

Diagnóstico Rápido de CCP por análise de cerúmen usando Espectroscopia Raman de Superfície Aprimorada

DOI: 10.5281/zenodo.17013088

Hellen Ferreira da Silva ^{a*}

This study investigates the applicability of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) combined with machine learning (ML) algorithms for the diagnosis of head and neck cancers through the analysis of cerumen (earwax). The proposed approach aims to develop a rapid, non-invasive, and effective method with potential for use in clinical point-of-care settings. The technique demonstrated a strong ability to distinguish between samples from healthy individuals and cancer patients with high accuracy, standing out as a promising tool for efficient diagnostic screening.

Este trabalho investiga a aplicabilidade da Espectroscopia Raman de Superfície Aprimorada (SERS), combinada com algoritmos de aprendizado de máquina, para o diagnóstico de cânceres de cabeça e pescoço por meio da análise de cerúmen (cera de ouvido). A proposta visa desenvolver um método rápido, não invasivo e eficaz, com potencial para uso em ambientes de atendimento clínico. A abordagem demonstrou capacidade de diferenciar amostras de indivíduos saudáveis e pacientes com câncer com alta acurácia, destacando-se como uma ferramenta para triagem diagnóstica eficiente.

^aUniversidade de Brasília (UnB). Campus Darcy Ribeiro. Instituto de Química (IQ/UnB).

*E-mail: hellenferreiradf@gmail.com

Palavras-chave: Espectroscopia vibracional; Cera de ouvido, Câncer; Diagnóstico.

Recebido em 16 de julho de 2025,

Aprovado em 15 de agosto de 2025,

Publicado em 31 de agosto de 2025.

Introdução

O diagnóstico preciso e precoce de doenças no local de atendimento permanece um dos grandes desafios da medicina moderna, uma vez que a detecção em estágios iniciais está diretamente associada a tratamentos mais eficazes e ao aumento da sobrevida dos pacientes.^{1,2} Nesse contexto, a biópsia líquida tem se destacado como uma abordagem promissora, permitindo a análise de biomarcadores em fluidos corporais de forma minimamente invasiva.^{1,2} Diversos biofluídios, como saliva, suor e cerúmen, têm sido investigados devido ao seu potencial em refletir o estado fisiológico e patológico do organismo de maneira rápida e acessível.³

O cerúmen, ou cera de ouvido, é um fluido corporal composto por uma mistura heterogênea de lipídios, proteínas, aminoácidos, carboidratos, compostos orgânicos voláteis (COVs), elementos químicos, hormônios e enzimas.³ Sua estabilidade, por não ser facilmente afetado por fatores externos como exposição ao ar ou cosméticos, aliada à coleta indolor e não invasiva, o torna uma matriz biológica atraente para fins diagnósticos.^{1,3} Estudos recentes demonstram seu potencial na detecção de diversas condições, incluindo diabetes, exposição a canabinoides (com aplicações forenses),

e até mesmo depressão, por meio da quantificação de cortisol.^{4,5}

Nesse contexto, entre as doenças que poderiam se beneficiar de um método diagnóstico baseado em cerúmen, o câncer de cabeça e pescoço (CCP) merece destaque. Sendo a sétima neoplasia mais prevalente no mundo, o CCP engloba tumores malignos originados nas células escamosas que revestem as mucosas da cavidade oral, faringe, laringe e seios paranasais.² A detecção precoce é desafiadora devido ao caráter sutil dos sintomas iniciais e à complexidade anatômica da região, que dificulta exames clínicos e biópsias convencionais, procedimentos muitas vezes invasivos e demorados.² Dessa forma, evidencia-se a necessidade premente de métodos diagnósticos rápidos, confiáveis e menos invasivos para essa condição.

Nesse cenário, técnicas espectroscópicas, como a espectroscopia Raman amplificada por superfície (SERS, *Surface-Enhanced Raman Spectroscopy*), emergem como ferramentas promissoras. Enquanto a espectroscopia Raman convencional (RS) fornece informações vibracionais moleculares detalhadas, seu sinal intrinsecamente fraco pode ser limitante.^{7,8} A SERS supera essa limitação ao utilizar nanopartículas plasmônicas, que amplificam

significativamente o sinal Raman, permitindo a detecção de traços de biomoléculas mesmo em concentrações muito baixas.^{9,10} Essa técnica tem sido amplamente aplicada na detecção de moléculas biológicas, oferecendo alta sensibilidade e seletividade para diagnósticos clínicos.^{9,10}

Além disso, a integração de métodos de *machine learning* à análise de dados espectroscópicos pode melhorar ainda mais a precisão diagnóstica. Algoritmos de aprendizado de máquina são capazes de identificar padrões complexos em grandes conjuntos de dados, auxiliando na diferenciação entre amostras saudáveis e patológicas com maior acurácia.

Diante disso, este trabalho tem como objetivo investigar o potencial da SERS associada a *machine learning* para o diagnóstico não invasivo de câncer de cabeça e pescoço utilizando o cerúmen como matriz biológica. A combinação dessas abordagens pode representar um avanço significativo no desenvolvimento de métodos rápidos e precisos para detecção precoce no local de atendimento, contribuindo para um prognóstico mais favorável aos pacientes.

Metodologia

A metodologia empregada neste estudo seguiu um protocolo estabelecido na literatura para análise de biomarcadores em cerúmen, envolvendo três etapas principais: coleta e pré-tratamento de amostras, análise por espectroscopia Raman amplificada por superfície (SERS), e processamento de dados por aprendizado de máquina.²

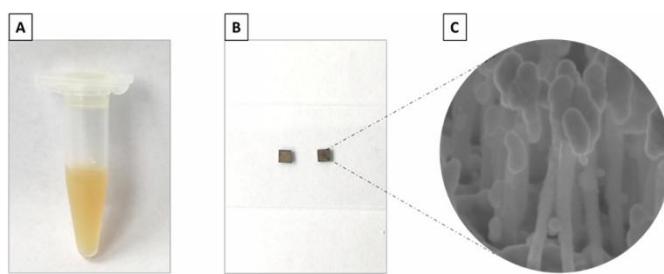
As amostras de cerúmen foram obtidas de uma coorte composta por seis voluntários saudáveis (CTRL) e sete pacientes diagnosticados com câncer de cabeça e pescoço (CCP) no Hospital Universitário de Jena, na Alemanha. Os critérios de inclusão adotados consideraram indivíduos com idade entre 48 e 90 anos, com predominância do sexo masculino (apenas duas mulheres no grupo CTRL), incluindo três pacientes com CCP em tratamento ou que já haviam recebido terapia. As características demográficas dos participantes estão detalhadas na Tabela 1, que apresenta informações sobre identificação, gênero, ano de nascimento e grupo de cada participante.²

Tabela 1. Detalhes dos participantes. Extraído da referência 2.

ID	Gênero	Ano de nascimento	Grupo
#3	M	1969	CTRL
#4	M	1964	CTRL
#7	M	1965	CTRL
#11	M	1956	CCP
#15	M	1956	CCP
#16	M	1955	CCP
#18	F	1937	CTRL
#19	F	1965	CTRL
#20	M	1968	CTRL
#22	M	1948	Terapia CCP
#23	M	1936	Terapia CCP
#25	M	1948	Terapia CCP
#27	M	1975	CCP

O protocolo de coleta envolveu a obtenção de 50-100 mg de cerúmen de ambas as orelhas de cada participante, com armazenamento imediato a -80°C até a análise. Apenas amostras sem contaminação por sangue foram selecionadas para o estudo. O pré-tratamento das amostras consistiu em quatro etapas principais: (1) descongelamento e transferência para tubos de centrífuga de 1,5 mL com adição de 0,5 mL de PBS (solução tampão fosfatada salina) para preservação das biomoléculas; (2) sonicação por 1 hora a 36°C para extração eficiente dos componentes bioquímicos; (3) centrifugação a 13.000g por 10 minutos para separação de frações insolúveis; e (4) transferência do sobrenadante para novos tubos, obtendo-se o cerúmen líquido pronto para análise SERS.^{11, 12}

Figura 1. Etapas do tratamento de cerume. Extraído da referência 2.



Para a análise SERS, utilizaram-se chips de nanopilares de silício revestidos com prata. As amostras foram incubadas nos substratos SERS por 20 minutos e subsequentemente secas à temperatura ambiente. As medições espectroscópicas foram realizadas em microscópio Raman com aquisição de espectros na faixa de 600-2200 cm⁻¹. Os parâmetros instrumentais incluíram grade de 600 ranhuras/mm, tempo de integração de 5 segundos, e mapeamento de 100 pontos em uma área de 1,5 × 1,5 mm². O processamento dos dados SERS envolveu correção de linha de base (polinômio de 5^a ordem), suavização e normalização por área, com atribuição das bandas espectrais baseada em literatura especializada.^{13, 14, 15}

A análise por aprendizado de máquina focou na classificação dos espectros SERS entre os grupos CTRL e CCP. Inicialmente, aplicou-se análise de componentes principais (PCA) para redução de dimensionalidade, seguida por técnicas não lineares como t-SNE e UMAP para visualização de agrupamentos. O modelo de classificação empregou PCA combinado com Análise Discriminante Linear (LDA), utilizando validação cruzada do tipo *leave-two-individuals-out* (total de 42 iterações) para evitar *overfitting*. As métricas de desempenho incluíram precisão balanceada, AUC-ROC, sensibilidade e especificidade, calculadas utilizando a biblioteca *scikit-learn* em *Python* e pacotes *ggplot2* e *cowplot* em *R* para visualização.²

Para o desenvolvimento deste artigo, realizou-se uma busca bibliográfica específica nos periódicos Google Acadêmico, Periódicos CAPES, *PubMed*, *SciELO* e *Web of Science* acessadas por meio do acesso gratuito concedido a estudantes da Universidade de Brasília (UnB) pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), através da Comunidade Acadêmica Federada (CAFé). Utilizaram-se as palavras-chave “Cerúmen”, “Diagnóstico”, “Química” e “Doenças”. Por se

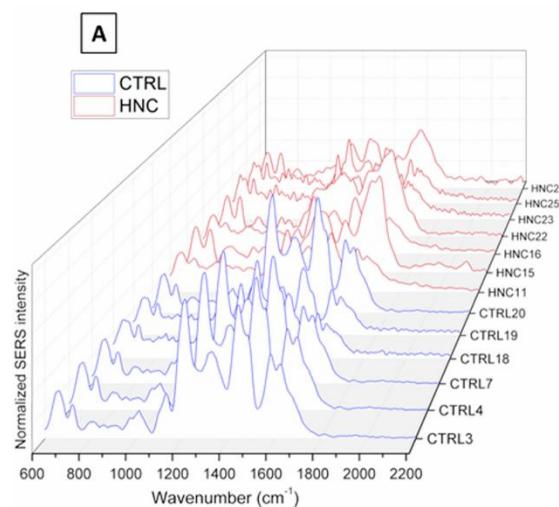
tratar de uma área em ascensão, foram considerados artigos publicados entre 2021 e 2025, a fim de obter as informações mais recentes sobre o tema.

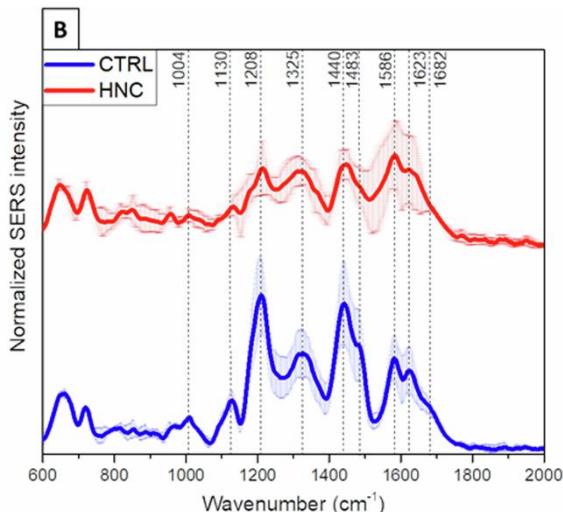
Resultados e discussão

A análise por espectroscopia Raman amplificada por superfície (SERS) de amostras de cerúmen de 13 indivíduos (6 controles saudáveis e 7 pacientes com câncer de cabeça e pescoço - CCP) revelou diferenças significativas nos perfis espectroscópicos entre os grupos. O pré-tratamento das amostras, envolvendo homogeneização, sonicação e centrifugação, permitiu a obtenção de cerúmen líquido adequado para análise (Figura 1). A técnica SERS, utilizando substratos de nanopilares de silício revestidos com prata, demonstrou alta sensibilidade para detecção de biomarcadores moleculares no cerúmen.²

Os espectros médios obtidos (Figura 2A) mostraram padrões reprodutíveis para os controles saudáveis, enquanto os pacientes com CCP apresentaram maior variabilidade espectral. As diferenças mais marcantes foram observadas nas bandas de 1440 cm⁻¹ (modos de flexão CH₂/CH₃ de lipídios/proteínas) e 1208 cm⁻¹ (alongamento CC), indicando alterações nas proporções relativas de lipídios e proteínas nos pacientes com câncer (Figura 3B). Essas alterações estão alinhadas com o fenômeno conhecido como reprogramação metabólica em células cancerosas, onde ocorre aumento na síntese de lipídios para sustentar o crescimento tumoral, concomitantemente com maior degradação proteica.^{7,8}

Figura 2. Análise SERS de cerúmen de doadores CCP e CTRL. Extraído da referência 2.

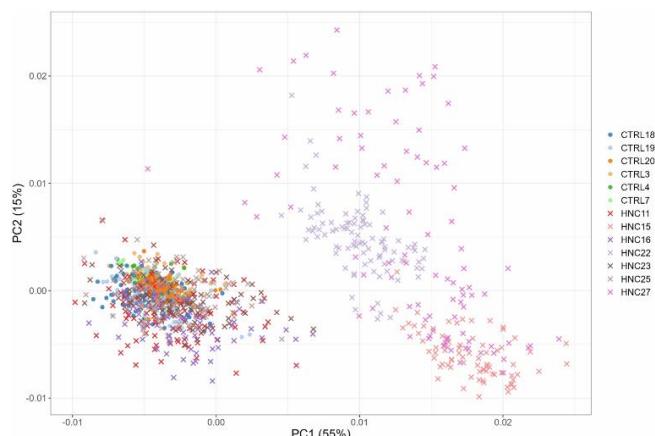




Além dessas, outras bandas apresentaram variações significativas: 1004 cm^{-1} (modo de respiração em anel da fenilalanina), 1131 cm^{-1} (alongamento CC de ácidos graxos saturados), e 1682 cm^{-1} (alongamento em fase C=C de lipídios). A redução nas razões de intensidade entre os picos $1440/1483$ e $1586/1623$ reforça a hipótese de desbalanço metabólico, com predominância de lipídios sobre proteínas nos pacientes com CCP.²

A análise por aprendizado de máquina, utilizando PCA-LDA (Análise de Componentes Principais seguida por Análise Discriminante Linear), mostrou-se eficaz na discriminação entre os grupos. O modelo alcançou 85% de precisão balanceada e 90% de AUC-ROC quando utilizando 10-15 componentes principais (Figura 3). Destaca-se a estabilidade dos coeficientes PCA-LDA nas regiões espectrais de $1550\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ e $1190\text{-}1220\text{ cm}^{-1}$, confirmando a importância dessas bandas como biomarcadores potenciais.²

Figura 3. 2D-PCA em espectros SERS de cerume. Extraído da referência 2



Comparado a outros biofluídos como a saliva, o cerúmen apresenta vantagens significativas para diagnóstico. Sua composição é menos afetada por fatores externos (dieta, higiene bucal) e variações circadianas, oferecendo maior estabilidade analítica. Além disso, o procedimento de coleta apresenta-se como não invasivo, rápido e passível de ser realizado com equipamentos portáteis, características que o tornam ideal para aplicação no ponto de atendimento.²

As limitações do estudo incluem o tamanho amostral modesto e a predominância de pacientes do sexo masculino. Futuras pesquisas deverão expandir a coorte para incluir maior diversidade demográfica e investigar a correlação entre os padrões espectrais e estágios tumorais específicos. A padronização de protocolos e o desenvolvimento de equipamentos SERS portáteis serão cruciais para a transição desta tecnologia para a prática clínica.

Em conclusão, os resultados demonstram o potencial do cerúmen como matriz biológica para diagnóstico não invasivo de CCP. A combinação de SERS com aprendizado de máquina mostrou-se promissora para detecção precoce, podendo complementar ou mesmo substituir métodos diagnósticos mais invasivos no futuro. Essa abordagem pode ser particularmente valiosa em regiões com acesso limitado a equipamentos de imagem e biópsia, representando um avanço significativo na democratização do diagnóstico do câncer.

Conclusões

O presente estudo evidenciou o potencial da espectroscopia Raman amplificada por superfície (SERS) combinada com aprendizado de máquina como uma abordagem inovadora para o diagnóstico não invasivo de câncer de cabeça e pescoço (CCP) utilizando o cerúmen como matriz biológica. Os resultados revelaram diferenças espectrais significativas entre indivíduos saudáveis e pacientes com CCP, particularmente nas bandas associadas a lipídios (1440 cm^{-1}) e proteínas (1208 cm^{-1}), refletindo as alterações metabólicas características do câncer.

A análise por PCA-LDA alcançou alta precisão (85% de precisão balanceada, 90% de AUC-ROC), destacando a viabilidade dessa técnica para discriminação entre grupos. Além disso, o cerúmen mostrou vantagens sobre outros biofluídos, como maior estabilidade e menor suscetibilidade a interferências externas, tornando-o uma alternativa promissora para o diagnóstico no ponto de atendimento.

Embora o tamanho amostral limitado e a predominância de pacientes do sexo masculino representem limitações, os resultados abrem caminho para futuros estudos com coortes maiores e mais diversificadas. A padronização de protocolos e o desenvolvimento de dispositivos SERS portáteis serão essenciais para a translação desta tecnologia para a prática clínica.

Em síntese, a combinação cerúmen-SERS-aprendizado de máquina apresenta-se como uma estratégia rápida, não invasiva e de baixo custo para o diagnóstico precoce de CCP, com potencial para revolucionar o rastreamento do câncer em ambientes com recursos limitados. Futuras pesquisas devem explorar sua aplicação em outros tipos de câncer e doenças metabólicas, consolidando o cerúmen como uma ferramenta valiosa no campo da medicina diagnóstica.

Contribuições por Autor

A resenha sobre o artigo em referência e a inclusão de observações são de Hellen Ferreira da Silva.

Conflito de interesse

Não há conflito de interesses.

Agradecimentos

Ao grupo PET-Química/IQ/UnB, à Secretaria de Educação Superior do Ministério da Educação (SeSU/MEC) e ao Decanato de Ensino de Graduação (DEG/UnB) pelo apoio ao Programa de Educação Tutorial pela bolsa concedida. Ao Instituto de Química (IQ/UnB) e à Universidade de Brasília pelo suporte e espaço fornecidos.

Notas e referências

- 1 E. F. Farnesi and M. Calvarese, Advancing cerumen analysis: exploring innovative vibrational spectroscopy techniques with respect to their potential as new point-of-care diagnostic tools, *Analyst*, 2024, **149**.
- 2 E. F. Farnesi and R. Guliev, Point-of-care SERS-based ML diagnosis of head and neck cancer via cerumen analysis, *npj Biosensing*, 2025, **2**, 14.
- 3 E. Shokry and N. R. A. Filho, Insights into cerumen and application in diagnostics: past, present and future prospective, *Biochimia Medica (Zagreb)*, 2017, **27**.
- 4 L. Gatto and R. Santoro, Calibration using a single-point external reference material for quantitative analysis, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2023, **231**.
- 5 S. Samad and B. Baloch, Revolutionizing depression diagnosis: earwax analysis for cortisol and beyond, *Bioanalysis*, 2024, **16**, 429–430.
- 6 J. M. G. Barbosa and N. Z. Pereira, Cerumenogram: a new frontier in cancer diagnosis in humans, *Scientific Reports*, 2019, **9**.
- 7 A. Falamas et al., Caracterização espectroscópica Raman da saliva para a discriminação do carcinoma espinocelular oral, *Analytical Letters*, 2021, **54**, 57–69.
- 8 G. Calado and I. Behl, Análise espectroscópica Raman da saliva para o diagnóstico de câncer bucal: uma revisão sistemática, *Translational Biophotonics*, 2019, **1**.
- 9 H.J. Oster et al., A análise espectroscópica Raman fundida de sangue e saliva proporciona alta precisão no diagnóstico de câncer de cabeça e pescoço, *Scientific Reports*, 2022, **12**.
- 10 P. Vohra and H. Ngo, Detecção de DNA de carcinoma de células escamosas usando nanochocalhos SERS ultrabrilhantes e esferas magnéticas para diagnóstico molecular de câncer de cabeça e pescoço, *Analytical Methods*, 2017, **9**.
- 11 A.M. Massadeh et al., Determinação simultânea de tramadol em amostras de cera de ouvido e urina: efeitos da idade, tempo de duração e sexo, *Bioanalysis*, 2024, **16**, 363–374.
- 12 S.I. Meier and S.C. Koelzer, Análise de drogas de abuso em cerúmen — correlação dos resultados da análise post-mortem com os de sangue, urina e cabelo, *Drug Testing and Analysis*, 2017, **9**.

- 13 H. Abramczyk and B. Brozek-Pluska, Novo olhar sobre os ductos mamários humanos com imagens Raman. Candidatos Raman como marcadores diagnósticos para o prognóstico do câncer de mama: mamaglobina, ácido palmítico e esfingomielina, *Analytica Chimica Acta*, 2016, **909**, 91–100.
- 14 C. Krafft and L. Neudert, Espectros Raman no infravermelho próximo de lipídios cerebrais humanos, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2005, **61**.
- 15 A. Rygula et al., Espectroscopia Raman de proteínas: uma revisão, *Journal of Raman Spectroscopy*, 2013, **44**.