti F, Velandia Palacio LA, Riccomi G, Skrami E, Parentina V. Carpals and epiphyses of radius and ulna as age indicators using longitudinal data: a Bayesian approach. *Int J Legal Med.* 2018;133(1):197–204. doi:10.1007/s00414-018-1807-7
37. Malina RM, Bouchard C, Oded B. Biological maturation: concepts and assessment. In: Malina RM, Bouchard C, Oded B, editors. *Growth, maturation and physical activity.* Champaign (IL): Human Kinetics; 2004. p. 277–303.

IV.5 Stima dell'età scheletrica in una popolazione sudafricana contemporanea mediante comparazione di due metodi radiologici (Bo/Ca e TW2)

L'analisi comparativa tra il metodo Bo/Ca ed il metodo TW2 applicati su un campione di 224 subadulti sudafricani (110 neri e 114 bianchi, 111 femmine e 113 maschi), di età compresa tra 6 e 16 anni, ha mostrato un'affidabilità inter-osservatore che è risultata essere molto vicina ad un accordo quasi completo, come dimostrato dall'ICC (0,998; IC 95% 0,998 - 0,999).

L'analisi comparativa dei due metodi radiografici per lo sviluppo scheletrico della mano e del polso ha consentito di classificare correttamente gli individui appartenenti al campione di studio. In particolare, Il metodo Bo/Ca ed il metodo TW2 hanno mostrato una differenza non significativa tra età cronologica ed età scheletrica con valori medi inferiori ai tre mesi. Entrambi i metodi (Bo/Ca e TW2) hanno correttamente classificato sia gli individui bianchi (- 0,08 e 0,18 anni rispettivamente) che gli individui neri (- 0,07 e - 0,20 anni, rispettivamente), sia maschi (- 0,19 e 0,19 anni, rispettivamente) che femmine (- 0,03 e - 0,21 anni, rispettivamente).

Considerando l'etnia, il metodo Bo/Ca ha rivelato una sottostima dell'età cronologica sia nei subadulti bianchi (- 0,08 anni) che nei neri (- 0,07 anni) senza raggiungere alcuna significatività statistica ($p = 0,948$), mentre l'applicazione del metodo TW2 ha fornito una sovrastima dell'età cronologica pari a 0.18 anni nei subadulti bianchi e una sottostima pari a - 0.20 anni nei subadulti neri, entrambi statisticamente significative ($p < 0,0001$).

Considerando il sesso, applicando il metodo Bo/Ca sono state ottenute una sottostima ed una sovrastima, entrambe statisticamente non significative, dell'età cronologica rispettivamente nei maschi (- 0.19 anni; $p = 0.983$) e nelle femmine (0.03 anni; $p = 0.943$). L'applicazione del metodo TW2 ha mostrato una sovrastima dell'età cronologica di 0.19 anni nei maschi ed una sottostima di - 0.21 anni nelle femmine, in entrambi i casi con una significatività statistica (entrambi $p < 0,0001$).

Pertanto, l'accuratezza della stima dell'età scheletrica mediante l'applicazione dei metodi Bo/Ca e TW2 sembra essere affidabile, con una media dei valori, rappresentata dalla differenza tra età cronologica nota ed età scheletrica sperimentale, che rientra entro 3 mesi.

Al fine di misurare l'efficacia di ciascun metodo nel predire l'età cronologica, i soggetti correttamente classificati (CC), considerati tali quando la differenza tra età cronologica ed età scheletrica rientrava in un intervallo compreso tra ± 6 mesi, sono stati suddivisi in base al sesso e all'etnia.

Il metodo TW2 ha riportato il più alto tasso di soggetti CC nei maschi bianchi (40%) e nelle femmine bianche (57%) e nere (52%), mentre il metodo Bo/Ca ha mostrato il più alto tasso di individui nei maschi neri (47%).

Il metodo RUS ha mostrato la sensibilità più alta sia per il campione dei bianchi (96%) che per il campione dei neri (98%). CARP ha riportato la sensibilità più bassa per gli individui sia neri che bianchi (66% e 42%, rispettivamente) e la più alta specificità per entrambe le etnie (98%). RUS ha rivelato la specificità più bassa sia per i bianchi che per i neri (34% e 78%, rispettivamente).

L'analisi di regressione lineare multivariata mostra che TW2 e Bo/Ca sono forti predittori dell'età cronologica, usati come variabili dipendenti in base al sesso e all'etnia ($p < 0,0001$).

Per i bambini di età inferiore ai 13 anni, (Tabella 10a) il metodo Bo/Ca ha rivelato una sovrastima maggiore della CA nelle femmine nere (0,47 anni) rispetto ai maschi neri (0,04 anni; $p = 0,036$), mentre non sono state riportate differenze tra femmine (0,34 anni; $p = 0,171$) e maschi (0,03 anni) bianchi. L'applicazione del metodo RUS ha dimostrato una sovrastima maggiore della CA nelle femmine nere (1,42 anni) e nei maschi bianchi (2,24 anni), rispetto ai maschi neri (0,15 anni; $p < 0,0001$) e alle femmine bianche (0,92 anni; $p < 0,0001$). Non sono state trovate differenze significative nei maschi neri (- 0,64 anni) e nelle femmine nere (- 0,78 anni; $p = 0,303$) mediante l'applicazione del metodo CARP. È stata, tuttavia, segnalata una sottostima statisticamente significativa ($p = 0,002$) della CA nei bianchi, maggiore nelle femmine (-1,09 anni) rispetto ai maschi (-0,50 anni). TW2 ha mostrato una sottostima della CA

con valori compresi entro - 0,24 anni nei maschi neri ed una sovrastima di 0,15 anni nelle femmine nere, con una differenza statisticamente significativa ($p = 0,007$). TW2 ha anche mostrato una sovrastima della CA con valori compresi entro 0,68 anni nei maschi bianchi ed una sottostima di - 0,19 anni nelle femmine bianche con una differenza statisticamente significativa ($p < 0,0001$; Tabella 10a).

Per i soggetti di età inferiore a 13 anni, Bo/Ca ha rivelato una sovrastima maggiore dell'età cronologica nelle femmine nere (0.47 anni) rispetto ai maschi neri (0.04 anni; $p = 0,036$), senza differenze tra i maschi (0.03 anni) e le femmine nere (0.34 anni; $p = 0.171$).

TW2 ha mostrato una sottostima dell'età cronologica entro - 0.24 anni nei maschi neri ed una sovrastima di 0.15 anni nelle femmine nere, con una differenza statisticamente significativa ($p = 0,007$). TW2 ha anche mostrato una sovrastima di entro 0.68 anni nei maschi bianchi e una sottostima di - 0.19 anni nelle femmine bianche con una differenza statisticamente significativa ($p < 0,0001$).

Per soggetti di età pari o superiore a 13 anni Bo/Ca non ha rivelato una differenza statisticamente significativa nella sottostima dell'età cronologica tra maschi (- 0.55 anni) e femmine nere (- 0.48 anni; $p = 0,763$), e tra maschi (- 0.050 anni) e femmine bianche (- 0.36 anni; $p = 0,503$). TW2 non ha mostrato alcuna differenza nella sottostima dell'età cronologica tra femmine (- 0.57 anni) e maschi neri (- 0.22 anni; $p = 0,078$), mentre ha mostrato una sovrastima maggiore nei maschi bianchi (0.50 anni) rispetto alle femmine bianche (- 0.33 anni; $p < 0,0001$).

In base ai nostri risultati, al pari del TW2, anche il metodo Bo/Ca risulta affidabile per la stima dell'età anagrafica in ambito forense. Le valutazioni dell'età scheletrica espletate mediante l'applicazione di entrambi i metodi sopra menzionati sono comprese in un range di età pari a ± 3 mesi rispetto all'età cronologica e sono risultate più accurate dei metodi RUS e CARP.

Il metodo Bo/Ca sembra essere meno influenzato dall'etnia o dal sesso rispetto al metodo TW2. Coerentemente rispetto a studi precedenti, anche in

questo studio Bo/Ca e TW2 hanno mostrato una maggiore inesattezza nei subadulti di età pari o superiore a 13 anni rispetto ai bambini di età inferiore.

Lo studio, che di seguito si riporta integralmente, è stato pubblicato sull'*Australian Journal of Forensic Sciences* (*De Micco et al., 2021*).



Skeletal age estimation in a contemporary South African population using two radiological methods (Bo/Ca and TW2)

Francesco De Micco , Nikolaos Angelakopoulos , Federica Martino ,
Graziamaria Corbi , Roberto Cameriere & Carlo Pietro Campobasso

To cite this article: Francesco De Micco , Nikolaos Angelakopoulos , Federica Martino ,
Graziamaria Corbi , Roberto Cameriere & Carlo Pietro Campobasso (2021): Skeletal age
estimation in a contemporary South African population using two radiological methods (Bo/Ca and
TW2), Australian Journal of Forensic Sciences

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/00450618.2021.1882569>



Published online: 09 Feb 2021.



Submit your article to this journal [↗](#)



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

Full Terms & Conditions of access and use can be found at
<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=tajf20>



Skeletal age estimation in a contemporary South African population using two radiological methods (Bo/Ca and TW2)

Francesco De Micco^a, Nikolaos Angelakopoulos^b, Federica Martino^c,
Graziamaria Corbi^a, Roberto Cameriere^{d,e} and Carlo Pietro Campobasso^c

^aDepartment of Medicine and Health Sciences "Vincenzo Tiberio", University of Molise, Campobasso, Italy;

^bDepartment of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, University of Bern, Bern, Switzerland;

^cDepartment of Experimental Medicine, University of Campania "Luigi Vanvitelli", Napoli, Italy;

^dAgEstimation Project, University of Macerata, Macerata, Italy; ^eDepartment of Forensic Medicine, University of Sechenov, Moscow, Russia

ABSTRACT

Hand-wrist X-rays are the most objective tools for forensic age estimation. The aim of this study is to compare the accuracy of skeletal age (SAG) versus chronological age (CAG) assessments using Bo/Ca and TW2 methods in a South African sample of 224 individuals, aged between 6 and 16 years, focusing on ancestry and biological sex. The differences between estimated SAG and CAG were considered the method performance indicators. Accuracy, sensitivity and specificity have been calculated based on the age limit of 13 years (yrs). Bo/Ca and TW2 correctly classified Europeans (Eu) and Africans (Af) (−0.08 and 0.18 yrs vs −0.07 and −0.20 yrs, respectively) as well as boys and girls (−0.19 and 0.19 yrs vs −0.03 and −0.21 yrs, respectively). The standard error (SE) was calculated for each method according to biological sex and ancestry in children younger than 13 yrs (SE range for Bo/Ca: ±0.123–0.179 and for TW2 ±0.095–0.140) and in subadults 13 yrs or older (SE range for Bo/Ca: ±0.143–0.157 and for TW2: ±0.092–0.183). Bo/Ca seems to be less influenced by ancestry and biological sex in respect to TW2. According to previous studies, both methods showed greater inaccuracy in subadults aged 13 yrs or older compared with younger.

ARTICLE HISTORY

Received 29 September 2020

Accepted 11 January 2021

KEYWORDS

Age estimation; skeletal age assessment; Cameriere's method; Tanner Whitehouse method; forensic sciences; forensic anthropology population data

1. Introduction

Forensic age estimation in the living is of considerable importance in criminal and civil proceedings, as well as for refugee and asylum seekers, human trafficking, child pornography and also old-age pension proceedings and competitive sports¹. In this forensic scenario, age assessment procedures must be reliable and objective because individuals gain their legal rights and responsibilities at different age thresholds. According to the Study Group on Forensic Age Diagnostic (AGFAD), the gold standard procedure is based on combined methods, including physical inspection for recording anthropometric measures (body height, weight and body mass index) and signs of sexual maturation (axillary and pubic hair distribution, breast enlargement in females, size of penis and scrotum in

CONTACT Federica Martino  federica.martino@unicampania.it  Department of Experimental Medicine, University of Campania "Luigi Vanvitelli", Napoli, Italy; Carlo P. Campobasso  carlopietro.campobasso@unicampania.it

© 2021 Australian Academy of Forensic Sciences

males); dental examination for the evaluation of dental eruption or an orthopantomogram (OPG) for the assessment of mineralization of the third molars if the dental maturity is completed; X-rays of hand and wrist for the assessment of bone maturity or of the medial epiphysis of the clavicle if the skeletal development of the hand is completed².

The radiological examination of the hand (generally the left hand, but when the person is left-handed, the right hand is recommended) represents the most common and objective method for assessing the skeletal age³. In fact, the maturity status of the hand bones may be considered representative of the entire skeletal system⁴. From this starting point, bone-specific scoring methods were developed for the assessment of skeletal maturity. Since 1959, the most widely used technique is the comparison of a given individual's hand radiograph with the standards depicted in the Greulich and Pyle (G&P) Atlas⁵. Unfortunately, the atlas was compiled based on Caucasian children of the upper socioeconomic class who lived in the United States of America (Cleveland, Ohio) in the 1930's. Therefore, the G&P standards, although easy and quick⁶, cannot be applied with success to modern children, especially if of diverse ancestry^{7,8}. In fact, G&P does not recognize ethnic and racial differences in growth patterns at certain ages⁹.

A valuable alternative to the G&P atlas is the so-called Tanner and Whitehouse method (TW) performed in 1975 (TW2) and improved in 2001 (TW3), from modern children of the lower- middle class who lived in Europe in the 1960s¹⁰ and 1990s¹¹. TW2 and TW3 are based on the assessment of numerical scores to bones, depending on their levels of maturity, and seem to be more accurate than the G&P. The TW2 method represents the major alternative technique utilizing a hand-wrist radiograph¹². However, it has been observed that the TW3 system does not provide any real progress over TW2¹³. Moreover, the text for the TW3 method is not currently in print and, therefore, it is extremely difficult to gain access to the details concerning this technique¹⁴. The TW2 assessment of skeletal maturity is based on three main scoring systems: i) TW2-RUS (RUS) is the system for evaluating 13 long and short bones (radius, ulna, first, third, fifth metacarpal and first, third and fifth fingers); ii) TW2-Carpal (CARP) is the system for evaluating seven carpal bones (capitate, hamate, triquetral, lunate, scaphoid, trapezium and trapezoid); iii) TW2-20 (TW2) bones is the method for evaluating all 13 long and short bones and the seven carpal bones¹⁰.

It has been reported that the intra-observer variation for the G&P atlas was greater than the TW2 method (95% confidence interval, -2.46 to 2.18 years vs. -1.48 to 1.43 years, respectively)¹⁵. Although rigorous and time-consuming, TW2 can be more accurate but it is also affected by a poor positioning of the hand when the radiograph is taken¹⁶. During positioning it is important to keep the dominant hand faced downward, extended and flat, the long axis of the middle finger aligned with the axis of the forearm, the fingers spread so they are not touching and the thumb rotated out¹⁷. The incorrect positioning of the hand and fingers can change the appearance of some epiphyses so that the hand skeletal maturity assessment can be inaccurate.

A more recent quantitative method was designed by Cameriere et al. in 2006 (Bo/Ca hereafter) using a computer-aided software for the measurements of hand and wrist bones on X-rays¹⁸. In this method, the ratio between the sum of the area of eight carpal bones and epiphyses of the ulna and radius (Bo) and the total area of carpal bones including epiphyses of the radio and ulna (Ca) are determined to assess the skeletal age (SAg). The relationship between this ratio and chronological age (CAg) is described using

a linear regression model^{18,19}. A sample of 150 Italian children and adolescents, aged between 5 and 17 years, was studied by Bo/Ca showing that the median of the absolute values of residuals (CAG minus SAg) was 0.08 years, with a quartile deviation of 1.59 years and a standard error of estimate of 1.19 years¹⁸. Bo/Ca method has also been tested on a sample of South African subadults²⁰ showing an underestimation of less than a year between CAG and SAg in boys and in the oldest age groups of 16 to 17 years.

The present research study aims to compare the accuracy of SAg assessment by Bo/Ca and TW2 in South African subadults aged between 6 and 16 years, focusing on ancestry and biological sex as factors affecting the age estimation process. In fact, a wide range of factors can affect the accuracy of any forensic age estimation in the living. Genetics, demographic, biological and environmental factors have been commonly found to influence the timing of maturation²¹. It has been reported that up to 60% of the variation in sexual and skeletal development is due to the interaction between genetics and environmental factors²¹, but the role of these variables in the forensic age process is not the goal of this study. However, one of the crucial issues related to forensic age assessment is the reliability of the available methods in its application to different ethnic groups and subgroups of different geographical distributions, but up to now, no large-scale studies have been performed⁶.

2. Materials and methods

A retrospective study of X-rays of left wrist-hand bones of 224 South African subadults was performed. The sample group was represented by 110 individuals of African (Af) ancestry (55 girls, 55 boys) and 114 individuals of European (Eu) ancestry living in South Africa (56 girls, 58 boys). Individuals of mixed or other ancestry were not included in the study. The CAG ranged between 6 and 16 years (yrs) with a mean age of 12.3 yrs. [Figure 1](#) shows the age distribution of the study sample by a) ancestry and b) biological sex. The digital hand-wrist radiographs were retrospectively collected from a private orthodontic clinic as part of growth evaluation for treatment in Johannesburg, South Africa.

The dates of birth and radiological examinations were available for all cases. According to TW indications^{10,11,22}, X-rays were produced under standardized conditions in the posteroanterior projection and with fingers slightly splayed. Medical records were also negative for endocrine or skeletal-muscle disorders. Although the socioeconomic status is one of the major factors known to influence growth and development²³, unfortunately this information was not available. The study was carried out under the ethical standards laid down by the Declaration of Helsinki (Finland)²⁴ and its later amendments.

2.1 Measurements

X-rays were anonymized and an identification number was recorded. Anonymous X-rays were provided to the examiners along with the identification number and the biological sex of the individual only. Two examiners trained in skeletal age assessment, separately and independently, performed bone age estimation by using the Bo/Ca method¹⁸ and the RUS, CARP and TW2-20 score methods¹⁰. A diagram showing briefly each method is depicted in [Figure 2](#). The SAg values for each method were recorded in a Microsoft Excel® spreadsheet independently by each examiner. Another independent researcher

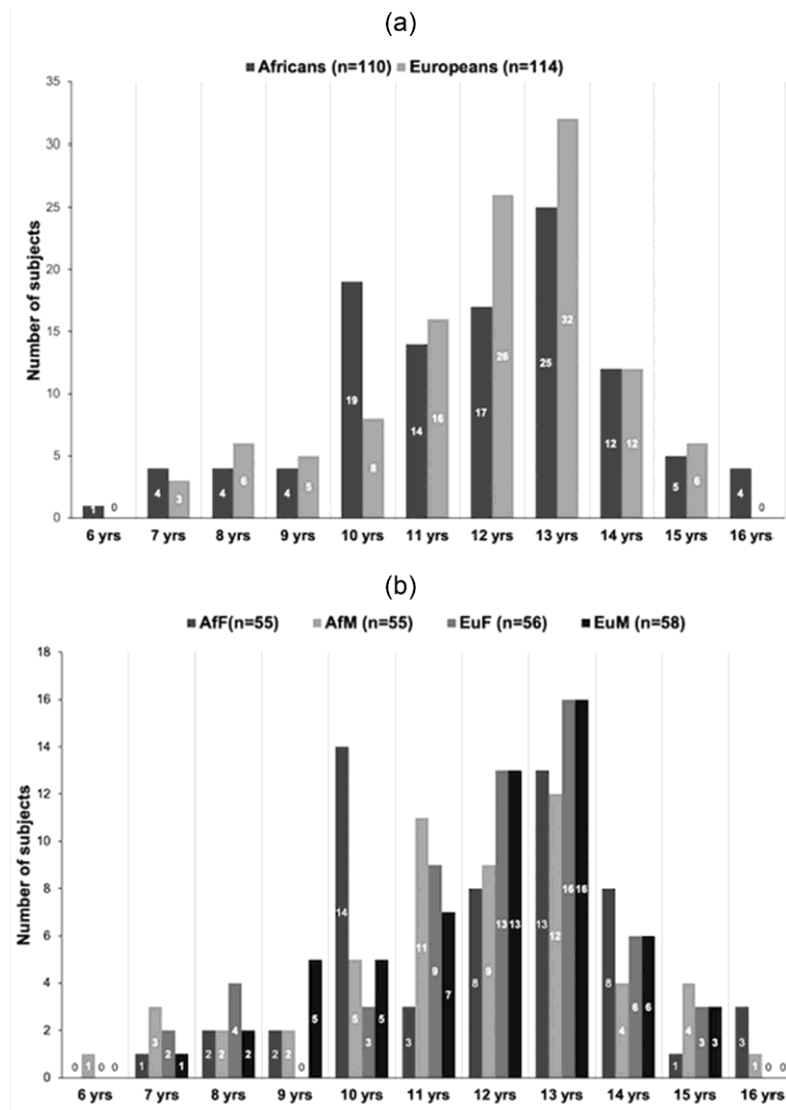


Figure 1. Age distribution of the sample by ancestry (a) and biological sex (b).

paired the X-rays evaluation with sensible data with sex, date of birth, and date of X-rays examination recorded in the Microsoft Excel® spreadsheets. The statistical analysis was performed by a fourth different independent researcher. The inter-observer reliability was calculated by the means of the Intra-class correlation (ICC).

2.2 Statistical analysis

For the statistical analysis, based on the median age of 12.54 yrs, the study sample was divided in two main groups: children below 13 yrs of age and subadults over 13 yrs of age. In this regard, it is worth mentioning that, although the legal age thresholds of criminal

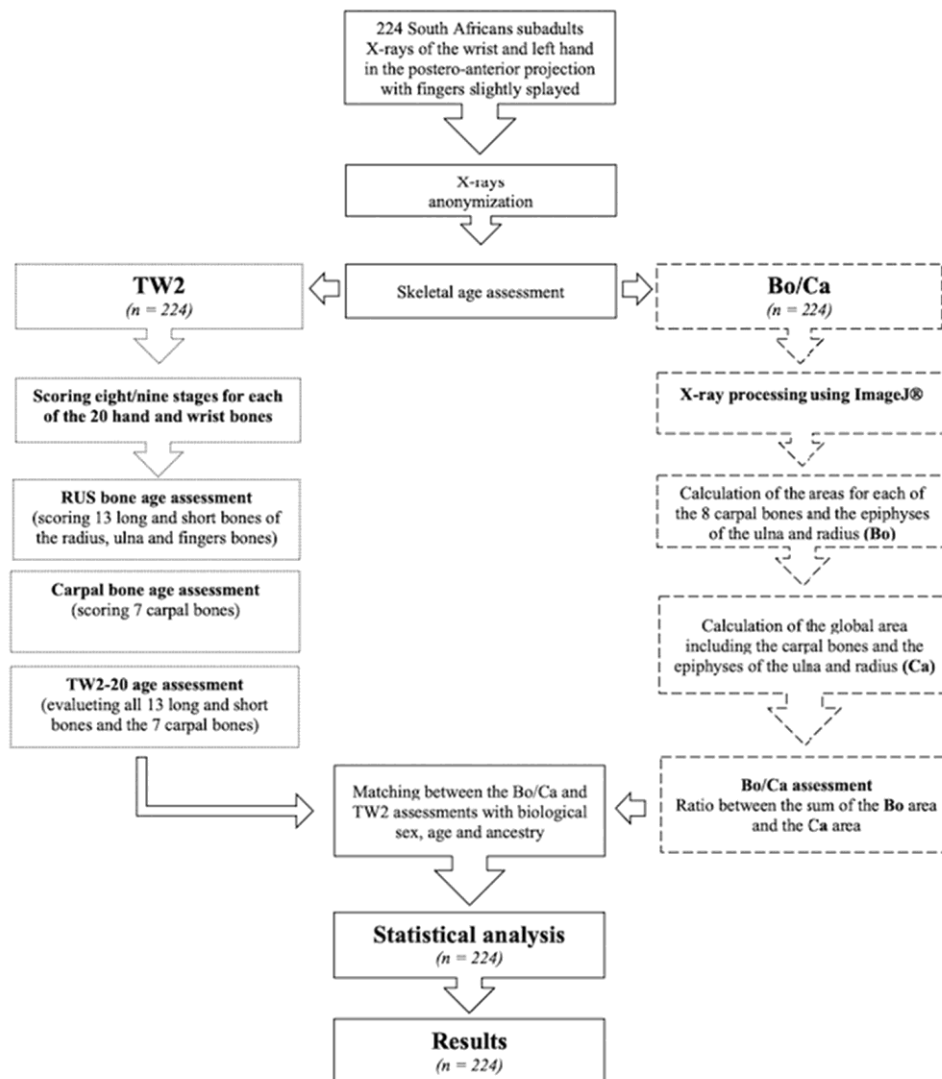


Figure 2. Flowchart of the study design.

responsibility (age at which individuals are liable for prosecution) vary considerably worldwide, the most common relevant age limit ranges between the 12th and 14th yrs of life. The age of 12 yrs is the threshold in Greece, the Netherlands, San Marino, Ireland and South Africa; the age of 13 yrs in France, Monaco, Poland; the age of 14 yrs in Bosnia and Herzegovina, Bulgaria, Croatia, Germany, Italy, Serbia, Slovenia, Romania, Japan, New Zealand, Spain, Hungary and Macedonia²⁵.

The statistical analysis was focused on the difference (Δ) between SAg and the CAg as an indicator ($\Delta = SAg - CAg$) of the performance of the applied methods. Therefore, positive values of Δ represent an overestimation of age assessment while Δ negative values represent an underestimation. The standard error (SE) of the estimates was calculated

for Bo/Ca, TW2, RUS and CARP methods in children younger than 13 yrs and in subadults 13 yrs or older, according to biological sex and ancestry. Therefore, the accuracy of both the Bo/Ca and the TW2 methods was assessed. Accuracy was considered according to the proportion of true results, either true positive or true negative. True positive values (TP) mean that a correct classification of individuals over 13 yrs occurred while true negative values (TN) represent when a correct classification of individuals below 13 yrs occurred. Individuals were considered correctly classified (CC) when a Δ value was in a range between ± 6 months of CAg. This time range can be considered enough to discriminate the legal age for forensic purposes.

Sensitivity and specificity of the Bo/Ca and the TW2 methods were also verified according to a cut-off age of 13 yrs. Sensitivity was considered according to the proportion of subjects CC as older than or equal to 13 yrs, while specificity was considered by the proportion of subjects CC younger than 13 yrs. Positive values were associated with CAg estimation of 13 yrs or older, whilst negative values were associated with individuals younger than 13 yrs. A multivariate linear regression analysis was finally performed when appropriate. The differences between the means were considered significant for at least a $p < 0.05$. The results are presented as mean \pm standard deviation (SD). All variables were subjected to statistical analysis using the SPSS 23 version.

3. Results

The study sample included 224 individuals from South Africa of different ancestry: 111 females (55 Af and 56 Eu) and 113 males (55 Af and 58 Eu), with a mean age of 12.3 yrs (SD 2.03). 56.6% of the sample was under 13 yrs (27.2% females and 29.4% males) and 43.3% was 13 yrs of age or older (22.3% females and 20.9% males). Table 1 shows the age, sex and ancestry distribution according to age groups. By examining the assessments made by the examiners, the inter-observer reliability was found to be very small to a near-complete agreement, as demonstrated by the ICC (0.998; 95% confidence interval, 0.998–0.999).

Δ values ($\Delta = \text{SAg} - \text{CAg}$) in the estimation of SAg versus CAg by using the Bo/Ca, RUS, CARP and TW2 are reported according to ancestry and biological sex in Table 2.

According to ancestry, Bo/Ca revealed an underestimation of CAg both in Eu (- 0.08 yrs) and Af subadults (- 0.07 yrs) without reaching any statistical significance ($p = 0.948$). RUS showed a statistically significant ($p < 0.0001$) overestimation of CAg within 1.34 yrs in Eu and within 0.53 yrs in Af individuals. CARP underestimated CAg both in Eu (- 1.09 yrs) and in Af (- 0.88 yrs) without reaching any statistical significance ($p = 0.068$). TW2 revealed an overestimation of CAg by 0.18 yrs in Eu subadults, and an underestimation of - 0.20 yrs in Af subadults, both statistically significant ($p < 0.0001$) Table 2a.

Table 1. Age, sex and ethnic distribution according to age groups.

Age group	Africans (Af)		Af Total	Europeans (Eu)		Eu Total
	Females n (%)	Males n (%)		Females n (%)	Males n (%)	
< 13	30 (54.5)	33 (60)	63	31 (55.4)	33 (56.9)	64
≥ 13	25 (45.5)	22 (40)	47	25 (44.6)	25 (43.1)	50
Total	55	55	110	56	58	114

Table 2. Δ values in the estimations of skeletal age versus chronological age, using the Bo/Ca, RUS, CARP and TW2 methods according to (a) ancestry and (b) biological sex.

Group	N	Bo/Ca	TW2	RUS	CARP
		Mean error (SD)	Mean error (SD)	Mean error (SD)	Mean error (SD)
(a)					
Europeans	114	-0.087 (0.877)	0.182 (0.839)	1.345 (1.073)	-1.094 (0.849)
Africans	110	-0.079 (0.870)	-0.205 (0.655)	0.531 (0.891)	-0.883 (0.623)
(b)					
Males	111	-0.197 (0.907)	0.196 (0.864)	1.046 (1.269)	-0.834 (0.687)
Females	113	0.032 (0.822)	-0.216 (0.614)	0.845 (0.803)	-1.182 (0.8)

SD, Standard Deviation

According to biological sex, Bo/Ca did not show a statistically significant underestimation of CAg both in males (- 0.19 yrs; $p = 0.983$) and females (0.03 yrs; $p = 0.943$). RUS showed a statistically significant overestimation of CAg within 1.04 yrs in males ($p < 0.0001$), but not in females with 0.80 yrs ($p = 0.698$). CARP revealed a statistically significant underestimation of CAg in males and in females (- 0.83 yrs and - 1.18 yrs respectively; both $p = 0.002$). Finally, TW2 showed an overestimation of CAg within 0.19 yrs in males and an underestimation of - 0.21 yrs in females: in both cases with a statistical significance of $p < 0.0001$ Table 2b.

Therefore, the accuracy of SAg assessment by Bo/Ca and TW2 methods appears to be reliable. The mean of Δ values ($\Delta = \text{SAg} - \text{CAg}$) falls mostly within 3 months, with a lower variability than RUS and CARP methods that were less accurate. In order to better represent the above data, Figure 3 depicts the boxplots of the Δ values ($\Delta = \text{SAg} - \text{CAg}$) according to ancestry (Figure 3(a)) and biological sex (Figure 3(b)).

In order to measure the effectiveness of each method in predicting the CAg, CC subjects were categorized by ancestry and biological sex. As already mentioned, individuals were considered CC when a Δ value was within ± 6 months of CAg. CC subjects with CAg into a range of ± 6 months by Bo/Ca, TW2, RUS and CARP are summarized in Table 3. TW2 reported the highest CC rate for Eu males (40%) and females (57%) and Af females (52%), while Bo/Ca showed the highest CC rate only for Af males (47%). CARP method yielded the lowest CC rate for Eu and Af females (8% and 35%, respectively) and for Af males (33%). RUS method showed the lowest CC rate for Eu males (7%) Table 3.

Sensitivity, specificity and accuracy of Bo/Ca, TW2, RUS and CARP for Eu and Af samples are reported in Table 4. RUS showed the highest sensitivity for the Eu (96%) and Af sample (98%). CARP reported the lowest sensitivity for Af and Eu individuals (66% and 42%, respectively) and the highest specificity for both Eu and Af (98%). RUS revealed the lowest specificity to both Eu and Af (34% and 78%, respectively). The linear regression between SAg and CAg assessed by Bo/Ca and TW2 is depicted in Figure 4. The multivariate linear regression analysis shows that TW2 and Bo/Ca are strong predictors of CAg, used as dependent variable according to biological sex and ancestry ($p < 0.0001$). The lowest, but still significant association was found between the Bo/Ca and the CAg ($\beta = 0.366$, 95% confidence interval 0.125–0.607, $p = 0.004$) in Af females.

Δ values ($\Delta = \text{SAg} - \text{CAg}$) in the SAg versus CAg according to ancestry and biological sex in those younger than 13 yrs (a) and in adolescents of 13 yrs or older (b) are reported in Table 5. The low values of standard error (SE) for each method in both age groups show how close is the SAg assessment to the CAg mean.

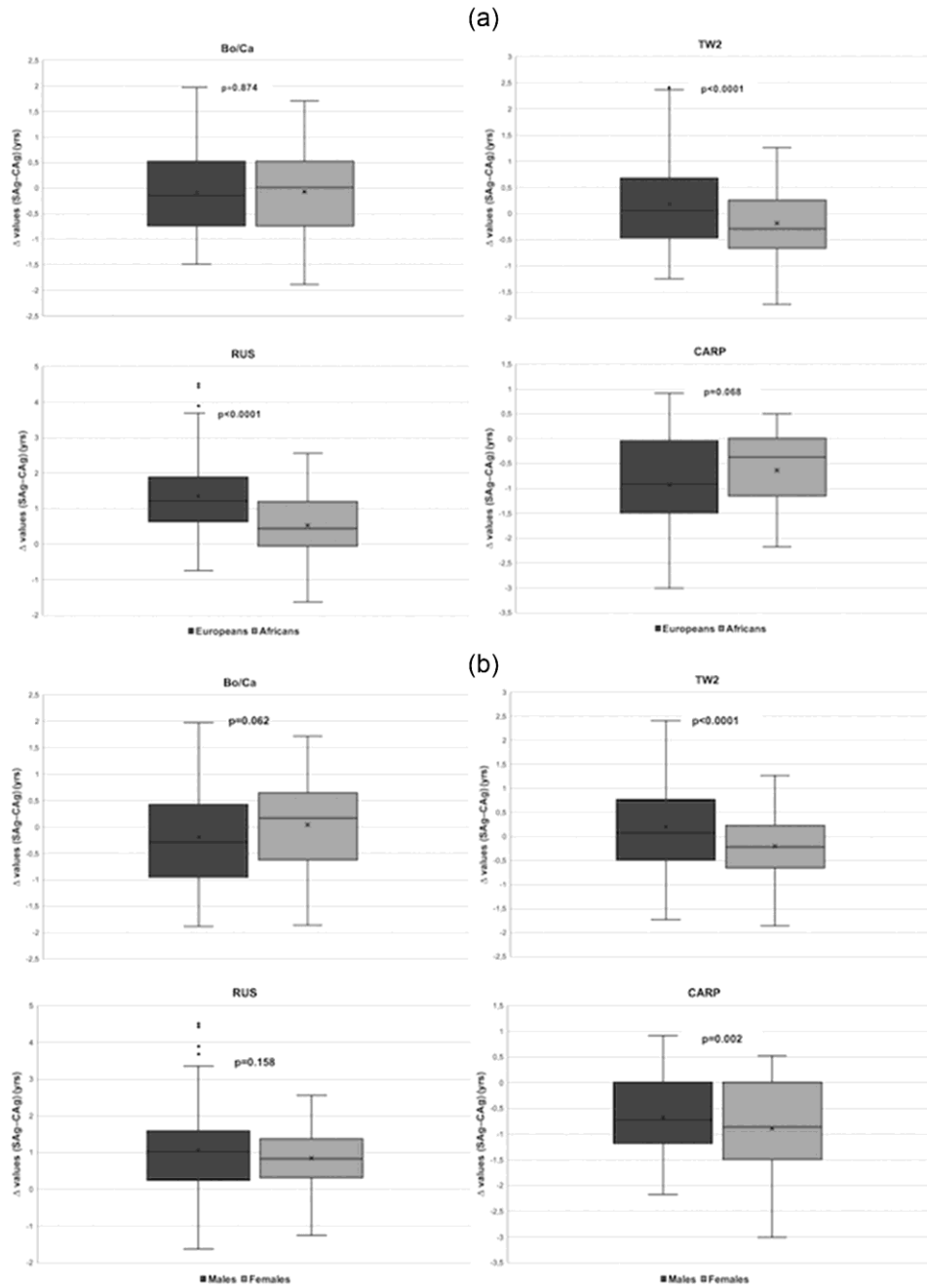


Figure 3. Boxplots of Δ values by ancestry (a) and biological sex (b).

For children below the age of 13 yrs, [Table 5a](#) Bo/Ca revealed a higher overestimation of CAg in Af females than in Af males (mean \pm SE: 0.477 ± 0.123 yrs vs 0.041 ± 0.158 yrs; $p = 0.036$). No differences were observed between Eu males and females (mean \pm SE: 0.036 ± 0.179 yrs vs 0.299 ± 0.129 yrs; $p = 0.171$). Similarly, RUS showed an

Table 3. Correctly classified individuals with chronological age into a range of ± 6 months.

Group	Bo/Ca n (%)	TW2 n (%)	RUS n (%)	CARP n (%)
EuM (n = 58)	19 (33)	23 (40)	4 (7)	10 (21)
EuF (n = 56)	24 (45)	32 (57)	15 (27)	4 (8)
AfM (n = 55)	26 (47)	23 (42)	24 (44)	15 (33)
AfF (n = 55)	20 (36)	28 (52)	21 (39)	12 (35)

EuM: European males; EuF: European females; AfM: African males; AfF: African females.

Table 4. Sensitivity, specificity and accuracy for Bo/Ca, TW2, RUS and CARP for African (Af) and European (Eu) sample groups.

	Bo/Ca		TW2		RUS		CARP	
	Eu	Af	Eu	Af	Eu	Af	Eu	Af
Sensitivity (%)	72	83	92	81	96	98	42	66
Specificity (%)	82	80	70	88	34	78	98	98
Accuracy (%)	77	81	81	85	65	88	70	82

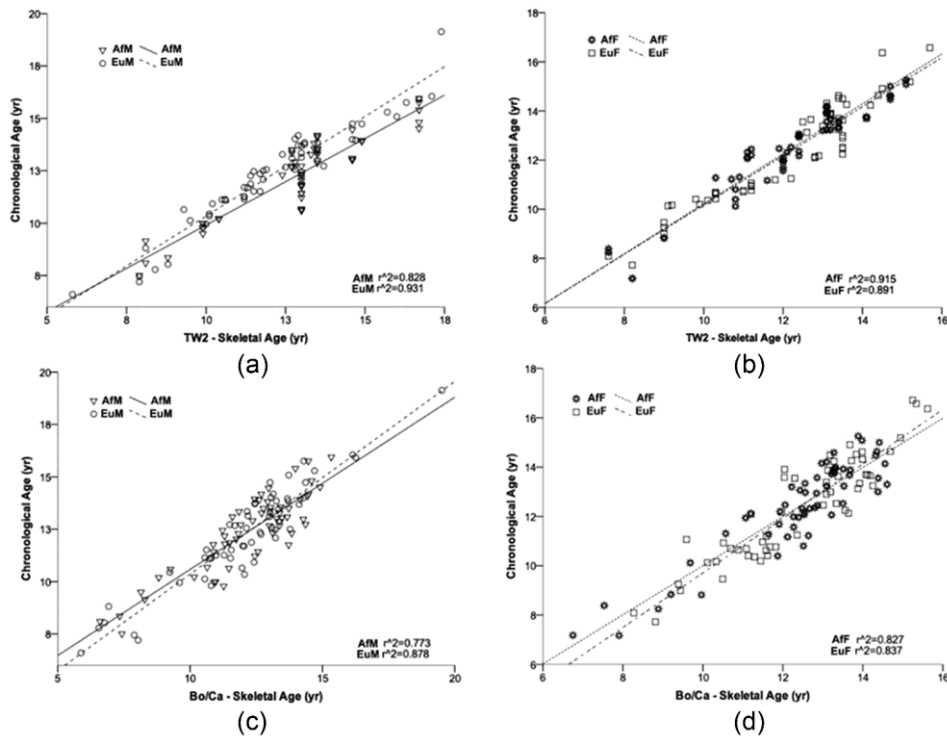


Figure 4. Linear regression between SAg calculated by Bo/Ca and TW2 methods and CAg, according to biological sex and ancestry: (a) African and European males; (b) African and European females; (c) African and European males, (d) African and European females.

overestimation of CAg in Af females much higher than in Af males (mean \pm SE: 1.423 ± 0.118 yrs vs 0.150 ± 0.151 yrs; $p < 0.0001$). An overestimation of CAg by RUS was also found in Eu males more than in Eu females (mean \pm SE: 2.242 ± 0.229 yrs vs

Table 5. Δ values in the SAg versus CAg, according to biological sex and ancestry in (a) younger than 13 yrs and (b) 13 yrs or older.

Group	Europeans			Africans			P
	Males Mean \pm SD (SE)	Females Mean \pm SD (SE)	p	Males Mean \pm SD (SE)	Females Mean \pm SD (SE)		
(a)							
Bo/Ca vs CAg	0.036 \pm 1.031 (0.179)	0.299 \pm 0.715 (0.129)	0.171	0.041 \pm 0.907 (0.158)	0.477 \pm 0.672 (0.123)	0.036	
TW2 vs CAg	0.685 \pm 0.802 (0.140)	-0.196 \pm 0.623 (0.112)	<0.0001	-0.247 \pm 0.544 (0.095)	0.153 \pm 0.599 (0.109)	0.007	
RUS vs CAg	2.242 \pm 1.315 (0.229)	0.926 \pm 0.787 (0.141)	<0.0001	0.150 \pm 0.865 (0.151)	1.423 \pm 0.646 (0.118)	<0.0001	
CARP vs CAg	-0.507 \pm 0.627 (0.111)	-1.090 \pm 0.761 (0.137)	0.002	-0.641 \pm 0.565 (0.098)	-0.787 \pm 0.548 (0.100)	0.303	
(b)							
Bo/Ca vs CAg	-0.504 \pm 0.755 (0.151)	-0.361 \pm 0.743 (0.149)	0.503	-0.554 \pm 0.668 (0.143)	-0.489 \pm 0.785 (0.157)	0.763	
TW2 vs CAg	0.506 \pm 0.914 (0.183)	-0.335 \pm 0.462 (0.092)	<0.0001	-0.225 \pm 0.782 (0.167)	-0.576 \pm 0.525 (0.107)	0.078	
RUS vs CAg	1.214 \pm 0.592 (0.119)	0.809 \pm 0.587 (0.117)	0.019	0.407 \pm 0.662 (0.141)	0.053 \pm 0.513 (0.105)	0.048	
CARP vs CAg	-1.421 \pm 0.537 (0.139)	-1.832 \pm 0.839 (0.193)	0.110	-1.498 \pm 0.355 (0.102)	-1.765 \pm 0.158 (0.079)	0.173	

SD: Standard Deviation; SE: Standard Error.

Table 6. Sensitivity, specificity and accuracy for Bo/Ca, TW2, RUS and CARP according to biological sex and ancestry.

	Bo/Ca				TW2				RUS				CARP			
	EuM	EuF	AfM	AfF	EuM	EuF	AfM	AfF	EuM	EuF	AfM	AfF	EuM	EuF	AfM	AfF
Sensitivity (%)	64	80	77	88	92	92	73	88	100	92	100	96	52	32	45	81
Specificity (%)	72	92	84	76	40	100	96	80	8	60	100	56	96	100	96	100
Accuracy (%)	68	86	81	82	66	96	85	84	54	76	57	76	74	66	72	92

EuM: European males; EuF: European females; AfM: African males; AfF: African females.

0.926 ± 0.141 yrs; $p < 0.0001$). No differences were observed between Af males and Af females in CARP estimation of CAg (mean \pm SE: -0.641 ± 0.098 yrs vs -0.787 ± 0.100 yrs; $p = 0.303$). A statistically significant ($p = 0.002$) underestimation of CAg by CARP greater in Eu females than in Eu males was reported (mean \pm SE: -1.090 ± 0.137 yrs vs -0.507 ± 0.111 yrs; $p = 0.002$). TW2 showed an underestimation of CAg in Af males and an overestimation in Af females, with a statistically significant difference (mean \pm SE: -0.247 ± 0.095 yrs vs 0.153 ± 0.109 yrs; $p = 0.007$). TW2 also showed an overestimation of CAg in Eu males and an underestimation in Eu females with a statistically significant difference (mean \pm SE: 0.685 ± 0.140 yrs vs -0.196 ± 0.112 yrs; $p < 0.0001$; Table 5a).

For subjects aged 13 yrs or older Table 5b, Bo/Ca did not reveal a statistically significant difference in the underestimation of CAg between Af males and Af females (mean \pm SE: -0.554 ± 0.143 yrs vs -0.489 ± 0.157 yrs; $p = 0.763$) and between Eu males and Eu females (mean \pm SE: -0.504 ± 0.151 yrs vs -0.361 ± 0.149 yrs; $p = 0.503$). RUS showed an overestimation of CAg, which was higher in Af males than in Af females (mean \pm SE: 0.407 ± 0.141 yrs vs 0.053 ± 0.105 yrs; $p = 0.048$) and higher in Eu males than in Eu females (mean \pm SE: 1.214 ± 0.119 yrs vs 0.809 ± 0.117 yrs; $p = 0.019$). CARP did not show a statistically significant difference in underestimation of CAg between Af females and Af males (mean \pm SE: -1.765 ± 0.079 yrs vs -1.498 ± 0.102 yrs; $p = 0.173$), as well as between Eu females and Eu males (mean \pm SE: -1.832 ± 0.193 yrs vs -1.421 ± 0.139 yrs; $p = 0.110$). TW2 did not show any difference in underestimation of CAg between Af females and Af males (mean \pm SE: -0.576 ± 0.107 yrs vs -0.225 ± 0.167 yrs; $p = 0.078$), while it showed a higher overestimation in Eu males than in Eu females (mean \pm SE: 0.506 ± 0.183 yrs vs -0.335 ± 0.092 yrs; $p < 0.0001$).

Sensitivity, specificity and accuracy of Bo/Ca, TW2, RUS and CARP according to ancestry and biological sex are reported in Table 6. In terms of the Eu male sample, the greatest sensitivity (the proportion of subjects correctly classified as older than or equal to 13 yrs) was provided by the RUS method (100%), while the lowest sensitivity was provided by the CARP method (52%); the highest values of specificity and accuracy were provided by the CARP method (96% and 74%, respectively), while the lowest values were provided by the RUS method (8% and 54%, respectively). Regarding the Eu females, the highest sensitivity was shown by the TW2 and RUS (92%), the greatest specificity by the TW2 and CARP (100%) and the highest accuracy by TW2 method (96%); CARP revealed the lowest sensitivity and accuracy (32% and 66%, respectively), and the lowest specificity was by the RUS method (60%). In terms of Af males, the RUS showed the greatest sensitivity and specificity (both 100%), while the highest accuracy (85%) was observed by TW2; the lowest sensitivity was 45% by

CARP, the lowest specificity was 84% with the Bo/Ca and the lowest accuracy was 57% with the RUS method. Finally, regarding Af females, the method with the highest sensitivity was the RUS (96%), while the CARP method showed the highest values of specificity and accuracy (100% and 92%, respectively); the lowest specificity and accuracy were provided by RUS (56% and 76%, respectively), while CARP showed the lowest sensitivity (81%).

4. Discussion

The aim of the research study was to compare the accuracy of SAg assessment by Bo/Ca and TW2 in South African subadults focusing on ancestry and biological sex. In terms of ancestry, for the Eu sample, the CAg can be overestimated by TW2 and RUS, while it can be underestimated by Bo/Ca and CARP. Regarding the Af sample, an overestimation of the CAg was only observed with the RUS method. For RUS and CARP methods only, Δ values in the estimation of SAg and CAg were greater than or equal to 1.00 yrs for Eu individuals. For Bo/Ca and TW2, the mean of Δ values ($\Delta = \text{SAg} - \text{CAg}$) between SAg and CAg was less than 3 months. In particular, the Bo/Ca method showed Δ values of -0.08 and -0.07 yrs in Eu and Af individuals, respectively. Although the Bo/Ca method was not statistically significant, the TW2 method showed a significant difference between SAg – CAg assessments, both in Eu and Af [Table 2](#).

In terms of biological sex, an overestimation of the CAg was observed applying TW2 on males, Bo/Ca on females and RUS on both genders. An underestimation of CAg was observed by using Bo/Ca on males, TW2 on females and CARP on both biological sexes. Similar to findings for ancestry, RUS and CARP methods showed Δ values greater than or equal to 1.00 yrs both in males and females. For Bo/Ca and TW2, the mean Δ values between SAg and CAg were less than 3 months. In particular, the Bo/Ca method showed Δ values of -0.19 and 0.03 yrs in males and females, respectively, while the TW2 method showed Δ values of 0.19 and -0.21 yrs in males and females, respectively. Regarding the TW2 method only, there was, again, a statistically significant difference between SAg – CAg both in males and females. Data analysis showed an inverse relationship between Bo/Ca and TW2: Bo/Ca underestimated in males and overestimated in females, while TW2 underestimated females and overestimated the male sample.

For individuals younger than 13 yrs old, CAg was overestimated by Bo/Ca in Af females (mean \pm SE: 0.477 ± 0.123 yrs), by RUS in Af females and Eu males (mean \pm SE: 1.423 ± 0.118 yrs and 2.242 ± 0.229 yrs, respectively), and by TW2 in Eu males (mean \pm SE: 0.685 ± 0.140 yrs); CAg was only underestimated by TW2 in Af males (mean \pm SE: -0.247 ± 0.095 yrs), and by CARP in Eu females (mean \pm SE: -1.090 ± 0.137 yrs) [Table 5a](#). For individuals of 13 yrs or older, CAg was overestimated by TW2 in Eu males (mean \pm SE: 0.506 ± 0.183 yrs), and by RUS in Af and Eu males (mean \pm SE: 0.407 ± 0.141 yrs and 1.214 ± 0.119 yrs, respectively) [Table 5b](#). The low values of the SE calculated for Bo/Ca and TW2 methods in both age groups show how close can be the SAg assessment to the CAg mean.

Unfortunately, there are very few studies dealing with forensic age assessment among the South African population, a multi-ethnic society of over 58 million people encompassing a wide variety of cultures. The G&P method applied within a South African population (102 hand-wrist radiographs) has highlighted a significant underestimation

for both biological sexes: of 11.5 ± 17 months and 7.4 ± 13.2 months for the 10.1 to 15 yrs age groups in males and females respectively¹². Another study has confirmed the risk of underestimation in Af boys by using the G&P with a trend leaning towards the underestimation of skeletal age as the chronological age increases²⁶. Significant differences between SAg and CAg have been also found on 849 Turkish adolescents, aged between 9 and 17 yrs, indicating that using the G&P atlas bone development is completed earlier in children living in Central Anatolia region (girls: 0.28 ± 0.6 yrs; boys: -0.10 ± 0.3 yrs) compared than those in Eastern Anatolia region (girls: 1.19 ± 1.2 yrs; boys: 0.90 ± 1.2 yrs)²⁷. Furthermore, the level of accuracy achieved by G&P on a contemporary Australian population (360 individuals, aged from birth to 25 yrs) resulted not suitable for the determination of legal majority²⁸. In a group of contemporary Thais, G&P has also shown a lower accuracy for age threshold of 18 yrs, (53.8% for females and 54.4% for males) compared with the age threshold of 10 yrs (83.2% for females and 79.63% for males)²⁹.

Based on the limitations of G&P, the present research study focused on the accuracy of alternative methods like the Bo/Ca and TW2. The Bo/Ca method was recently applied in a retrospective study involving a total of 563 South African subadults (179 Af and 385 Eu) aged between 7 and 16 yrs²⁰. The results showed a method error of 1.19 yrs and 1.09 yrs in males and females, respectively. This inaccuracy can be even greater by up to 3.09 yrs in 16 yr old boys, which is a significant underestimation in boys in the oldest age groups of 16 to 17 yrs²⁰. A similar underestimation has been also observed in a retrospective study on a total of 257 Egyptian children and adolescents, aged between 4 and 18 yrs³⁰. In this North African population, the Bo/Ca method was considered not completely suitable, as the Δ value was greater than one year of age (1.67 yrs) with a SE of 1.85 yrs³⁰. Based on these findings, the Bo/Ca method in forensic scenarios could be also limited to late adolescence²⁰. In fact, better results have been assessed in the European population and early adolescence. In a pilot study on Italian children aged between 5 and 17 yrs, a Δ value of 0.08 yrs has been reported with a SE of estimate of 1.19 yrs¹⁸. In another research study on Slovenian children aged between 6 and 16 yrs, the Δ value was 0.02 yrs with a SE of 0.96 years³¹.

By using both the Bo/Ca and the TW2, in the present research study, the mean Δ values fall within 3 months either side, with a small variability between the two techniques. Bo/Ca and TW2 correctly classified individuals both in the Eu (- 0.08 and 0.18 yrs, respectively) and in the Af sample group (- 0.07 and - 0.20 yrs, respectively) and both in males (- 0.19 and 0.19 yrs, respectively) and females (- 0.03 and - 0.21 yrs, respectively). Bo/Ca and TW2 are more accurate than the RUS and CARP methods since the SAg estimates by Bo/Ca and TW2 are close to the CAg. In the past, the SAg assessed by RUS also showed a greater variability than the CARP method in the different age-groups of European children like those living in Netherlands³², Austria³³, Denmark³⁴, and Belgium³⁵. Instead, in a contemporary Western Australian population, TW3 RUS for female and TW2 Carpal system for males have been considered the most accurate methods³⁶. Other studies on population variability showed that hand and wrist bones completed maturation about the same age in British and Japanese children³⁷ but not in Chinese and North American adolescents^{38,39}.

According to previous reports^{18,31}, in the present study both Bo/Ca and TW2 methods showed greater inaccuracy in subadults aged 13 yrs or older compared with children

younger than 13 yrs old. Although the SE calculated for each method shows how close the SAg assessments are to the mean CAg in children younger and older than 13 yrs, both methods show greater accuracy in early adolescence than in subadults aged 13 yrs or older. Furthermore, SAg estimates performed by Bo/Ca seem to be less influenced by ancestry and biological sex than the TW2 method. In particular, TW2 overestimated SAg in Eu males both younger and older than 13 yrs (mean \pm SE: 0.685 ± 0.140 yrs and 0.506 ± 0.183 yrs, respectively) and underestimated SAg in Af males younger than 13 yrs (mean \pm SE: -0.247 ± 0.095 yrs). In contrast, Bo/Ca only overestimated SAg in Af females younger than 13 yrs (mean \pm SE: 0.477 ± 0.123 yrs) [Table 5](#).

These results are worth mentioning as the most common relevant age limit ranges between the 12th and 14th yrs of life²⁵ resulting in a high data variance in bone maturity. At 12–13 yrs of age a rapid acceleration of development can be observed in girls and boys, which may represent the onset of the pubertal growth spurt rapid⁴⁰. Previous studies have also shown greater accuracy of the G&P atlas and TW2 in young adolescents compared with individuals at the age threshold of 18 yrs^{20,27–29,36}. In particular, in a sample of 563 South African subadults a Bo/CA method error of 1.19 yrs and 1.09 yrs in boys and girls, respectively, has been calculated with a range from 0.84 yrs in 12 yrs old girls to 3.09 yrs old in 16 yrs old boys²⁰. A study on a contemporary Western Australian population (360 individuals from birth to 25 years) reports a spread SE of the estimates by TW2 (for females ± 0.09 –3.46 yrs and for males ± 0.02 –3.43 yrs) not appropriate for establishing the age limit of majority (18 yrs)³⁶. Based on prediction models developed by G&P, similar results have been also discussed by a recent study on Australian individuals reporting the mean SE of the estimates for females (± 0.25 –0.421 yrs) and males (± 0.005 –0.90 yrs)²⁸. Of course, the differences of these results in respect to our results can be explained by the different sample size, characteristics of population (range of age), radiological methods applied, and stratification by age group, biological sex and ancestry. However, according to our results and the reference literature, the application of the Bo/Ca and TW2 methods must consider the risk of overestimation and underestimation related to different age groups, in particular at the age limit of 13 yrs, that is the threshold of legal age in most of the Countries when a rapid acceleration of growth occurs according to biological sex and ancestry. The application of quantitative radiological methods such as Bo/Ca and TW2 must also consider the margin of error depending on geographic distribution of the population and biological sex.

There are a number of limitations in the present study that can be related to the many factors affecting age assessment in forensic process. Although medical records were negative for endocrine or musculo-skeletal disorders, normal variation in skeletal maturity can occur. Normal variation in maturation means that CAg and SAg may differ by ± 2 yrs. Such variation could be mainly referred to socioeconomic and nutritional factors rather than ancestry itself, but this hypothesis cannot be confirmed, as no specific information was available in the present study⁴¹. In this regard, a cross-sectional survey of South African children aged 9–11 yrs was performed using the G&P atlas⁴². Skeletal maturity of Eu males and females in 2001 was found in advance of the 1962 cohort by an average of 3.4 months and 2.0 months respectively, while the skeletal maturity of Af males and females in 2001 was in advance of the 1962 cohort by an average of 9.7 months and 15.8 months respectively⁴².

A total of 244 Af children aged 9/10 yrs old was also studied using the TW3 method and an average of 0.66 yrs delay in skeletal maturation relative to chronological age for males and up to a 1.00 yrs delay for females was found⁴¹. Differences in the onset of pubertal development have been also reported between ethnic groups. A precocity pattern in skeletal development was observed in Af children compared to Eu children⁴³. Af females have shown to be more advanced than Eu females in terms of age at the beginning of puberty and menarche^{44,45}. The skeletal development of Af females can occur earlier than that of Eu females in childhood due to the early appearance of ossification centres. However, no statistically significant differences were found in Af and Eu males⁴³.

The pattern of maturation can also differ between sexes. In a study of 607 boys and girls of Af and Eu ancestry, aged from 9 to 20 yrs, skeletal maturity was reached 1.9 years earlier in girls than boys. However, among girls, there were no ethnic differences in the timing of skeletal maturity, while within boys, skeletal maturity was delayed by 7 months in Af compared with Eu ancestry⁴⁶. These results support the hypothesis that children are more susceptible to delays in growth and maturation in unfavourable environments⁴⁶ and this must be taken into consideration during any forensic age estimation process.

5. Conclusion

Although the use of X-rays for forensic purposes gives rise to relevant ethical and legal issues⁴⁷ and no imaging method is able to estimate age with 100% accuracy⁴⁸, according to AGFAD, radiological techniques for the assessment of bone and dental maturity are strongly recommended because they are objective and easy to use². However, many factors can affect the accuracy of the age estimation process, such as ancestry and biological sex. This is also confirmed by the results of the present retrospective study and is dependent upon the technique applied and the age range of the children.

Based on our results, Bo/Ca and TW2 can be reliable radiological methods for forensic age estimation among the living. SAg assessments made by Bo/Ca and TW2 can fall within 3 months either side of the CAg and are more accurate than RUS and CARP methods. Unfortunately, Bo/Ca and TW2 show greater inaccuracy in subadults aged 13 yrs or older compared with children younger than 13 yrs old, as already observed in other retrospective studies on South African subadults²⁰ and Western Australian population^{28,36}. SAg estimates by Bo/Ca seem to be less influenced by ancestry and biological sex compared to TW2. However, limitations dealing with normal variation in skeletal maturation due to nutritional and socioeconomic variables must be always taken into account.

Age assessment in the living requires a holistic and multidisciplinary approach⁴⁹ and, based on the gradual implementation of the age assessment process, methods involving radiation should be applied as the very last option when radiation-free methods are uncertain and when serious doubts about the child's age exist. Although no single method can accurately assess the chronological/legal age or whether the individual is physically mature (biological age), radiological methods are still more objective and reliable than non-medical methods. In forensic age assessment, it would be appropriate to consider the information on skeletal development provided by Bo/Ca and TW2 methods to the reference population along with other non-medical methods for recording anthropometric measures, and signs of sexual and dental maturation.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the author(s).

References

1. Beh P, Payne-James J. Clinical and legal requirements for age determination in the living. In: Black S, Aggrawal A, Payne-James J, editors. *Age estimation in the living. The practitioners guide*. 1st ed. Chichester (West Sussex, UK): Wiley; 2010; p. 30–42.
2. Schmeling A, Grundmann C, Fuhrmann A, Kaatsch HJ, Knell B, Ramsthaler F, Reisinger W, Riepert T, Ritz-Timme S, Rösing FW, et al. Criteria for age estimation in living individuals. *Int J Legal Med*. 2008;122(6):457–460. Epub 2008 Jun 12. doi:10.1007/s00414-008-0254-2
3. Santoro V, De Donno A, Marrone M, Campobasso CP, Introna F. Forensic age estimation of living individuals: a retrospective analysis. *Forensic Sci Int*. 2009;193(1–3):129.e1–4. doi:10.1016/j.forsciint.2009.09.014
4. Introna F, Campobasso CP. Biological vs legal age of living individuals. In: Schmitt A, Cunha E, Pinheiro J, editors. *Forensic anthropology and medicine. Complementary sciences from recovery to cause of death*. Totowa (New Jersey): Humana Press; 2006; p. 57–82.
5. Greulich W, Pyle SI. *Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist*. Stanford: Stanford University Press; 1959.
6. Cunha E, Baccino E, Martrille L, Ramsthaler F, Prieto J, Schuliar Y, Lynnerup N, Cattaneo C. The problem of aging human remains and living individuals: a review. *Forensic Sci Int*. 2009;193(1–3):1–13. doi:10.1016/j.forsciint.2009.09.008
7. Loder RT, Estle DT, Morrison K, Eggleston D, Fish DN, Greenfield ML, Guire KE. Applicability of the Greulich and Pyle skeletal age standards to Black and White children of today. *Am J Dis Child*. 1993;147(12):1329–1333. doi:10.1001/archpedi.1993.02160360071022
8. Ontell FK, Ivanovic M, Ablin DS, Barlow TW. Bone age in children of diverse ethnicity. *AJR Am J Roentgenol*. 1996;167(6):1395–1398. doi:10.2214/ajr.167.6.8956565
9. Zhang A, Sayre JW, Vachon L, Liu BJ, Huang HK. Racial differences in growth patterns of children assessed on the basis of bone age. *Radiology*. 2009;250(1):228–235. doi:10.1148/radiol.2493080468
10. Tanner JM, Whitehouse RH, Cameron N, Marshall WA, Healy MJR, Goldstein H. *Assessment of skeletal maturity and prediction of adult height (TW2 method)*. London: Academic Press; 1975.
11. Tanner JM, Whitehouse RH, Cameron N, Marshall WA, Healy MJR, Goldstein H. *Assessment of skeletal maturity and prediction of adult height (TW3 method)*. London: Academic Press; 2001.
12. Govender D, Goodier M. Bone of contention: the applicability of the Greulich-Pyle method for skeletal age assessment in South Africa. *SA J Radiol*. 2018;22(1):1348. doi:10.4102/sajr.v22i1.1348
13. Bertaina C, Stasiowska B, Benso A, Vannelli S. Is TW3 height prediction more accurate than TW2? Preliminary data. *Horm Res*. 2007;67(5):220–223. doi:10.1159/000097439
14. Lucina Hackman S, Buck A, Black S. Age evaluation from the skeleton. In: Black S, Aggrawal A, Payne-James J, editors. *Age estimation in the living. The practitioners guide*. 1st ed. Chichester (West Sussex, UK): Wiley; 2010; p. 202–235.
15. Bull RK, Edwards PD, Kemp PM, Fry S, Hughes IA. Bone age assessment: a large scale comparison of the Greulich and Pyle, and Tanner and Whitehouse (TW2) methods. *Arch Dis Child*. 1999;81(2):172–173. doi:10.1136/adc.81.2.172
16. Cox LA. Tanner-Whitehouse method of assessing skeletal maturity: problems and common errors. *Horm Res* 1996;45(Suppl 2):53–55. doi:10.1159/000184848
17. De Sanctis V, Di Maio S, Soliman AT, Raiola G, Elalaily E, Hand MG. X-ray in pediatric endocrinology: skeletal age assessment and beyond. *Indian J Endocrinol Metab*. 2014;18:63–71. doi:10.4103/2230-8210.145076

18. Cameriere R, Ferrante L, Mirtella D, Cingolani M. Carpals and epiphyses of radius and ulna as age indicators. *Int J Legal Med.* 2006;120(3):143–146. doi:10.1007/s00414-005-0040-3
19. De Luca S, Mangiulli T, Merelli V, Conforti F, Velandia Palacio LA, Agostini S, Spinass E, Cameriere R. A new formula for assessing skeletal age in growing infants and children by measuring carpals and epiphyses of radio and ulna. *J. Forensic Leg. Med.* 2016;39:109–116. doi:10.1016/j.jflm.2016.01.030
20. Angelakopoulos N, Galić I, De Luca S, Campobasso CP, Martino F, De Micco F, Coccia E, Cameriere R. Skeletal age assessment by measuring planar projections of carpals and distal epiphyses of ulna and radius bones in a sample of South African subadults. *Aust J Forensic Sci.* 2020;1–13. doi:10.1080/00450618.2020.1766111
21. Cameron N, Lones LL. Growth, maturation and age. In: Black S, Aggrawal A, Payne-James J, editors. *Age estimation in the living. The practitioners guide.* 1st ed. Chichester (West Sussex, UK): Wiley; 2010; p. 95–129.
22. Tanner JM, Whitehouse RH, Healy MJR. A new system for estimating skeletal maturity from the hand and wrist, with standards derived from a study of 2,600 healthy British children. Part II. The scoring system. Paris: International Child Centre; 1962.
23. Schmeling A, Reisinger W, Loreck D, Vendura K, Markus W, Geserick G. Effects of ethnicity on skeletal maturation: consequences for forensic age estimations. *Int J Leg Med.* 2000;113(5):253–258. doi:10.1007/s004149900102
24. World Medical Association. World medical association declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA.* 2013;310(20):2191–2194. doi:10.1001/jama.2013.281053
25. Cameriere R. *AgEstimation project: Cameriere's methods for age estimation.* Macerata (Italy): Eum Edizioni; 2008.
26. Dembetembe KA, Morris AG. Is Greulich-Pyle age estimation applicable for determining maturation in boy Africans? *S Afr J Sci* 2012;108(9/10):1–6. doi:10.4102/sajs.V108I9/10.1036
27. Öztürk F, Karataş OH, Mutaf HI, Babacan H. Bone age assessment: comparison of children from two different regions with the Greulich–Pyle method In Turkey. *Aust J Forensic Sci.* 2016;48(1):694–703. doi:10.1080/00450618.2015.1119311
28. Maggio A, Flavel A, Hart R, Franklin D. Assessment of the accuracy of the Greulich and Pyle hand-wrist atlas for age estimation in a contemporary Australian population. *Aust J Forensic Sci.* 2018;50(4):385–395. doi:10.1080/00450618.2016.1251970
29. Benjavongkulchai S, Pittayapat P. Age estimation methods using hand and wrist radiographs in a group of contemporary Thais. *Forensic Sci Int.* 2018;287:218.e1–218.e8. doi:10.1016/j.forsciint.2011.09.022
30. El-Bakary AA, Attalla SM, Hammad SM, El-Ashry RA, De Luca S, Ferrante L, Cameriere R. Age estimation in Egyptian children by measurements of carpals and epiphyses of the ulna and radius. *J Forensic Radiol Imaging.* 2014;2(3):121–125. doi:10.1016/j.jofri.2014.03.009
31. Cameriere R, Ferrante L, Ermenc B, Mirtella D, Strus K. Age estimation using carpals: study of a Slovenian sample to test Cameriere's method. *Forensic Sci Int.* 2008;174(2–3):178–181. doi:10.1016/j.forsciint.2007.04.212
32. van Venrooij-ijsselmuiden ME. Mixed longitudinal data on height, weight, limb circumferences and skinfold measurements of Dutch children. *Hum Biol.* 1978;50(3):369–384.
33. Wenzel A, Droschl H, Melsen B. Skeletal maturity in Austrian children assessed by the GP and the TW-2 methods. *Ann Hum Biol.* 1984;11(2):173–177. doi:10.1080/03014468400007041
34. Wenzel A, Melsen B. Skeletal maturity in 6–16-year-old Danish children assessed by the Tanner-Whitehouse-2 method. *Ann Hum Biol.* 1982;9(3):277–281. doi:10.1080/03014468200005761
35. Beunen G, Lefevre J, Ostyn M, Renson R, Simons J, Van Gerven D. Skeletal maturity in Belgian youths assessed by the Tanner-Whitehouse method (TW2). *Ann Hum Biol.* 1990;17(5):355–376. doi:10.1080/0301446900001142
36. Maggio A, Flavel A, Hart R, Franklin D. Skeletal age estimation in a contemporary Western Australian population using the Tanner–Whitehouse method. *Forensic Sci Int.* 2016;263:e1–e8. doi:10.1016/j.forsciint.2016.03.042

37. Kimura K. Skeletal maturity of the hand and wrist in Japanese children by the TW2 method. *Ann Hum Biol.* 1977;4(4):353–356. doi:10.1080/03014467700002281
38. Tanner J, Oshman D, Bahhage F, Healy M. Tanner-Whitehouse bone age reference values for North American children. *J Pediatr.* 1997;131(1):34–40. doi:10.1016/s0022-3476(97)90000-7
39. Ashizawa K, Kumakura C, Zhou X, Jin F, Cao J. RUS skeletal maturity of children in Beijing. *Ann Hum Biol.* 2005;32(3):316–325. doi:10.1080/03014460500087725
40. Reynolds MS, MacGregor DM, Alston-Knox CL, Gregory LS. Quantifying the ossification of the carpus in skeletal age estimation: radiographic standards for Australian subadults. *Forensic Sci Int.* 2019;301:e8–e13. doi:10.1016/j.forsciint.2019.05.028
41. Hawley NL, Rousham EK, Johnson W, Norris SA, Pettifor JM, Cameron N. Determinants of relative skeletal maturity in South African children. *Bone.* 2012;50(1):259–264. doi:10.1016/j.bone.2011.10.029
42. Hawley NL, Rousham EK, Norris SA, Pettifor JM, Cameron N. Secular trends in skeletal maturity in South Africa: 1962–2001. *Ann Hum Biol.* 2009;36(5):584–594. doi:10.1080/03014460903136822
43. Malina RM, Boucharad C, Bar-Or O. Growth, maturation and physical activity. 2nd ed. Champaign: Human Kinetics; 2004.
44. Anderson SE, Dallal GE, Relative Weight MA. Race influence average age at menarche: results from two nationally representative surveys of US girls studied 25 years apart. *Pediatrics.* 2003;111(4):844–850. doi:10.1542/peds.111.4.844
45. Chumlea WC, Schubert CM, Roche AF, Kulin HE, Lee PA, Himes JH, Sun SS. Age at menarche and racial comparisons in US girls. *Pediatrics.* 2003;111(1):110–113. doi:10.1542/peds.111.1.110
46. Cole TJ, Rousham EK, Hawley NL, Cameron N, Norris SA, Pettifor JM. Ethnic and sex differences in skeletal maturation among the birth to twenty cohort in South Africa. *Arch Dis Child.* 2015;100(2):138–143. doi:10.1136/archdischild-2014-306399
47. De Micco F, Martino F, Campobasso CP. Ethical issues in age assessment by the third molar development. *Australian J Forensic Sci.* 2020;1–12. doi:10.1080/00450618.2020.1789220
48. Gulsahi A, De Luca S, Cehreli SB, Tirali RE, Cameriere R. Accuracy of the third molar index for assessing the legal majority of 18 years in Turkish population. *Forensic Sci Int.* 2016;266:584.e1–584.e6. doi:10.1016/j.forsciint.2016.04.034
49. European Asylum Support Office (EASO). EASO practical guide on age assessment. 2nd ed. [Accessed 2020 Jul 27]. <https://www.easo.europa.eu/sites/default/files/easo-practical-guide-on-age-assesment-v3-2018.pdf>

Capitolo V

CONCLUSIONI

La stima dell'età anagrafica esperita mediante metodiche mediche, cliniche e di diagnostica per immagini, presenta molteplici criticità in relazione alla disomogeneità dei protocolli in uso (*Schmeling A et al., 2008; SCEP, 2012; UNICEF, 2013; EASO, 2018*), alla affidabilità delle metodiche in soggetti di diversa etnia (*Cunha et al., 2009*) ed ai margini di rischi di errore dei singoli metodi. Questo si traduce in un'applicazione disomogenea della raccomandazione che esalta il carattere multidisciplinare dell'accertamento (*Save the Children, 2020*).

Purtuttavia, la stima dell'età anagrafica in soggetti viventi e privi di documenti identificativi ovvero laddove sussistano ragionevoli o fondati dubbi che l'età sia diversa da quella dichiarata, costituisce il presupposto essenziale per l'identificazione ed il riconoscimento di diritti primari. Solo l'accertamento dell'età consente al minore di beneficiare delle misure di protezione cui ha diritto in quanto tale, evitando l'adozione di provvedimenti lesivi quali il respingimento alla frontiera, il rimpatrio forzato, la detenzione amministrativa e la sistemazione in centri di accoglienza insieme ad adulti.

Su queste basi, il progetto di ricerca si è sviluppato su tre direttive principali: (1) l'analisi del quadro normativo italiano sulla stima dell'età biologica dei minori stranieri non accompagnati e valutazione comparativa dei protocolli operativi vigenti in alcune Regioni, Province e Comuni italiani; (2) l'approfondimento degli aspetti etici e deontologici correlati alla stima dell'età cronologica tramite metodiche radiografiche di studio dell'odontogenesi quali il metodo di Demirjian A (*Demirjian e Goldestein, 1976*) e l'indice di maturità del terzo molare I3M (*Cameriere et al., 2008*); (3) l'affidabilità predittiva del metodo radiografico Bo/Ca (*Cameriere et al., 2006*) per la valutazione dello sviluppo scheletrico della mano e del polso e del metodo I3M (*Cameriere et al., 2008*) per la valutazione dello sviluppo del terzo molare.

L'analisi comparativa dei protocolli adottati sul territorio nazionale ha consentito di confermare anche sul territorio italiano la profonda disomogeneità esistente tra le Regioni nell'applicazione dei metodi di accertamento in relazione, in particolare, alla composizione del team di specialisti coinvolti ed alle modalità accertative. E questo nonostante la legittimazione recente da parte della giurisprudenza di merito (*Cass., 2020*) dell'approccio olistico multidisciplinare, l'unico in grado di soddisfare le esigenze etiche in conformità al principio del superiore interesse del minore (*United Nations Commission on Human Rights, 1990*).

Sorprendente il mancato coinvolgimento, nel team multidisciplinare, di figure con competenze forensi quali un medico-legale ed un odontoiatra forense. Infatti, la disciplina medico-legale, negli ultimi decenni, si è particolarmente distinta nel settore specifico attraverso un costante impegno nella ricerca e per l'esperienza maturata nelle diverse attività di collaborazione con le Autorità Giudiziarie. In tal senso, costituiscono una apprezzabile eccezione i protocolli elaborati dalla Regione Piemonte (*Giunta Regionale della regione Piemonte, 2018*) e dal comune di Milano (*Prefettura di Milano, 2017*). Tuttavia, quello inserito in questi protocolli è un indirizzo solitario rispetto alle direttive indicate in altri dove trova maggiore considerazione la figura del pediatra con competenza auxologica, del neuropsichiatra infantile e dello psicologo dell'età evolutiva. Si tratta di figure disciplinari altrettanto importanti e necessarie la cui competenza specifica non è in discussione, ma che potrebbero di certo beneficiare del contributo e della sintesi medico legale in attività così complesse, e con finalità giuridico-amministrative, quali l'accertamento dell'età anagrafica nei MSNA.

In particolare, dallo studio comparativo dei protocolli esaminati, si evince come la valutazione neuropsichiatrica e/o psicologica sia variamente considerata, essendo in taluni casi integrata nel colloquio sociale (*Azienda Sanitaria Locale della Provincia di Bari, 2018; Giunta Regionale della regione Friuli Venezia Giulia, 2019*), mentre in altri non se ne prevede l'esecuzione (*Procura della Repubblica presso il Tribunale per i minorenni di Ancona, 2017; Azienda Socio-Sanitaria Territoriale di Cremona, 2018*).

Come delineato da alcuni protocolli (*Azienda Sanitaria Locale della Provincia di Bari, 2018; Giunta Regionale della regione Friuli Venezia Giulia, 2019*), invece, l'indagine socio-sanitaria dovrebbe integrare al contempo il colloquio sociale ed una valutazione psicologica esperita da un neuropsichiatra infantile e/o da uno psicologo dell'età evolutiva al fine di addivenire, mediante un'intervista semi-strutturata, ad una valutazione cognitiva e comportamentale del richiedente (*EASO, 2018*). Troverebbero così applicazione le indicazioni operative del POM secondo le quali l'ascolto del presunto minore dovrebbe avvenire tempestivamente per rendere l'evento il meno stressante possibile e ridurre il rischio di comparsa di fenomeni di rielaborazione, ripetizione e contaminazione correlati all'introduzione di elementi spuri.

Nella procedura accertativa sarebbe oltremodo opportuna una rivalutazione etica dei metodi di diagnostica per immagini. Occorre di certo ribadire l'utilità della radiologia seppure quale *extrema ratio*, specie in caso di persistenti e fondati dubbi sull'età al termine degli accertamenti esperiti. Taluni protocolli ne sconsigliano addirittura l'uso (*Procura della Repubblica presso il Tribunale per i minorenni di Ancona, 2017; Procura della Repubblica presso il Tribunale per i minorenni di Caltanissetta, 2018*) sulla base della non eticità per finalità giuridico-amministrative piuttosto che diagnostico-terapeutiche, anche alla luce del rischio, seppur minimo, di esposizione dell'individuo a radiazioni ionizzanti. Tuttavia, la valutazione integrata dei dati risultanti dallo studio radiologico del grado di maturazione ossea del distretto mano-polso, della odontogenesi e dell'esame fisico, è tuttora quella considerata la più attendibile nella stima dell'età anagrafica (*Consiglio Superiore di Sanità, 2009*) e, secondo robusti dati di letteratura, lo sviluppo osseo della mano può essere considerato rappresentativo dell'intero scheletro (*Schmeling, 2010*).

Per il vero, il grado di invasività dell'indagine radiologica appare meno intrusivo ed invasivo, se confrontato con quello delle domande previste nel colloquio sociale ed inerenti la precedente attività sessuale, volontaria o costretta, ovvero l'avviamento alla prostituzione, le eventuali violenze fisiche subite, matrimoni precoci, ed ancora con l'esame fisico dei caratteri sessuali primari e secondari per la valutazione dello sviluppo puberale. Per i motivi

sopra delineati e tenuto conto dei diritti correlati al riconoscimento della minore età, la valutazione della maturazione scheletrica mediante esame radiografico dell'arto non dominante potrebbe costituire un dato strutturale, non opzionale nella procedura di stima dell'età cronologica cui associare, in caso di persistenti dubbi sull'età del richiedente e nell'ottica del principio dell'invasività progressiva, anche la valutazione dell'odontogenesi mediante ortopantomografia.

In relazione alla valutazione della maturazione scheletrica mediante esame radiografico del distretto mano-polso, lo studio sull'affidabilità predittiva del metodo radiografico Bo/Ca in una popolazione di subadulti neri e bianchi sudafricani ha rilevato una elevata accuratezza del metodo, intesa quale capacità di fornire risultati simili con misurazioni effettuate in momenti diversi sullo stesso campione, dallo stesso o da un diverso osservatore. In tal senso è fondamentale una buona formazione degli osservatori in grado di operare misurazioni corrette e ridurre i margini di errore.

Nella prima fase dello studio è stata osservata una lieve sottostima dell'età mediante l'applicazione del metodo Bo/Ca, con una differenza media tra età scheletrica ed età anagrafica inferiore ad un anno. La sottostima è risultata essere più significativa nei maschi e nel gruppo di età compresa tra i 16 ed i 17 anni, con una differenza tra età stimata ed età cronologica che ha raggiunto i 3.09 anni. I risultati hanno inoltre mostrato un progressivo aumento dell'errore di stima con l'avanzare dell'età cronologica, con un errore massimo nei maschi di 16 anni.

Nella seconda fase dello studio, è stato condotto un confronto tra la stima dell'età espletata mediante l'applicazione dei metodi Bo/Ca, RUS, CARP e TW2, su una coorte derivata dal campione analizzato nella prima fase, con un particolare focus sui fattori che possono influenzare maggiormente l'accuratezza dei metodi, ossia le differenze etniche e di genere.

In termini di etnia, per il campione dei bianchi, è stata osservata una sovrastima dell'età cronologica mediante l'utilizzo dei metodi TW2 e RUS, ed una sottostima mediante l'applicazione di Bo/Ca e CARP. Per quanto riguarda

il campione dei neri, è stata osservata una sovrastima dell'età cronologica solo applicando il metodo RUS. Utilizzando i metodi RUS e CARP, i valori Δ (Δ = età scheletrica – età cronologica) sono risultati maggiori o uguali a 1 anno per gli individui bianchi. Bo/Ca e TW2 hanno mostrato una media delle stime dell'età scheletrica, distanti dall'età cronologica, (valori Δ) inferiore a 3 mesi. In particolare, il metodo Bo/Ca ha mostrato valori Δ pari a -0.08 e -0.07 anni negli individui bianchi e neri rispettivamente, quantunque non statisticamente significativi, mentre il metodo TW2 ha mostrato una differenza statisticamente significativa tra le valutazioni dei valori Δ sia nella popolazione bianca che in quella nera.

In termini di genere, è stata osservata una sovrastima dell'età cronologica applicando i metodi TW2 nei maschi, Bo/Ca nelle femmine e RUS in entrambi i sessi. È stata, altresì, osservata una sottostima dell'età cronologica utilizzando il metodo Bo/Ca nei maschi, TW2 nelle femmine e CARP in entrambi i sessi. Analogamente ai risultati per l'etnia, anche per il genere, i metodi RUS e CARP hanno mostrato valori di Δ maggiori o uguali a 1 anno sia nei maschi che nelle femmine. Anche in questo caso i metodi Bo/Ca e TW2 hanno mostrato una media delle stime dell'età scheletrica, distanti dall'età cronologica, (valori Δ) inferiore a 3 mesi. In particolare, il metodo Bo/Ca ha mostrato valori Δ di -0.19 e 0.03 anni rispettivamente nei maschi e nelle femmine, quantunque non statisticamente significativi, mentre il metodo TW2 ha mostrato valori Δ di 0.19 e -0.21 anni nei maschi e nelle femmine rispettivamente, ma statisticamente significativi.

L'analisi complessiva dei dati ha mostrato una relazione inversa tra Bo/Ca e TW2: l'applicazione del metodo Bo/Ca ha rivelato una sottostima dell'età cronologica nei maschi ed una sovrastima nelle femmine; il metodo TW2 ha mostrato una sottostima dell'età cronologica nelle femmine ed una sovrastimato nel campione maschile. Per gli individui di età inferiore ai 13 anni, l'età anagrafica è stata: a) sovrastimata mediante l'applicazione del Bo/Ca nelle femmine nere, del RUS nelle femmine nere e nei maschi bianchi, del TW2 nei maschi bianchi; 2) sottostimata solo applicando il TW2 nei maschi neri ed il CARP nelle femmine bianche. Per gli individui con età uguale

o superiore ai 13 anni, l'età è stata sovrastimata dai metodi TW2 nei maschi bianchi e RUS nei maschi bianchi e neri.

L'accuratezza dei metodi Bo/Ca e TW2 è dunque maggiore rispetto a quella dei metodi RUS e CARP. Tuttavia, il metodo TW2, così come rilevato nella prima fase dello studio per il metodo Bo/Ca, ha mostrato una maggiore imprecisione nei subadulti di età pari o superiore a 13 anni rispetto ai bambini di età inferiore ai 13 anni. Sulla base di tali risultati, tali metodi potrebbero risultare di limitata applicabilità nella tarda adolescenza.

Sulla base di questi risultati, le stime eseguite mediante il metodo Bo/Ca sembrano essere meno influenzate dall'etnia o dal sesso rispetto al metodo TW2. In particolare, TW2 ha sovrastimato l'età scheletrica nei maschi bianchi sia più giovani che di età superiore ai 13 anni ed ha sottostimato l'età scheletrica nei maschi neri di età inferiore ai 13 anni. Al contrario, il metodo Bo/Ca ha sovrastimato l'età scheletrica solo nelle femmine nere di età inferiore ai 13 anni. La sottostima osservata mediante l'applicazione del metodo Bo/CA potrebbe essere interpretata come un ritardo nella maturazione scheletrica, ma anche come un artefatto statistico risultante dalle ridotte dimensioni delle coorti appartenenti ai gruppi di età più giovane e più anziana, secondo l'ipotesi di "mimetismo dell'età" o "attrazione del centro", per cui la composizione dei campioni di riferimento ne influenzerebbe in modo inappropriato l'età stimata (*Liversidge et al., 2010*).

Tale ipotesi, tra l'altro, risulta coerente con quanto desumibile da diversi studi precedenti, in cui il metodo Bo/Ca ha mostrato un'imprevedibile bias: i modelli di regressione lineare tendevano, infatti, a sovrastimare l'età nei bambini ed a sottostimarla negli adolescenti, in prossimità dello spurt puberale. Infatti, la rapida accelerazione della crescita si verifica intorno ai 12-13 anni in quasi tutti i soggetti (*Black et al., 2010*) e tenendo conto che lo "scatto" puberale può variare in modo significativo nei diversi gruppi etnici, la relazione tra maturità scheletrica e velocità massima di crescita negli adolescenti dovrebbe essere ben considerata. Peraltro, la maturazione scheletrica è un processo continuo e, pertanto, un metodo quantitativo consente di cogliere e misurare con maggiore precisione tutte le più piccole

modificazioni morfologiche correlate alla maturazione scheletrica, quale indicatore dell'età biologica (*Black et al., 2010*).

I risultati ottenuti confermano quanto indicato in precedenti studi ossia che il metodo Bo/Ca risulta affidabile per la stima dell'età a scopo forense mostrando una differenza statisticamente non significativa tra età scheletrica ed età cronologica con valori medi compresi in un range non superiore ai 3 mesi circa. Inoltre, la stima dell'età scheletrica mediante l'applicazione del metodo Bo/Ca sembra essere meno influenzata dall'etnia o dal sesso, rispetto al TW2. Tuttavia, l'utilizzo di questo metodo in ambito forense deve tenere in debita considerazione le limitazioni relative alle variabili nella maturazione scheletrica dovuta a fattori socio-economici, nutrizionali, etnia e di genere.

Il metodo Bo/Ca, infatti, ha mostrato una maggiore inesattezza nella stima dell'età nei subadulti di età compresa tra i 13 ed i 16 anni. Pertanto, il contributo di tale metodo potrebbe essere limitato nella tarda adolescenza. Appare dunque evidente come, laddove si ricorra all'uso dei metodi Bo/Ca o TW2 in ambito forense, sia necessario tener conto delle differenze riscontrate tra età cronologica ed età scheletrica e dell'aumento dell'errore di stima nei gruppi più anziani.

Nonostante i limiti del nostro studio, la stima dell'età anagrafica in ambito forense può effettivamente giovare delle informazioni sulla maturazione ossea fornite dal metodo Bo/Ca, pur nell'ambito di un processo olistico e multidisciplinare fondato, oltre che sull'accertamento della maturità scheletrica, anche su una visita medica per il rilievo dei dati antropometrici, dei segni di sviluppo puberale e di eventuali patologie dell'accrescimento, nonché un esame odontoiatrico comprensivo di ortopantomografia per la valutazione dell'odontogenesi.

Per quanto attiene la valutazione dell'odontogenesi, la revisione sistematica della letteratura atta a verificare l'accuratezza del metodo avente ad oggetto l'indice di maturità del terzo molare (I_{3M}), ha mostrato come anche questo metodo possa rappresentare un supporto affidabile della valutazione cronologica dell'età (*Thevissen et al., 2010; Boyacıoğlu Dođru et al., 2018*).

La proporzione di individui correttamente classificati di età superiore o uguale a 18 anni ($I_{3M} < 0,08$) è risultata superiore al 70.5% in tutti i paesi, ad eccezione del campione dell'Arabia Saudita (51,8%) (AlQuatani et al., 2017). Detta sensibilità può apparire insufficiente, se confrontata alla maggiore specificità del valore di cut-off I_{3M} attestatasi in un range compreso tra l'86,2% (rilevato in Brasile) (Deitos et al., 2015) al 100% (rilevato in Libia e Turchia) (Dardouri et al., 2016; Gulsahi et al., 2016). Tuttavia, considerato che in ambito forense la performance di un metodo di stima dell'età anagrafica deve essere misurata soprattutto sulla specificità ossia sulla capacità di ridurre il rischio di sovrastima dell'età in un soggetto adolescente (Cameriere et al., 2008), i risultati sopra menzionati appaiono piuttosto significativi considerando l'alta percentuale di soggetti correttamente classificati di età inferiore ai 18 anni (sulla base di $I_{3M} > 0.08$).

Tuttavia, anche la stima dell'età anagrafica mediante l'applicazione del metodo basato sull'indice di maturità del terzo molare ha alcune limitazioni, principalmente correlate alla variabilità intrinseca dell'elemento dentario in termini di posizione, morfologia e sviluppo (Anderson et al., 1976; Ubelaker, 1989; AlQahtani et al., 2010). Tali limitazioni devono essere evidenziate in qualsiasi report redatto da esperti in ambito forense al fine di tutelare l'esaminato dal rischio di sovrastima e/o dalla inapplicabilità del metodo.

I risultati dello studio retrospettivo hanno mostrato come il metodo I_{3M} sia *user friendly*, gravato da un basso rischio di sottostima in entrambi i sessi, ma dotato di una buona affidabilità e riproducibilità nei principali gruppi etnici e nei diversi sottogruppi a seconda della loro distribuzione geografica. Il valore di cut-off (0.08), infatti, si è rivelato essere una soglia affidabile per discriminare tra l'età adulta e quella minore anche in popolazioni geograficamente isolate (Spinas et al., 2018). Purtroppo, non è del tutto chiaro come l'origine etnica possa influenzare l'odontogenesi. Uno studio comparativo sulla mineralizzazione dei denti del giudizio condotto nelle popolazioni caucasoide, mongoloide e africana sulla base delle fasi di Demirjian ha raccomandato l'uso di standard specifici per la popolazione al fine di migliorare l'accuratezza della stima dell'età forense (Olze et al., 2014).

A tal proposito, il metodo I_{3M} si ritiene possa essere utilizzato nel contesto di popolazioni di diversa etnia, stante il margine di errore mostrato nei soggetti viventi correttamente classificati come minori (specificità) o adulti (sensibilità). Tuttavia, non potendo escludersi stime imprecise dell'età cronologica in base ai risultati complessivi di sensibilità e specificità degli studi sottoposti ad analisi, il ricorso al metodo I_{3M} deve sempre tenere in debita considerazione il tasso di errore noto e, di conseguenza, il suo valore probatorio.

Sulla base anche di questi risultati, si ribadisce l'importanza dello studio radiologico della maturazione del terzo molare nelle procedure accertative su cui si ripropone l'opportunità di una rivalutazione etica. Pur a fronte delle criticità evidenziate (*Schmeling et al., 2008; Cunha et al., 2009; Aynsley-Green et al., 2012; SCEP, 2012; UNICEF, 2013; EASO, 2018*), lo studio radiografico dell'odontogenesi e, in particolare, del metodo di Demirjian (*Demirjian et al., 1973*) e dell' I_{3M} (*Cameriere et al., 2008*) per la stima dell'età cronologica appaiono soddisfare i principi etici di autonomia, beneficenza, non malevolenza e giustizia (*Beauchamp e Childress, 2001*). Sebbene questi metodi necessitino di una ortopantomografia (OPG), e pertanto l'esposizione a radiazioni ionizzanti, l'acquisizione dei diritti correlati al riconoscimento dello stato di minore non accompagnato costituisce un beneficio ben superiore rispetto ai danni stocastici riconducibili alle radiazioni. Per tale ragione, in una prospettabile sinossi tra il “cascade approach” elaborato dall'EASO (*EASO, 2018*) ed il “combine approach” suggerito dall'AGFAD (*Schmeling et al., 2007*), l'imaging dentale potrebbe essere considerata la prima opzione tra i metodi medici che fanno ricorso all'utilizzo di radiazioni ionizzanti.

Sia l'applicazione del metodo I_{3M} che quello di Demirjian appaiono perseguire l'interesse superiore del bambino in conformità ai principi del best interest of child ed al beneficio del dubbio. Il metodo I_{3M} , in particolare, ha mostrato una migliore specificità (individui correttamente classificati come minori) rispetto alla sensibilità (individui correttamente classificati come adulti) anche se confrontato con il metodo di Demirjian (*Cameriere et al,*

2008). Inoltre, i dati di riferimento del metodo I_{3M} sono ottenuti da setting sperimentali ottenuti da popolazioni contemporanee (dal 2013 al 2019), di diversa etnia, omogenee per età e genere, ma con disuguali caratteristiche socio-economiche, che coprono per provenienza geografica popolazioni di tutti i continenti. Questi dati hanno altresì mostrato una buona affidabilità sia intra sia inter-osservatore (Cameriere et al, 2008).

Pertanto, le tecniche radiologiche per la valutazione dello sviluppo del terzo molare (I_{3M} e Demirjian) sono metodi validi e affidabili per la stima dell'età anagrafica. La loro applicazione nelle procedure accertative soddisfa i principi etici tra cui quello di autonomia purchè il minore venga adeguatamente informato sulle finalità e modalità dell'accertamento, accetti liberamente di sottoporsi all'esame e comprenda i benefici ed i potenziali rischi dell'accertamento. Appaiono altresì soddisfatti i principi di beneficenza e non maleficenza purchè l'uso dei metodi radiografici segua quella gradualità propria dell'approccio olistico al fine di ridurre il rischio di danni fisici, psicologici o emotivi. Peraltro, la radiografia convenzionale (e attualmente quella digitale) implica un'esposizione a dosi molto basse di radiazioni, in ossequio al principio della fisica sanitaria "ALARA" (As Low As Reasonably Achievable) che impone di ridurre al minimo possibile l'uso di radiazioni ionizzanti. I metodi radiologici di Demirjian e di Cameriere appaiono inoltre conformi al principio di giustizia in quanto forniscono un trattamento uguale per tutti gli individui senza discriminazione di genere ed etnia, offrendo la possibilità di calcolare con grande affidabilità il range di errore della stima, in base al sesso ed al gruppo etnico di provenienza, elementi in grado di interferire in maniera significativa sulla stima dell'età cronologica.

Questo dato appare estremamente rilevante nonché rispondente all'auspicio della Forensic Anthropology Society of Europe (FASE) rivolto alla comunità scientifica sulla necessità di espletare studi su popolazioni di diversa etnia al fine di raggiungere un adattamento di ogni metodo in base alla popolazione specifica (Cunha et al., 2009).

Il range di errore nella stima dell'età rappresenta un elemento valutativo che la Legge 47/17 richiede sia esplicitato dagli esaminatori in accordo con i

protocolli EASO, UNICEF e SCEP. È proprio l'indicazione di questi range di errore che consente di applicare il beneficio del dubbio in favore del minore. Ovvero laddove vi sia incertezza sull'età adulta, ricorrendo un range di errore che includa un'età <18 anni, dovrà essere attribuita al richiedente lo status di minore. È auspicabile, pertanto, che i metodi radiologici per la valutazione dell'età dentaria, specie quando ci si trovi in prossimità dell'età adulta, possano trovare maggiore applicazione nei protocolli internazionali ufficiali per la stima dell'età cronologica o legale, al fine di fornire il grado di probabilità di stima dell'età in base al sesso e il gruppo etnico.

Dalla disamina del progetto di ricerca nella sua interezza, appare evidente come la valutazione dell'età non è una scienza esatta ed una notevole incertezza è insita in qualsiasi procedura, soprattutto perché può essere variamente condizionata dalle differenze di etnia, genere, carenze nutrizionali e background socio-economico (*SCEP, 2012*), oltre che da quadri patologici aventi ripercussioni sulla velocità della crescita. L'interesse superiore del minore deve guidare qualsiasi processo di stima dell'età cronologica in ambito forense, uniformato ai principi di etica medica e di tutela dei diritti umani.

In tal senso, avuto riguardo del notevole incremento di richieste che provengono dall'Autorità Giudiziaria e/o dalle Autorità di Pubblica Sicurezza per questa tipologia di accertamenti, è auspicabile che l'attività di ricerca nel settore possa proseguire attraverso la raccolta dei risultati delle procedure utilizzate a livello nazionale ed internazionale, stante la necessità di operare una valutazione comparativa della loro affidabilità. In prospettiva e al fine di garantire la minore invasività possibile nelle procedure accertative, ci si propone di sostituire l'esame radiografico con metodiche alternative di diagnostica per immagini radiation free, quali l'ecografia applicata su distretti anatomici diversi quali la clavicola (*Schulz, 2008*), il gomito (*Schulz, 2014*), il polso (*Schmidt, 2013*) e la cresta iliaca (*Schmidt, 2013*) oppure la Risonanza Magnetica della clavicola (*Schmidt, 2007*), del polso (*Dvorak, 2007; Dvorak 2009*) e del ginocchio (*Krämer, 2014*).

Ciò nonostante, tenuto conto che la stima forense dell'età anagrafica raramente può fondarsi su di un'unica tipologia di esame, è necessario delineare un protocollo per la stima socio-sanitaria dell'età cronologica in cui sia chiaramente identificata la composizione dell'équipe multi-professionale e le modalità operative multi-disciplinari per lo svolgimento delle valutazioni specialistiche, perché l'età è un elemento essenziale dell'identità di un individuo, specie se minore, e richiede esigenze di protezione speciali.

BIBLIOGRAFIA

- Acheson RM (1966). Maturation of skeleton in Human development. Saunders, Philadelphia.
- AlQahtani SJ (2008). Atlas of tooth development and eruption. Barts and the London School of Medicine and Dentistry. Queen Mary University of London, London.
- AlQahtani SJ, Hector MP, Liversidge HM (2010). Brief communication: The London atlas of human tooth development and eruption. *Am J Phys Anthropol.*; 142 (3): 481-90.
- AlQahtani S, Kawthar A, AlAraik A, AlShalan A (2017). Third molar cut-off value in assessing the legal age of 18 in Saudi population. *Forensic Sci Int. Mar*;272:64-67.
- Alshamrani K, Messina F, Offiah AC (2019). Is the Greulich and Pyle atlas applicable to all ethnicities? A systematic review and meta-analysis. *Eur Radiol.*;29:2910.
- Anderson DL, Thompson GW, Popovich F (1976). Age of attainment of mineralization stages of the permanent dentition. *J. Forensic Sci.*; 21: 191-200.
- Anderson SE, Dallal GE, Must A (2003). Relative weight and race influence average age at menarche: results from two nationally representative surveys of US girls studied 25 years apart. *Pediatrics.* Apr;111(4 Pt 1):844-50.
- Angelakopoulos N, De Luca S, Velandia Palacio LA, Coccia E, Ferrante L, Cameriere R. Third molar maturity index (I3M) for assessing age of majority: study of a black South African sample (2018). *Int J Legal Med. Sep*;132(5):1457-1464.
- Angelakopoulos N, Galić I, De Luca S, Campobasso CP, Martino F, De Micco F, Coccia E, Cameriere R (2020). Skeletal age assessment by measuring planar projections of carpals and distal epiphyses of ulna and radius bones in a sample of South African subadults, *Australian Journal of Forensic Sciences.*

- Antunovic M, Galic I, Zelic K, Nedeljkovic N, Lazic E, Djuric M, Cameriere R (2018). The third molars for indicating legal adult age in Montenegro. *Leg Med (Tokyo)*. May 28;33:55-61.
- Ashizawa K, Kumakura C, Zhou X, Jin F, Cao J (2005). RUS skeletal maturity of children in Beijing. *Ann Hum Biol.*;32(3):316-25.
- Australian Human Rights Commission (2012). An age of uncertainty. https://humanrights.gov.au/sites/default/files/content/ageassessment/report/an_age_of_uncertainty.pdf (ultimo accesso: 1 dicembre 2020).
- Aynsley-Green A, Cole TJ, Crawley H, Lessof N, Boag LR, Wallace RM (2012). Medical, statistical, ethical and human rights considerations in the assessment of age in children and young people subject to immigration control. *Br Med Bull*; 102:17-42.
- Bagnall KM, Harris PF, Jones PR (1982). A radiographic study of the longitudinal growth of primary ossification centers in limb long bones of the human fetus. *Anat Rec*. Jun;203(2):293-9.
- Balla SB, Galic I, P K, Vanin S, De Luca S, Cameriere R (2017). Validation of third molar maturity index (I_{3M}) for discrimination of juvenile/adult status in South Indian population. *J Forensic Leg Med*. Jul;49:2-7.
- Balla SB. Third molar maturity index (I_{3M}), in: Cameriere R (a cura di). *AgEstimation Project*. Amazon, 2020.
- Beh P, Payne-James J (2010). Clinical and legal requirements for age determination in the living, in: Black A, Payne-James J, Aggrawal A (a cura di). *Age Estimation in the Living: The Practitioners Guide*. John Wiley & Sons, New York.
- Benjavongkulchai S, Pittayapat P (2018). Age estimation methods using hand and wrist radiographs in a group of contemporary Thais. *Forensic Sci Int.*;287:.218.e1–218.e8.
- Benso L, Milani S (2013). Alcune considerazioni sull'uso forense dell'età biologica. http://www.asgi.it/wp-content/uploads/public/1_0013_benso_materiali.pdf. (ultimo accesso: 1 dicembre 2020).
- Beauchamp TL, Childress JF (2001). *Principles of biomedical ethics*. Oxford University Press, New York.

- Bertaina C, Stasiowska B, Benso A, Vannelli S (2007). Is TW3 height prediction more accurate than TW2? Preliminary data. *Horm Res.*;67(5):220-3.
- Beunen G, Lefevre J, Ostyn M, Renson R, Simons J, Van Gerven D (1990). Skeletal maturity in Belgian youths assessed by the Tanner-Whitehouse method (TW2). *Ann Hum Biol.*;17(5): 355-76.
- Bilgili Y, Hizel S, Kara SA, Sanli C, Erdal HH, Altinok D (2003). Accuracy of skeletal age assessment in children from birth to 6 years of age with the ultrasonographic version of the Greulich-Pyle atlas. *J Ultrasound Med.* 2003 Jul;22(7):683-90.
- Bishop NJ, King FJ, Lucas A (1990). Linear growth in the early neonatal period. *Arch Dis Child.* Jul;65(7 Spec No):707-8.
- Bogin B, Smith BH (1996). Evolution of the human life cycle. *Am J Hum Biol.*;8(6):703-716.
- Bolaños MV, Moussa H, Manrique MC, Bolaños MJ (2003). Radiographic evaluation of third molar development in Spanish children and young people. *Forensic Sci Int* 133(3):212-9.
- Boyacıoğlu Doğru H, Gulsahi A, Çehreli SB, Galić I, van der Stelt P, Cameriere R (2018). Age of majority assessment in Dutch individuals based on Cameriere's third molar maturity index. *Forensic Sci Int.* Jan;282:231.e1-231.e6.
- Bull RK, Edwards PD, Kemp PM, Fry S, Hughes IA (1999). Bone age assessment: a large scale comparison of the Greulich and Pyle, and Tanner and Whitehouse (TW2) methods. *Arch Dis Child.*;81(2):172–173.
- Cacciari E, Milani S, Balsamo A, Spada E, Bona G, Cavallo L, Cerutti F, Gargantini L, Greggio N, Tonini G, Cicognani A (2006). Italian cross-sectional growth charts for height, weight and BMI (2 to 20 yr). *J Endocrinol Invest*; 29:581-593.
- Cameriere R, Ferrante L, Cingolani M (2004). Precision and reliability of pulp/tooth area ratio (RA) of second molar as indicator of adult age. *J Forensic Sci.* Nov;49(6):1319-23.

- Cameriere R, Ferrante L, Cingolani M (2006). Age estimation in children by measurement of open apices in teeth. *International journal of legal medicine*, 120(1), 49–52.
- Cameriere R, Ferrante L, Mirtella D, Cingolani M. Carpals and epiphyses of radius and ulna as age indicators (2006). *Int J Legal Med.*, May;120(3):143-6.
- Cameriere R, De Angelis D, Ferrante L, Scarpino F, Cingolani M. (2007) Age estimation in children by measurement of open apices in teeth: a European Formula. *Int J Legal Med*, 121:449-453.
- Cameriere R, Ferrante L, De Angelis D, Scarpino F, Galli F (2008). The comparison between measurement of open apices of third molars and Demirjian stages to test chronological age of over 18 year olds in living subjects. *Int J Legal Med*. Nov;122(6):493-7.
- Cameriere R (2008). *AgEstimation project: Cameriere's methods for age estimation*, Eum Edizioni, Macerata, Italia.
- Cameriere R, Ferrante L, Ermenc B, Mirtella D, Strus K (2008). Age estimation using carpals: study of a Slovenian sample to test Cameriere's method. *Forensic Sci Int.*, Jan 30;174(2-3):178-81.
- Cameriere R, De Luca S, Alemán I, Ferrante L, Cingolani M (2012). Age estimation by pulp/tooth ratio in lower premolars by orthopantomography. *Forensic Sci Int*. Jan 10;214(1-3):105-12.
- Cameriere R, De Luca S, Biagi R, Cingolani M, Farronato G, Ferrante L (2012). Accuracy of three age estimation methods in children by measurements of developing teeth and carpals and epiphyses of the ulna and radius. *J Forensic Sci.*;57(5):1263–1270.
- Cameriere R, Cunha E, Wasterlain SN, De Luca S, Sassaroli E, Pagliara F, Nuzzolese E, Cingolani M, Ferrante L (2013). Age estimation by pulp/tooth ratio in lateral and central incisors by peri-apical X-ray. *J Forensic Leg Med*. Jul;20(5):530-6.
- Cameriere R, Santoro V, Roca R, Lozito P, Introna F, Cingolani M, Galić I, Ferrante L (2014). Assessment of legal adult age of 18 by measurement

- of open apices of the third molars: Study on the Albanian sample. *Forensic Sci Int. Dec*;245:205.e1-5.
- Cameriere R, Velandia Palacio LA, Pinares J, Bestetti F, Paba R, Coccia E, Ferrante L (2018). Assessment of second (I2M) and third (I3M) molar indices for establishing 14 and 16 legal ages and validation of the Cameriere's I3M cut-off for 18 years old in Chilean population. *Forensic Sci Int. Apr*;285:205.e1-205.e5.
- Cameriere R, Bestetti F, Velandia Palacio LA, Riccomi G, Skrami E, Parentina V (2018). Carpals and epiphyses of radius and ulna as age indicators using longitudinal data: a Bayesian approach. *Int J Legal Med.*;133(1):197–204.
- Cameron N (1980). Conditional standards for growth in height of British children from 5.0 to 15.99 years of age. *Ann Hum Biol. Jul-Aug*;7(4):331-7.
- Cameron N, Lones LL (2010). Growth, maturation and age, in: S. Black, A. Aggrawal, J. Payne-James (Eds.), *Age estimation in the living. The practitioners guide*. 1st ed, Wiley, Chichester, West Sussex, UK, pp. 95-120.
- Campobasso CP, De Donno A (2000). I nuclei di ossificazione, in: Introna F, Dell'Erba A (a cura di) *Determinazione dell'età da resti scheletrici*. Essebiemme Edizioni, Parma
- Cass. civ., sez. I, 3 marzo 2020, n. 5936.
- Catacchio T, Corniola S (2000). I metodi dentari, in: Introna F, Dell'Erba A (a cura di) *Determinazione dell'età da resti scheletrici*. Essebiemme Edizioni, Parma.
- Cattaneo C, Grandi M (2012). *Antropologia e Odontologia Forense. Guida allo studio dei resti umani. Testo atlante*. Monduzzi Editoriale, Milano.
- Cavrić J, Galić I, Vodanović M, Brkić H, Gregov J, Viva S, Rey L, Cameriere R (2016). Third molar maturity index (I3M) for assessing age of majority in a black African population in Botswana. *Int J Legal Med. Jul*;130(4):1109-1120.

- Chaillet N, Demirjian A (2004) Dental maturity in South France: A comparison between Demirjian's method and polynomial functions. *J Forensic Sci*, 49:1059–66.
- Choi JA, Kim YC, Min SJ, Khil EK (2018). A simple method for bone age assessment: the capitohamate planimetry. *Eur Radiol.*;28:2299–2307.
- Chu G, Wang YH, Li MJ, Han MQ, Zhang ZY, Chen T, Zhou H, Guo YC (2018). Third molar maturity index (I3M) for assessing age of majority in northern Chinese population. *Int J Legal Med*. Nov;132(6):1759-1768.
- Chumlea WC, Schubert CM, Roche AF, Kulin HE, Lee PA, Himes JH, Sun SS (2003). Age at menarche and racial comparisons in US girls. *Pediatrics*. Jan;111(1):110-3.
- Ciapparelli, L (1992) The chronology of dental development and age assessment, in: DH Clark, *Practical Forensic Odontology*, Wright Butterworth-Heinemann Ltd, Oxford.
- Cole TJ, Rousham EK, Hawley NL, Cameron N, Norris SA, Pettifor JM (2015). Ethnic and sex differences in skeletal maturation among the birth to twenty cohort in South Africa. *Arch Dis Child.*;100(2):138–143.
- Conferenza delle Regioni e delle Province autonome (2016). Protocollo Per l'identificazione e per l'accertamento olistico multidisciplinare dell'età dei minori non accompagnati. https://www.minori.gov.it/sites/default/files/protocollo_identificazione_msna.pdf. (ultimo accesso: 1 dicembre 2020).
- Consiglio Superiore di Sanità (2009). Parere espresso dal Consiglio Superiore di Sanità, sezione II, nella seduta del giorno 25 febbraio 2009, concernente “Accertamento dell'età dei minori non accompagnati”. <http://www.asgi.it/wp-content/uploads/2015/03/Parere-Consiglio-Superiore-Sanita.pdf>. (ultimo accesso: 1 dicembre 2020).
- Council of Europe (1997). Convention for the protection of human rights and dignity of human being with regards to the application of biology and medicine: Convention on human rights and biomedicine,

- www.coe.int/en/web/conventions/full-list/-/conventions/rms_090000168007cf98. (accessed 8 June 2020).
- Council of the European Union (1997). Directive 97/43/Euratom. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/TXT/?uri=CELEX%3A31997L0043> (ultimo accesso: 1 dicembre 2020).
- Cox LA (1996). Tanner-Whitehouse method of assessing skeletal maturity: problems and common errors. *Horm Res.*;45 Suppl 2:53-5.
- Cunha E, Baccino E, Martrille L, Ramsthaler F, Prieto J, Schuliar Y, Lynnerup N, Cattaneo C (2009). The problem of aging human remains and living individuals: a review. *Forensic Sci Int*; 193:1-13.
- Dardouri AAK, Cameriere R, De Luca S, Vanin S (2016). Third molar maturity index by measurements of open apices in a Libyan sample of living subjects. *Forensic Sci Int*. Oct;267:230.e1-230.e6.
- Decreto del Presidente del Consiglio dei ministri 10 novembre 2016, n. 234.
- Decreto del Presidente della Repubblica 22 settembre 1988, n. 448.
- Decreto legislativo 28 gennaio 2008, n. 25.
- Decreto legislativo 4 marzo 2014, n. 24.
- Dedouit F, Auriol J, Rousseau H, Rougé D, Crubézy E, Telmon N (2012). Age assessment by magnetic resonance imaging of the knee: a preliminary study. *Forensic Sci Int*. 2012 Apr 10;217(1-3):232.e1-7.
- Dedouit F, Saint-Martin P, Mokrane FZ, Savall F, Rousseau H, Crubézy E, Rougé D, Telmon N (2015). Virtual anthropology: useful radiological tools for age assessment in clinical forensic medicine and thanatology. *Radiol Med*. Sep;120(9):874-86.
- Deitos AR, Costa C, Michel-Crosato E, Galić I, Cameriere R, Biazevic MG (2015). Age estimation among Brazilians: Younger or older than 18? *J Forensic Leg Med*. Jul;33:111-5.
- De Luca S, Biagi R, Begnoni G, Farronato G, Cingolani M, Merelli V, Ferrante L, Cameriere R (2014). Accuracy of Cameriere's cut-off value for third molar in assessing 18 years of age. *Forensic Sci Int*.;235:102.e1-6.
- De Luca S, Aguilar L, Rivera M, Palacio LA, Riccomi G, Bestetti F, Cameriere R (2016). Accuracy of cut-off value by measurement of third molar

- index: Study of a Colombian sample. *Forensic Sci Int.* Apr;261:160.e1-5.
- De Luca S, Mangiulli T, Merelli V, Conforti F, Velandia Palacio LA, Agostini S, Spinasi E, Cameriere R (2016). A new formula for assessing skeletal age in growing infants and children by measuring carpals and epiphyses of radio and ulna. *J Forensic Leg Med.* Apr;39:109-16.
- De Luca S, Pacifici A, Pacifici L, Polimeni A, Fischetto SG, Velandia Palacio LA, Vanin S, Cameriere R (2016). Third molar development by measurements of open apices in an Italian sample of living subjects. *J Forensic Leg Med.* Feb;38:36-42.
- Dembetembe KA, Morris AG (2012), Is Greulich-Pyle age estimation applicable for determining maturation in boy Africans? *S. Afr. J. Sci.* 10: 1–6.
- De Micco F, Martino F, Campobasso CP (2020). Ethical issues in age Assessment by the third molar development. *Australian Journal of Forensic Sciences*, Ahead of print. doi: <https://doi.org/10.1080/00450618.2020.1789220>.
- Demirjian A, Goldstein H, Tanner JM (1973). A new system of dental age assessment. *Human Biology.*; 45 (2): 211-27.
- Demirjian A, Goldstein H (1976) New system for dental maturity based on seven and four teeth. *Ann Hum Biol*, 3:411-421.
- de Onis M, Garza C, Onyango AW, Martorell R (2006). WHO Child Growth Standards. *Acta Paediatrica*, volume 95, april 2006, supplement 450.
- De Sanctis V, Di Maio S, Soliman AT, Raiola G, Elalaily E, Millimaggi G (2014). Hand X-ray in pediatric endocrinology: skeletal age assessment and beyond. *Indian J. Endocrinol. Metab.*; 18: 63-71.
- De Simone M, Danubio ME, Amicone E, Verrotti A, Gruppioni G, Vecchi F (2004). Age of onset of pubertal characteristics in boys aged 6-14 years of the Province of L'Aquila (Abruzzo, Italy). *Ann Hum Biol.* 2004 Jul-Aug;31(4):488-93.
- Direttiva 2011/95/UE del Parlamento europeo e del Consiglio del 13 dicembre 2011.

- Direttiva 2013/32/UE del Parlamento europeo e del Consiglio del 26 giugno 2013
- Di Vella G, Polo Grillo B, Bucci B (2000). Il metodo Fels, in: Introna F, Dell'Erba A (a cura di) Determinazione dell'età da resti scheletrici. Essebiemme Edizioni, Parma
- Drennen MR, Keen JA (1953). Identity, in: Gordon I, Turner R, Price TW (a cura di) Medical Jurisprudence, Livingston, Edinburgh.
- Du M (2017). Analysis of errors in forensic science. *J Forensic Sci Med.*; 3:139-43.
- Dvorak J, George J, Junge A, Hodler J (2007). Application of MRI of the wrist for age determination in international U-17 soccer competitions. *Br J Sports Med.* 2007 Aug; 41(8): 497-500.
- Dvorak J (2009). Detecting over-age players using wrist MRI: science partnering with sport to ensure fair play. *Br J Sports Med.* 2009 Dec; 43(12): 884-5.
- El-Bakary AA, Attalla SM, Hammad SM, El-Ashry RA, De Luca S, Ferrante L, Cameriere R (2014). Age estimation in Egyptian children by measurements of carpals and epiphyses of the ulna and radius. *J Forensic Radiol Imaging.*;2(3):121–125.
- European Asylum Support Office (2013). EASO Age assessment practice in Europe. https://ec.europa.eu/anti-trafficking/sites/antitrafficking/files/age_assessment_practice_in_europe_0.pdf (ultimo accesso: 1 dicembre 2020).
- European Asylum Support Office (2018). EASO practical guide on age assessment. Disponibile su: <https://www.easo.europa.eu/sites/default/files/easo-practical-guide-on-age-assesment-v3-2018.pdf>. (ultimo accesso: 1 dicembre 2020).
- European Migrant Network Approaches to Unaccompanied Minors Following Status Determination in the EU plus Norway (2017). Synthesis Report for the EMN Study, https://ec.europa.eu/homeaffairs/sites/homeaffairs/files/00_eu_synthesis_report_unaccompanie_minors_2017_en.pdf (ultimo accesso: 1 dicembre 2020).

- European Parliament and Council of the European Union (2013). Directive 2013/32/EU. <https://www.easo.europa.eu/sites/default/files/public/Dve-2013-32-Asylum-Procedures.pdf> (ultimo accesso: 1 dicembre 2020).
- Evans KT, Knight B (1981) Radiology in forensic medicine, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Feik SA, Glover JE (1998). Growth of children's faces. In: Clement JG, Ranson DL, Ranson DC (a cura di). Craniofacial Identification in Forensic Medicine. Arnold, London.
- Focardi M, Pinchi V, De Luca F, Norelli GA (2014). Age estimation for forensic purposes in Italy: ethical issues. *Int J Legal Med*;128(3):515-522.
- Franklin D, Flavel A, Noble J, Swift L., Karkhanis S. (2015) Forensic age estimation in living individuals: methodological considerations in the context of medico-legal practice. *Res Rep Forensic Med Sci*; 5:53–66.
- Franklin D, Karkhanis S, Flavel A, Collini F, DeLuca S, Cameriere R (2016). Accuracy of a cut-off value based on the third molar index: Validation in an Australian population. *Forensic Sci Int. Sep*;266:575.e1-575.e6.
- Galić I, Lauc T, Brkić H, Vodanović M, Galić E, Biazevic MG, Brakus I, Badrov J, Cameriere R (2015). Cameriere's third molar maturity index in assessing age of majority. *Forensic Sci Int. Jul*;252:191.e1-5.
- Galic J. ImageJ usage for measure lengths and areas on dental and conventional X-Rays, in: Cameriere R (a cura di). *AgEstimation Project*. Amazon, 2020.
- Garn SM, Rohmann CG, Blumenthal T (1966). Ossification sequence polymorphism and sexual dimorphism in skeletal development. *Am J Phys Anthropol. Jan*;24(1):101-15.
- Ghaly I, Hussein FH, Abdelghaffar S, Anwar G, Seirvogel RM (2008). Optimal age of sexual maturation in Egyptian children. *East Mediterr Health J. Nov-Dec*;14(6):1391-9.
- Gough HG (1979). A creative personality scale for the Adjective Check List. *Journal of Personality and Social Psychology*; 37:1398–1405.

- Govender D, Goodier M (2018). Bone of contention: the applicability of the Greulich–Pyle method for skeletal age assessment in South Africa. *S Afr J Radiol.* 2018;22(1):1348.a1348.
- Greulich W, Pyle SI (1959). *Radiographic Atlas of Skeletal Development of the Hand and Wrist.* Stanford University Press. Stanford.
- Gulsahi A, De Luca S, Cehreli SB, Tirali RE, Cameriere R (2016). Accuracy of the third molar index for assessing the legal majority of 18 years in Turkish population. *Forensic Sci Int. Sep;266:584.e1-584.e6.*
- Gunst K, Mesotten K, Carbonez A, Willems G (2003). Third molar root development in relation to chronological age: a large sample sized retrospective study. *Forensic Sci Int. Sep 9;136(1-3):52-7.*
- Gustafson G, Koch G (1974) Age estimation up to 16 years of age based on dental development. *Odontologisk revy, 25(3).*
- Haavikko K (1974). Tooth formation age stimated on a few selected teeth. A simple method for clinical use. *Procc Finn Dent Soc 70:15-9.*
- Hagg U, Taranger J (1980). Skeletal stages of the hand and wrist as indicators of the pubertal growth spurt. *Acta Odontologica Scandinavica, 38, 187-200.*
- Hansman CF, Maresh MM (1961) A longitudinal study of skeletal maturation. *America Journal of Diseases of Children, 101, 305-321.*
- Hawley NL, Rousham EK, Norris SA, Pettifor JM, Cameron N (2009). Secular trends in skeletal maturity in South Africa: 1962-2001. *Ann Hum Biol.;36(5):584–594.*
- Hawley NL, Rousham EK, Johnson W, Norris SA, Pettifor JM, Cameron N (2012). Determinants of relative skeletal maturity in South African children. *Bone. 2012;50:.259–264.*
- Henk ten Have (2016). *Encyclopedia of Global Bioethics.* Switzerland: Springer Reference.
- Hillewig E, Degroote J, Van der Paelt T, Visscher A, Vandemaele P, Lutin B, D'Hooghe L, Vandriessche V, Piette M, Verstraete K (2013). Magnetic resonance imaging of the sternal extremity of the clavicle in forensic

- age estimation: towards more sound age estimates. *Int J Legal Med.* May;127(3):677-89.
- Hunt EE, Hatch JW (1979). The estimation of age death and ages of formation of transverse lines from measurements of human long bones. *Am J Phys Anthropol*, 54: 461-9.
- Introna F, Campobasso CP (2006). Biological vs Legal Age of Living Individuals, in: Schmitt A, Cunha E and Pinheiro J (a cura di). *Forensic Anthropology and Medicine. Complementary Sciences From Recovery to Cause of Death*, Humana Press, New York.
- Jit I, Kulkarni M. (1976). Times of appearance and fusion of epiphysis at the medial end of the clavicle. *The Indian Journal of Medical Research*, 64(5), 773–782.
- Kellinghaus M, Schulz R, Vieth V, Schmidt S, Schmeling A (2010). Forensic age estimation in living subjects based on the ossification status of the medial clavicular epiphysis as revealed by thin-slice multidetector computed tomography. *International journal of legal medicine*, 124(2), 149–154.
- Kelmendi J, Cameriere R, Koçani F, Galić I, Mehmeti B, Vodanović M (2018). The third molar maturity index in indicating the legal adult age in Kosovar population. *Int J Legal Med.* Jul;132(4):1151-1159.
- Kimura K (1977). Skeletal maturity of the hand and wrist in Japanese children by the TW2 method. *Ann Hum Biol.*;4(4):353-6.
- Krämer JA, Schmidt S, Jürgens KU, Lentschig M, Schmeling A, Vieth V (2014). The use of magnetic resonance imaging to examine ossification of the proximal tibial epiphysis for forensic age estimation in living individuals. *Forensic Sci Med Pathol.* 2014 Sep;10(3):306-13.
- Krämer JA, Schmidt S, Jürgens KU, Lentschig M, Schmeling A, Vieth V (2014). Forensic age estimation in living individuals using 3.0 T MRI of the distal femur. *Int J Legal Med.* 2014 May;128(3):509-14. doi: 10.1007/s00414-014-0967-3. Epub Feb 7
- Krogman WM. *The human skeleton in forensic medicine* (1955). I. *Postgrad Med.* Feb;17(2):A-48; passim.

- Krogman WM, Iscan MY (1986). *The Human Skeleton in Forensic Medicine*. Charles C. Thomas Publisher, Springfield.
- Kuczarski RJ, Ogden CL, Guo SS, Grummer-Strawn LM, Flegal KM, Mei Z, Wei R, Curtin LR, Roche AF, Johnson CL (2002). 2000 CDC growth charts for the United States: Methods and development. *National Center for Health Statistics. Vital Health Stat* 11(246).
- Kullman L, Johanson G, Akesson L (1992). Root development of the lower third molar and its relation to chronological age. *Swed Dent J.*;16(4):161-167.
- Kumagai A, Takahashi N, Palacio LAV, Giampieri A, Ferrante L, Cameriere R (2019). Accuracy of the third molar index cut-off value for estimating 18 years of age: Validation in a Japanese samples. *Leg Med (Tokyo)*. May;38:5-9.
- Kvaal SI, Kolltveit KM, Thomsen IO, Solheim T (1995). Age estimation of adults from dental radiographs. *Forensic Sci Int*. Jul 28;74(3):175-85.
- Landis JR, Koch GG (1977). The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics.*;33:159–174.
- Langley NR, Jantz LM, McNulty S, Maijanen H, Ousley SD, Jantz RL (2018). Data for validation of osteometric methods in forensic anthropology. *Data Brief*. 2018;19:.21–28.
- Legge 7 aprile 2017, n. 47.
- Lei G, Liu F, Liu P, Zhou Y, Jiao T, Dang YH (2019). Worldwide tendency and focused research in forensic anthropology: A bibliometric analysis of decade (2008-2017) *Leg Med (Tokyo)*, 37:67-75.
- Levesque GY, Demirjian A, Tanguay R (1981). Sexual dimorphism in the development, emergence, and agenesis of the mandibular third molar. *J Dent Res.*;60(10):1735–1741.
- Linnet MS, Slovis TL, Miller DL, Kleinerman R, Lee C, Rajaraman P, Berrington de Gonzalez A (2012). Cancer risks associated with external radiation from diagnostic imaging procedures. *CA Cancer J Clin*. 2012;62(2):75–100.

- Liversidge HM, Herdeg B, Rösing FW (1998). Dental age estimation of non-adults. A review of methods and principles. In: Alt KW, Rösing FW, Teschler-Nicola M (eds) *Dental Anthropology*. Springer, Vienna.
- Liversidge HM (2008). Timing of human mandibular third molar formation. *Ann Hum Biol.*; 35 (3): 294-321.
- Liversidge HM, Holly Smith B, Bias MM (2010). Accuracy of age estimation using developing teeth in 946 children. *Am J Phys Anthropol.*;143:.545–555
- Loder RT, Estle DT, Morrison K, Eggleston D, Fish DN, Greenfield ML, Guire KE (1993). Applicability of the Greulich and Pyle skeletal age standards to black and white children of today. *Am J Dis Child*, 147: 1329-1333.
- Lucina Hackman S, Buck A, Black S (2010). Age evaluation from the skeleton, in: S. Black, A. Aggrawal, J. Payne-James (Eds.), *Age estimation in the living. The practitioners guide*. 1st ed, Wiley, Chichester, West Sussex, UK.
- Mackay DH (1952). Skeletal maturation of the hand: a study of development in East African children. *T Roy Soc Trop Med H.*;46:135–150.
- Malina RM, Bouchard C, Oded B. Biological maturation: concepts and assessment (2004), in: Malina RM, Bouchard C, Oded B (a cura di). *Growth, maturation and physical activity*. Champaign (IL): Human Kinetics; pp 277–303.
- Mansourvar M, Ismail MA, Herawan T, Raj RG, Kareem SA, Nasaruddin FH (2013). Automated bone age assessment: motivation, taxonomies, and challenges. *Comput Math Methods Med.*;2013:.1–11.
- Marcidante KJ, Kliegman RM, Jenson HB, Behrman RE (2012). *Nelson. Manuale di Pediatria*, Elsevier, Milano.
- Marshall WA, Tanner JM (1969). Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child*; 44:291-303
- Marshall WA, Tanner JM (1970). Variations in the pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Child*; 45:13-2.

- Mentzel HJ, Vilser C, Eulenstein M, Schwartz T, Vogt S, Böttcher J, Yaniv I, Tsoref L, Kauf E, Kaiser WA (2005). Assessment of skeletal age at the wrist in children with a new ultrasound device. *Pediatr Radiol.* Apr;35(4):429-33.
- Meyer DB, O’Rahilly R (1958). Multiple techniques in the study of the onset of prenatal ossification. *Anat Rec.* Oct;132(2):181-93.
- Miller JZ, Slemenda CW, Meaney FJ, Reister TK, Hui S, Johnston CC (1991). The relationship of bone mineral density and anthropometric variables in healthy male and female children. *Bone Miner.* Aug;14(2):137-52.
- Mincer HH, Harris EF, Berryman HE (1997). Molar development as an estimator of chronologic age, in: Bowers CM, Bell GL (a cura di). *Manual of Forensic Odontology*, 3^a Edizione, American Society of Forensic Odontology, Saratoga Springs, New York.
- Mincer HH, Harris EF, Berryman HE (1993) The A.B.F.O. Study of Third Molar Development and Its Use As an Estimator of Chronological Age, *Journal of Forensic Sciences*, 38, No. 2: 379-390.
- Ministero dell’Interno (2020). Cruscotto statistico giornaliero sugli sbarchi dei migranti. <https://www.interno.gov.it/it/stampa-e-comunicazione/dati-e-statistiche/sbarchi-e-accoglienza-dei-migranti-tutti-i-dati> (ultimo accesso: 1 dicembre 2020).
- Morrees CFA, Fanning EA, Hunt EE. (1963). Age variation of formation stages for ten permanent teeth. *J Dent Res* 42(6):149-502.
- Noback CR (1954). The appearance of ossification centers and the fusion of bones. *Am J Phys Anthropol.* 1954 Mar;12(1):63-9.
- Nolla CM (1960) The development of permanent teeth. *J Dent Child*, 27:253-66.
- Norelli GA, Pinchi V (2011). *Odontologia Forense. Parte I – Medicina Legale in Odontoiatria*. Piccin Nuova Libreria, Padova.
- Okano T, Sur J (2010). Radiation dose and protection in dentistry. *Jpn Dent Sci Rev.*;46(2):112–121.
- Olze A, Schmeling A, Taniguchi M, Maeda H, van Niekerk P, Wernecke KD, Geserick G (2004). Forensic age estimation in living subjects: the

- ethnic factor in wisdom tooth mineralization. *Int J Legal Med.* Jun;118(3):170-3.
- Olze A, Reisinger W, Geserick G, Schmeling A (2006). Age estimation of unaccompanied minors. Part II. Dental aspects. *Forensic Sci Int.* May 15;159 Suppl 1:S65-7.
- Olze A, Niekerk PV, Ishikawa T, Zhu BL, Schulz R, Maeda H, Schmeling A (2007). Comparative study on the effect of ethnicity on wisdom tooth eruption. *Int J Legal Med.*;121(6):445–448.
- Ontell FK, Ivanovic M, Ablin DS, Barlow TW (1996). Bone age in children of diverse ethnicity. *AJR Am J Roentgenol*, 167:1395-1398.
- Pallant J (2007). *SPSS survival manual: a step by step guide to data analysis using SPSS for windows.* 3rd ed. Maidenhead: Open University Press.
- Perinetti G (2018). *StaTips Part IV: selection, interpretation and reporting of the intraclass correlation coefficient.* *South Eur J Orthod Dentofac Res.*;5(1):3–5.
- Pinchi V, Norelli GA, Bartolini V (2014). Ethical implications of Italian legislation on 'epilepsy and driving'. *J Med Ethics.* Aug;40(8):552-7.
- Platt RA (1956). *The skeletal maturation of Negro schoolchildren.* Unpublished M.A. Thesis, University of Pennsylvania, Philadelphia.
- Portigliatti Barbos M, Robetti I, Iorio M, Festa T (1982). L'accertamento dell'età dentaria nel secondo decennio di vita quale contributo alla definizione delle competenze dei tribunali minorili. *Riv. It. Med. Leg.*, 4, 863.
- Pyle SI, Sontag LW (1943). Variability in onset of ossification in epiphyses and short bones of the extremities. *Am J Roentg* 1943, 49: 795-8
- Ransom H, Olsson JM (2017) Allocation of Health Care Resources: Principles for Decision-making *Pediatr Rev*, 38:320-329.
- Rasband WS. *ImageJ*, U.S. National Institutes of Health. Bethesda (MD); 1997-2018. <https://imagej.nih.gov/ij/> (ultimo accesso: 1 dicembre 2020).
- Redding RE (1993) Children's competence to provide informed consent for mental health treatment. *Washington and Lee Law Review*, 50:696-751.

- Regolamento (UE) n. 604/2013 del Parlamento europeo e del Consiglio del 26 giugno 2013.
- Regulla DF, Eder H (2005). Patient exposure in medical X-ray imaging in Europe *Radiat Prot Dosimetry* , 114:11-25
- Ribeiro G, Tangen JM, McKimmie BM (2019). Beliefs about error rates and human judgment in forensic science. *Forensic Sci Int.*; 297: 138-147.
- Roche AF, Chumlea W, Thissen D. (1989). Assessing the skeletal maturity of the hand-wrist: FELS method. C.C. Thomas, Springfield.
- Różyło-Kalinowska I, Kalinowski P, Kozek M, Galić I, Cameriere R (2018). Validity of the third molar maturity index I3M for indicating the adult age in the Polish population. *Forensic Sci Int. Sep*;290:352.e1-352.e6.
- Rosenfield RL, Lipton RB, Drum ML (2009). Thelarche, pubarche, and menarche attainment in children with normal and elevated body mass index. *Pediatrics. Jan*;123(1):84-8.
- Santiago BM, Almeida L, Cavalcanti YW, Magno MB, Maia LC (2018). Accuracy of the third molar maturity index in assessing the legal age of 18 years: a systematic review and meta-analysis. *Int J Legal Med.*;132(4):1167–1184.
- Santoro V, De Donno A, Marrone M, Campobasso CP, Introna F (2009). Forensic age estimation of living individuals: a retrospective analysis. *Forensic Sci Int.*;193:129.e1–129.e4.
- Sauer PJ, Nicholson A, Neubauer D, Advocacy and Ethics Group of the European Academy of Paediatrics (2016). Age determination in asylum seekers: physicians should not be implicated *Eur J Pediatr*, 175:299-303.
- Save the Children (2020). Atlante minori stranieri non accompagnati in Italia. <https://www.savethechildren.it/sites/default/files/AtlanteMinoriMigranti2017.pdf> (ultimo accesso: 1 dicembre 2020).
- Scheuer JL, Musgrave JH, Evans SP (1980). The estimation of late fetal and perinatal age from limb bone length by linear and logarithmic regression. *Ann Hum Biol. May-Jun*;7(3):257-65.

- Scheuer L, Black S. (2000) *Developmental Juvenile Osteology*. London, Academic Press.
- Schmeling A, Reisinger W, Loreck D, Vendura K, Markus W, Geserick G (2000). Effects of ethnicity on skeletal maturation: consequences for forensic age estimations. *Int. J. Leg. Med.*;113: 253-258.
- Schmeling A, Olze A, Reisinger W, König M, Geserick G (2003). Statistical analysis and verification of forensic age estimation of living persons in the Institute of Legal Medicine of the Berlin University Hospital Charité. *Leg Med (Tokyo)*. Mar;5 Suppl 1:S367-71.
- Schmeling A, Geserick G, Reisinger W, Olze A (2007). Age estimation. *Forensic Sci Int*. 17;165(2-3):178-81.
- Schmeling A, Grundmann C, Fuhrmann A, Kaatsch HJ, Knell B, Ramsthaler F, Reisinger W, Riepert T, Ritz-Timme S, Rösing FW, Röttscher K, Geserick G. (2008). Criteria for age estimation in living individuals. *Int J Legal Med*; 122:457-60.
- Schmeling A, Black S (2010). An introduction to the history of age estimation in the living, in: Black A, Payne-James J, Aggrawal A (a cura di). *Age Estimation in the Living: The Practitioners Guide*. John Wiley & Sons, New York.
- Schmeling A, Schmidt S, Schulz R, Olze A, Reisinger W, Vieth V (2010). Practical imaging techniques for age evaluation. In: Black A, Payne-James J, Aggrawal A (a cura di) *Age Estimation in the Living: The Practitioners Guide*, John Wiley & Sons, New York.
- Schmeling A (2017). Forensic age estimation, in: Houck MM. (a cura di.) *Forensic Anthropology*, Academic Press, London.
- Schmid F, Moll H. (1960). *Atlas der Normalen und Pathologischen Handskelettentwicklung*. Berlin: Springer-Verlag.
- Schmidt S, Koch B, Schulz R, Reisinger W, Schmeling A. (2007) Comparative analysis of the applicability of the skeletal age determination methods of Greulich–Pyle and Thiemann–Nitz for forensic age estimation in living subjects. *International Journal of Legal Medicine*, 121, 293-296.

- Schmidt S, Mühler M, Schmeling A, Reisinger W, Schulz R (2007). Magnetic resonance imaging of the clavicular ossification. *Int J Legal Med.* Jul;121(4):321-4.
- Schmidt S, Schiborr M, Pfeiffer H, Schmeling A, Schulz R (2013). Sonographic examination of the apophysis of the iliac crest for forensic age estimation in living persons. *Sci Justice.* Dec;53(4):395-401.
- Schmidt S, Schiborr M, Pfeiffer H, Schmeling A, Schulz R (2013). Age dependence of epiphyseal ossification of the distal radius in ultrasound diagnostics. *Int J Legal Med.* Jul;127(4):831-8.
- Schmidt S, Ribbecke S, Pfeiffer H, Schmeling A (2018). Die Methode zur Skeletaltersbestimmung nach Cameriere et al. (2006) – ein erfolgsversprechender Ansatz für die forensische Altersschätzungspraxis? *Arch Kriminol.*;241:198–217.
- Schour I, Massler M (1941) Development of human dentition. *J Am Dent Assoc*; 20:379-427.
- Schulz R, Zwiesigk P, Schiborr M, Schmidt S, Schmeling A. (2008). Ultrasound studies on the time course of clavicular ossification. *International journal of legal medicine*, 122(2), 163–167.
- Schulz R, Schiborr M, Pfeiffer H, Schmidt S, Schmeling A (2013). Sonographic assessment of the ossification of the medial clavicular epiphysis in 616 individuals. *Forensic Sci Med Pathol.* Sep;9(3):351-7
- Schulz R, Schiborr M, Pfeiffer H, Schmidt S, Schmeling A (2014). Forensic age estimation in living subjects based on ultrasound examination of the ossification of the olecranon. *J Forensic Leg Med.* Feb;22:68-72.
- Separated Children in Europe Programme. Position Paper on Age Assessment in the Context of Separated Children in Europe. <https://www.refworld.org/docid/4ff535f52.html>. (ultimo accesso: 1 dicembre 2020).
- Smith T, Brownlees L (2011). Age assessment practices: a literature review & annotated bibliography, https://www.unicef.org/protection/m/Age_Assessment_Practices_2010.pdf (ultimo accesso: 1 dicembre 2020).
- Spinas E, De Luca S, Lampis L, Velandia Palacio LA, Cameriere R. Is the third molar maturity index (I3M) useful for a genetic isolate

- population? Study of a Sardinian sample of children and young adults (2018). *Int J Legal Med.* Nov;132(6):1787-1794.
- Stevenson PH (1924). Age Order of Epiphyseal Union in Man. *American Journal Of Physical Anthropology*, 7, 53-93.
- Sulmasy LS, Bledsoe TA, ACP Ethics (2019). Professionalism and Human Rights Committee American College of Physicians Ethics Manual: Seventh Edition *Ann Intern Med*, 170:S1-S32.
- Sun SS, Schubert CM, Chumlea WC, Roche AF, Kulin HE, Lee PA, Himes JH, Ryan AS (2002). National estimates of the timing of sexual maturation and racial differences among US children. *Pediatrics*. 2002 Nov;110(5):911-9.
- Tafrount C, Galić I, Franchi A, Fanton L, Cameriere R (2019). Third molar maturity index for indicating the legal adult age in southeastern France. *Forensic Sci Int.* Jan;294:218.e1-218.e6.
- Tanner JM (1962). *Growth and adolescence*. Blackwell Scientific Publications. Oxford.
- Tanner JM, Whitehouse RH, Healy MJR (1962). A new system for estimating skeletal maturity from the hand and wrist, with standards derived from a study of 2,600 healthy British children. Part II. The scoring system. International Child Centre, Paris.
- Tanner JM, Whitehouse RH, Cameron N, Marshall WA, Healy MJR, Goldstein H (1975). *Assessment of Skeletal Maturity and Prediction of Adult Height (TW2 Method)*. Academic Press, London.
- Tanner J, Oshman D, Bahhage F, Healy M (1997). Tanner-Whitehouse bone age reference values for North American children. *J Pediatr.*;131(1):34-40.
- Tanner JM, Whitehouse RH, Cameron N, Marshall WA, Healy MJR, Goldstein H (2001) *Assessment of Skeletal Maturity and Prediction of Adult Height (TW3 Method)*. Academic Press, London.
- Taylor J, Blenkin M (2010). Age evaluation and odontology in the living. In: Black A, Payne-James J, Aggrawal A (a cura di) *Age Estimation in the Living: The Practitioners Guide*, John Wiley & Sons, New York.

- The Australasian Paediatric Endocrine Group, the Royal Australasian College of Physicians, the Australian & New Zealand Society for Paediatric Radiology, and the Royal Australian and New Zealand College of Radiologist (2011). Assessment of age of refugees and those persons accused of providing refugees with illegal access to Australia: the unethical use of Ionizing Radiation (X-Rays) and/or Genital examination. <https://www.ranzcr.com/special-interest-groups-anzspr> (ultimo accesso: 1 dicembre 2020).
- The United Nations Refugee Agency (2019). Global Trends. Forced Displacement in 2018. <https://www.unhcr.org/statistics/unhcrstats/5d08d7ee7/unhcr-global-trends-2018.html> (ultimo accesso: 1 dicembre 2020).
- The United Nations Refugee Agency (2020). Global Trends. Forced Displacement in 2019. <https://www.unhcr.org/globaltrends2019/> (ultimo accesso: 1 dicembre 2020).
- Thevissen PW, Fieuws S, Willems G (2010). Human third molars development: comparison of 9 country specific populations. *Forensic Sci Int.*; 201 (1-3): 102-5.
- Thevissen PW, Kvaal SI, Willems G (2012). Ethics in age estimation of unaccompanied minors *J Forensic Odontostomatol*, 30 Suppl 1:84-102.
- Thiemann HH, Nitz, I (1991) *Röntgenatlas der normalen hand im kindesalter*, Thieme, Leipzig.
- Thorson J, Hägg U (1991). The accuracy and precision of the third mandibular molar as an indicator of chronological age. *Swed Dent J.*;15(1):15-22.
- Todd TW, D'Errico J (1928) The clavicular epiphyses. *American Journal of Anatomy*, 41, 25-50.
- Ubelaker DH (1978). *Human Skeletal Remains: Excavation, Analysis, Interpretation*. Aldine Publishing, Chicago.
- Ubelaker DH. (1989) The estimation of age at death from immature human bone. In: Iscan MY (a cura di). *Age markers in the human skeleton* Charles C. Thomas Publisher, Springfield, Illinois.

- Ubelaker DK (1999) Human Skeletal Remains: Excavation, Analysis, Interpretation. 3 Ed., Taraxacum, Washington D.C.
- Ubelaker DH, Khosrowshahi H (2019). Estimation of age in forensic anthropology: historical perspective and recent methodological advances *Forensic Sci Res* 2019, 4:1-9
- UNICEF. Age matters! (2016). [https://agemattersnow.org/Downloads /YPL_Age_ Mat ers_Final_Report_Oct2016.pdf](https://agemattersnow.org/Downloads/YPL_Age_Matters_Final_Report_Oct2016.pdf) (ultimo accesso: 1 dicembre 2020).
- United Nations Children's Fund (2010) Progress for Children: Achieving the MDGs withEquity, https://www.unicef.org/publications/files/Progress_for_Children-No.9_EN_081710.pdf (ultimo accesso: 1 dicembre 2020).
- United Nations Children's Fund (2013). Age Assessment: A Technical Note. <https://www.refworld.org/docid/5130659f2.html> (ultimo accesso: 1 dicembre 2020).
- United Nations Commission on Human Rights (1990), Convention on the Rights of the Child.. <https://www.refworld.org/docid/3b00f03d30.html> (ultimo accesso: 1 dicembre 2020).
- United Nations Committee on the Rights of the Child (CRC) (2005), General comment no. 6 (2005): treatment of unaccompanied and separated children outside their country of origin. <https://www.refworld.org/docid/42dd174b4.html> (ultimo accesso: 1 dicembre 2020).
- United States Nuclear Regulatory Commission Biological Effects of Radiation, <https://www.nrc.gov/reading-rm/doc-collections/fact-sheets/bio-effects-radiation.html> (ultimo accesso: 1 dicembre 2020).
- van Venrooij-IJsselmuiden ME (1978). Mixed longitudinal data on height, weight, limb circumferences and skinfold measurements of Dutch children. *Hum Biol.* 50(3): 369-84.
- Webb PAO, Suchey JM (1985) Epiphyseal union of the anterior iliac crest and medial clavicle in a modern multiracial sample of America males and females. *America Journal of Physical Anthropology*, 68, 457-466.

- Wenke D (2017). Council of Europe. Age assessment: council of Europe member states' policies, procedures and practices respectful of children's rights in the context of migration. <https://rm.coe.int/age-assessment-council-of-europemember-states-policies-procedures-an-d/168074b723>.
- Wenzel A, Melsen B (1982). Skeletal maturity in 6-16-year-old Danish children assessed by the Tanner-Whitehouse-2 method. *Ann Hum Biol.* 1982;9(3):277-81.
- Wenzel A, Droschl H, Melsen B (1984). Skeletal maturity in Austrian children assessed by the GP and the TW-2 methods. *Ann Hum Biol.* 1984;11(2):173-7.
- World Medical Association (2013). World medical association declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA.*;310:2191–2194.
- Zelic K, Galic I, Nedeljkovic N, Jakovljevic A, Milosevic O, Djuric M, Cameriere R (2016). Accuracy of Cameriere's third molar maturity index in assessing legal adulthood on Serbian population. *Forensic Sci Int.* Feb;259:127-32.
- Zhang A, Sayre JW, Vachon L, Liu BJ, Huang HK (2009). Racial differences in growth patterns of children assessed on the basis of bone age. *Radiology*, 250: 228–235.