

Validación de la tinción con azul de metileno al 0.5% en el diagnóstico del esófago de Barrett

en el Instituto de Gastroenterología. La Habana, Cuba

Palabras clave: Esófago de Barrett, metaplasia intestinal, azul de metileno, cromoendoscopia.

Key words: Barrett's esophagus, intestinal metaplasia, methylene blue, chromoendoscopy.

Héctor Rubén Hernández Garcés,* Enrique Galbán García,* Eduardo Gonzáles Estrabao,* Antonio Pedro Silva Semedo,* Víctor Castellanos González,* Francisca Rondon,* Yudit Andrain Sierra*

* Instituto de Gastroenterología. La Habana, Cuba.

Correspondencia:

Dr. Héctor Rubén Hernández Garcés

Calle K No. 151 e/ 11 y 13 apto 4^a. Vedado. Ciudad Habana. Cuba. Cod. Postal 10400. E-mail: hhgarcés@infomed.sld.cu.

Recibido: 27/02/2009

Aceptado: 06/03/2009

10

Resumen

El esófago de Barrett es una de las consecuencias más complejas y menos entendidas de la enfermedad por reflujo gastroesofágico. Sólo la metaplasia intestinal definida por criterios histológicos caracteriza esta enfermedad, la cual tiene la potencialidad de transformación maligna, a través de etapas bien conocidas (displasia de bajo grado, de alto grado y finalmente desarrollo de adenocarcinoma). Se procedió a la realización de cromoendoscopia de la mucosa esofágica utilizando azul de metileno al 0.5%, para poder determinar la concordancia o reproducibilidad entre la toma de biopsias dirigidas previa tinción y el estudio histológico; mediante estudio fueron incluidos, 21 pacientes con esófago de Barrett y 39 sin esófago de Barrett. La prevalencia de esófago de Barrett en nuestro medio fue de 0.5%. La sensibilidad de la cromoendoscopia con azul de metileno al 0.5% en los pacientes estudiados fue de 100% IC95% (84.5-100%) y la especificidad de 76.9%, IC95% (61.7-87.4%). El valor predictivo positivo de la tinción fue de 70.0% IC95% (52.1-83.3%) y el valor predicativo negativo de 100% IC95% (88.6-

Abstract

Barrett's esophagus is one of the most complex and less conversant consequences of GERD. In intestinal metaplasia, characterized by histological approaches the potentiality of wicked transformation exists, through very well-known stages (dysplasia of low or high grade and finally the adenocarcinoma development). We proceeded to chromoendoscopy evaluation, of the mucous esophagi using Methylene blue to 0.5%, to determine the agreement or reproducibly among the taking of biopsies managed previous tint and the histological study. By means of study they were included, 21 patients with esophagus of Barrett and 39 without esophagus of Barrett. The mean prevalence of esophagus of Barrett in our cases was 0.5%. The sensibility of the chromoendoscopy with methylene blue to 0.5% in the studied patients was 100% IC95% (84.5-100%) and the specificity 76.9%. IC95% (61.7-87.4%). The predictive positive value of the tint was 70.0% IC95% (52.1-83.3%) and the predictive negative value was 100% IC95% (88.6-100%). The diagnostic accuracy of the tint chromo endoscopic evaluation in the studied patients

100%). La exactitud diagnóstica de la tinción cromoendoscópica en los pacientes investigados fue de 850% IC95% (73.9-91.9%). La cromoendoscopia con instilación de azul de metileno al 0.5%, favorece la toma dirigida de biopsias e incrementa la sensibilidad del diagnóstico de metaplasia de tipo intestinal característico del esófago de Barrett.

Introducción

El esófago de Barrett (EB) es una de las entidades más misteriosas, fascinantes y desafiantes en gastroenterología. Su relación con el adenocarcinoma esofágico, su explosivo crecimiento en Europa y Estados Unidos desde 1980, y la posibilidad de diagnosticar fácilmente lesiones preneoplásicas para seguimiento y vigilancia, lo transforman en una entidad muy atractiva para clínicos e investigadores.

El hecho más importante en términos clínicos ha sido la observación que sólo la metaplasia intestinal es la que puede seguir la secuencia de displasia de bajo grado, luego de alto grado y adenocarcinoma. Actualmente se ha acordado que el esófago de Barrett es cualquier metaplasia columnar visible endoscópicamente en el esófago distal, en cuya histología se demuestre la presencia de células caliciformes (*goblet cells*) productoras de mucina, lo que le confiere la característica de metaplasia intestinal.¹

Para la definición del esófago de Barrett se requieren los siguientes parámetros:²⁻⁶

- **Criterio endoscópico:** apariencia columnar de la mucosa de cualquier extensión dentro del esófago tubular.
- **Criterio histológico:** metaplasia intestinal.

La prevalencia del esófago de Barrett en Europa es de alrededor de 1-4% en adultos que acuden a los servicios de endoscopia, con predominio de varones de 2.5:1 respecto a las mujeres. En Alemania, la prevalencia del esófago corto de Barrett es de 3.4% y del segmento largo de 0.8%.^{19,20} En Inglaterra, entre los años 1987-1991 y 1992-1996

was 85.0% IC95% (73.9-91.9%). The chromoendoscopy with methylene blue instillation to 0.5%, favors the managed taking of biopsies and it increases the sensibility of the diagnosis of intestinal metaplasia: intestinal metaplasia characteristics of Barrett's esophagus.

se incrementó la prevalencia del esófago de Barrett de 0.8 a casi 2% en los pacientes que acuden a los servicios de endoscopia.⁷

En Asia, las enfermedades del esófago (reflujo gastroesofágico, esofagitis erosiva, esófago de Barrett y adenocarcinoma) son infrecuentes. La prevalencia del esófago de Barrett en Japón, en adultos que acuden a los servicios de endoscopia, es de alrededor de 0.3-0.6%, predomina en hombres con edad promedio de 60 años.⁸

Es importante anotar que los estudios endoscópicos no revelan la verdadera prevalencia del esófago de Barrett, porque los pacientes sometidos a endoscopia ya tienen síntomas y muchos de los pacientes con esófago de Barrett pueden ser asintomáticos o con síntomas mínimos.

La tinción del tracto gastrointestinal ha recibido poca atención por los investigadores occidentales, a pesar del amplio uso de esta técnica en otras regiones del mundo. La técnica de teñir la superficie mucosa del tracto gastrointestinal ha sido referida como: coloración vital, tinción cromoendoscópica y cromoscopia.^{9,10}

Los métodos de tinción tienen una amplia aplicación en el campo clínico y en lo relacionado con la investigación de la gastroenterología. Teñir la superficie mucosa permite:

1. Visualizar en una forma más evidente los detalles de la mucosa.
2. Realzar las características de las lesiones ya detectadas, contrastando los márgenes de la lesión con los de la mucosa vecina normal.
3. Detectar lesiones anormales rápida y eficientemente, ya que sobresalen los detalles de su superficie.

Las biopsias dirigidas, utilizando el azul de metileno, pueden mejorar la detección de la metaplasia intestinal y la displasia en el esófago de Barrett, porque tiñe selectivamente la metaplasia intestinal e inclusive las células displásicas; sin embargo, hay reportes que han encontrado que al utilizar el azul de metileno se prolonga el procedimiento, se incrementan las molestias del paciente y lo expone a potenciales complicaciones, que no es ni muy sensible ni específico en la detección de la metaplasia intestinal.¹¹

En un estudio controlado, Canto y colaboradores mostraron una elevada exactitud diagnóstica (95%) de esta técnica para la detección de metaplasia intestinal, permitiendo biopsias dirigidas y reduciendo el número de biopsias necesarias. Un estudio controlado sugería que la tinción con azul de metileno podría ser especialmente útil para la identificación de metaplasia intestinal en Barrett corto. Sin embargo, diversos estudios que han evaluado la utilidad del azul de metileno en la detección de metaplasia han mostrado resultados discordantes, por lo que no puede recomendarse aún su empleo rutinario para esta indicación.¹²⁻¹⁷

Con base en lo anteriormente planteado, decidimos realizar esta investigación, con el fin de conocer el comportamiento de la tinción con azul de metileno al 0.5%, en el diagnóstico de la metaplasia intestinal del esófago o esófago de Barrett.

Material y métodos

Se realizó un estudio analítico para la validación de una prueba diagnóstica, el cual estuvo constituido por 60 pacientes mayores de 18 años de edad, de uno u otro sexo que acudieron al Departamento de Endoscopia Digestiva del Instituto de Gastroenterología con indicación de endoscopia digestiva superior por diferentes motivos clínicos, en el periodo comprendido de diciembre del 2006 a diciembre del 2008, y que aceptaran participar en el estudio.

La muestra quedó integrada por 60 pacientes que fueron distribuidos en dos grupos, según los resultados del estudio histológico (estándar de oro) de la mucosa esofágica: 39 sujetos sin esófago de Barrett y 21 pacientes con esófago de Barrett.

Previo al estudio endoscópico, se procedió a realizar la aprobación por el Consejo Científico de la institución, sin conflicto de intereses y el consentimiento informado por escrito del paciente para la realización de la investigación.

Todos los pacientes incluidos en el estudio cumplieron los siguientes criterios:

Criterios de inclusión: Pacientes mayores de 18 años, de uno u otro sexo, que acudieron al Departamento de Endoscopia del Instituto de Gastroenterología con indicación de endoscopia digestiva superior. Pacientes con voluntariedad y conformidad para la realización del estudio.

Criterios de exclusión: Pacientes menores de 18 años, enfermos operados de esófago, sujetos con antecedentes de alergia al azul de metileno, individuos que no desearan participar en el estudio. Pacientes que reciban tratamiento anti-secretor seis meses antes del estudio endoscópico o que recibieron tratamiento erradicador de la infección por *H. pylori* seis meses antes del estudio.

Consideraciones éticas: El estudio cumple con los principios éticos de la Declaración de Helsinki. Los pacientes incluidos participaron voluntariamente y se les solicitó su consentimiento por escrito, después de haberle explicado las características del estudio, sus objetivos, beneficios y riesgos posibles, y de haberle informado acerca de su derecho a participar o no, así como el de retirar su consentimiento en cualquier momento, sin exponerse a limitaciones para su atención u otro tipo de represalias.

El lenguaje que se utilizó durante la entrevista no fue técnico, sino práctico y comprensible. Obtuvimos el consentimiento del paciente después de asegurarnos que entendió toda la información ofrecida.

Se respetó la integración de los pacientes dentro de la investigación, asegurando la confidencialidad de toda información personal recogida en el desarrollo de ésta.

Se aplicaron las normas y procedimientos éticos establecidos para la realización de los procedimientos endoscópicos.

Procedimiento: A todos los pacientes se les realizó endoscopia digestiva superior, utilizando un equipo GIF Olympus EVIS 240 de visión frontal. Una vez explorado el tracto digestivo superior y realizado el diagnóstico endoscópico, se examinó detalladamente la mucosa esofágica, para valorar la existencia o no de esófago de Barrett, aplicando la siguiente clasificación endoscópica:¹⁸ a) aspecto de la unión escamoso-columnar desplazada y b) aspecto del segmento esofágico tapizado por mucosa columnar.

Una vez realizado el diagnóstico endoscópico del esófago se procedió a realizar la tinción cromoendoscópica, utilizando un catéter tipo spray (Olympus PW 5L-I) instalándose 10 mL de azul de metileno al 0.5% como tinción vital en el tercio distal del esófago y, posteriormente, 50 mL de solución salina normal para retirar el exceso de colorante.⁶⁷ Se tomaron biopsias de las zonas que captaron el colorante (tinción positiva) y en los pacientes donde no hubo captación del contraste (tinción negativa), se tomaron biopsias en los cuatro cuadrantes a un centímetro por encima del cambio de epitelio escamocolumnar, estableciéndose los siguientes criterios:

Tinción positiva: Mucosa que adquiere coloración azulada al ponerse en contacto con el colorante.

Tinción negativa: La mucosa conserva su color al ponerse en contacto con el colorante.

Variables evaluadas en la investigación: Las variables predictoras para metaplasia intestinal del esófago que se midieron en nuestro estudio fue-

ron edad y sexo, los que se relacionaron con los resultados del diagnóstico histológico (estándar de oro), de la presencia o no de metaplasia intestinal del esófago.

Se determinó el grado de concordancia o reproducibilidad entre el diagnóstico cromoendoscópico y el diagnóstico histológico de la mucosa esofágica.

Análisis estadístico: Se diseñó una base de datos sobre soporte electromagnético donde la información disponible se procesó de forma automatizada utilizando una microcomputadora. Se realizaron pruebas de Chi cuadrada para diferentes proporciones, se estimó sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN), proporción de falsos positivos, proporción de falsos negativos y exactitud diagnóstica. Los resultados se presentaron en gráficas y tablas.

Resultados

13

La *figura 1* muestra la distribución por edades de acuerdo al grupo estudiado. Se observa que en el grupo de sujetos sin esófago de Barrett la mayor proporción se encontró entre los 40 a 49 años de edad y 60 a 69 años de edad (33.3% y 23.1%), respectivamente. En el grupo de casos con esófago de Barrett predominaron en los pacientes con edades entre 40 y 49 años de edad (33.3%). La edad media para ambos grupos (47 años); no existieron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, $p = 0.65031798$.

La distribución por sexo fue la siguiente: de los 39 sujetos sin esófago de Barrett 22 (56.4%) correspondieron al sexo femenino y 17 (43.6%) al masculino; y de los 21 pacientes con esófago de Barrett, 10 (47.6%) fueron mujeres y 11 (52.4%) hombres. No existió diferencia estadísticamente significativa en cuanto al sexo y la presencia o no de esófago de Barrett, $p = 0.42$, OR (0.7 – 2.66).

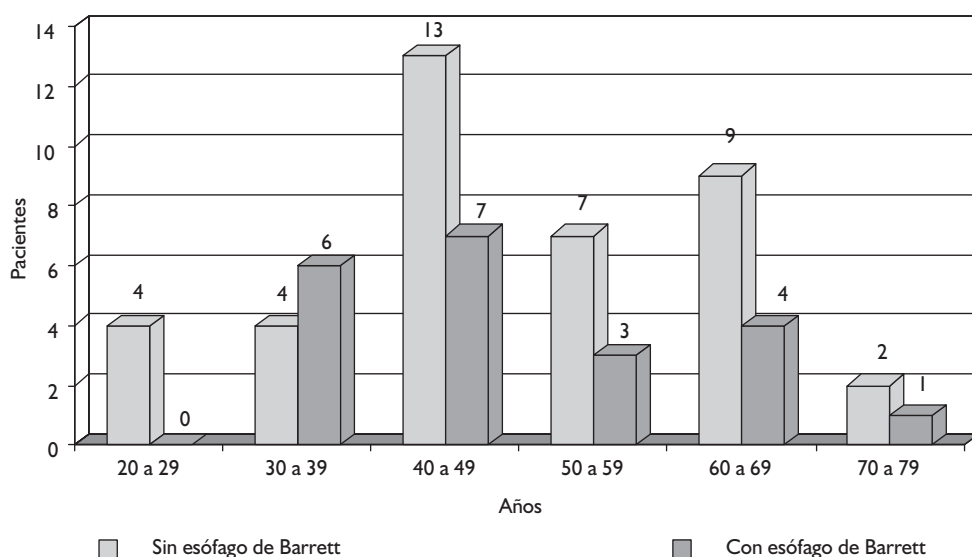


Figura 1. Distribución por grupo de edad de los pacientes estudiados con o sin esófago de Barrett confirmado mediante estudio histológico.

De 30 pacientes con diagnóstico endoscópico de esófago de Barrett, en 21 (70.0%), se confirmó el diagnóstico de metaplasia intestinal mediante estudio histológico; de los nueve restantes, en siete casos el diagnóstico histológico fue metaplasia gástrica y en dos esofagitis crónica. En los 30 sujetos con tinción y endoscopia negativa de esófago de Barrett, el estudio histológico también resultó negativo. El *cuadro 1* muestra la correlación entre el diagnóstico endoscópico y cromoendoscópico de esófago de Barrett y el estudio histológico.

De acuerdo a estos resultados, la sensibilidad de la cromoendoscopia con azul de metileno al 0.5% para la identificación del esófago de Barrett, en los pacientes estudiados fue de 100.0% IC95% (84,5%-100,0%) y la especificidad de 76.9%, IC95% (61,7%-87,4%). El valor predictivo, la proporción de falsos positivos y de falsos negativos, así como la exactitud diagnóstica se presentan en el *cuadro 1*.

Discusión

El esófago de Barrett es una condición premaligna, en la cual el epitelio escamoso que normal-

mente recubre al esófago distal es reemplazado por metaplasia intestinal especializada, la cual predispone a los pacientes a desarrollar adenocarcinoma.

Los aspectos en que existe mayor controversia actual en relación con el esófago de Barrett incluyen su diagnóstico y detección endoscópica, el escrutinio y la vigilancia, así como el manejo de la displasia.

Vakil y colaboradores presentaron un consenso global sobre enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE) en el cual participaron 43 expertos de 18 países. Ellos proponen el término sospecha endoscópica de metaplasia esofágica para describir los hallazgos endoscópicos sugestivos de esófago de Barrett, en espera de ser confirmados por histología.¹⁹

Un grupo internacional de expertos con interés especial en esófago de Barrett presentó los criterios de un consenso basado en evidencias sobre el diagnóstico endoscópico del esófago de Barrett, los cuales fueron empleados para evaluar la capacidad de los médicos endoscopistas en aplicar con exactitud estos criterios y así definir la extensión endoscópica del esófago de Barrett. Estos criterios han sido llamados «Criterios de

Cuadro I. Relación entre la tinción cromoendoscópica y el estudio histológico.

Tinción con azul de metileno 0.5%	Diagnóstico histológico					
	Sin esófago de Barrett		Con esófago de Barrett		Total	
	n	%	n	%	n	%
Captación positiva	9	30.0	21	70.0	30	100.0
Captación negativa	30	100.0	—	0.0	30	100.0
IC95%						
Sensibilidad		100.0 %	84.5	a	100.0 %	
Especificidad		76.9 %	61.7	a	87.4 %	
Valor predictivo positivo		70.0 %	52.1	a	83.3 %	
Valor predictivo negativo		100.0 %	88.6	a	100.0 %	
Proporción de falsos positivos		3.1 %	12.6	a	38.3 %	
Proporción de falsos negativos		0.0 %	0.0	a	15.5 %	
Exactitud diagnóstica		85.0 %	73.9	a	91.9 %	

Praga» y reportan la extensión máxima y circunferencial del esófago de Barrett sospechado por endoscopia. El estudio muestra que existe un excelente grado de certeza en la detección de segmentos de Barrett mayor de 1 cm, así como un alto grado de concordancia entre los observadores. Estos criterios representan un avance útil en la evaluación endoscópica del esófago de Barrett, tanto en la práctica clínica como en el campo de la investigación.^{20,21}

Los pacientes con enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE) tienen una mayor probabilidad de presentar esófago de Barrett, cuanto menor es la edad de inicio de la sintomatología, mayor es la duración de la sintomatología y existen episodios de reflujo nocturno más graves. Además, la prevalencia de esófago de Barrett es mayor en los varones y su incidencia aumenta con la edad.²²

El promedio de edad para el diagnóstico del esófago de Barrett varía entre 55 y 63 años. Se ha reportado un incremento en la prevalencia del esófago de Barrett con la edad, alcanzando el máximo a los 60 años. Por lo tanto, cuando un paciente de esa edad es detectado con esófago de Barrett, con o sin presencia de adenocarcinoma, el epitelio de Barrett probablemente ha esta-

do presente por más de 20 años y, por razones que aún no son claras, los hombres tienen más riesgo para desarrollar adenocarcinoma de esófago.^{23,24}

La edad promedio de nuestros pacientes fue de 47 años, no existiendo diferencias para el análisis estadístico en los grupos de estudio. El promedio de edad de diagnóstico ha sido informado en la literatura como de 55 años. En 1982, Segura, Duarte y Patiño publican y discuten ocho casos con diagnóstico de esófago de Barrett, todos del sexo masculino y con edad promedio de diagnóstico de 58 años; en nuestra serie no existieron diferencias estadísticas significativas en cuanto al sexo, siendo ligeramente más frecuente en el masculino.

Las técnicas de cromoendoscopia se han postulado como alternativa para disminuir los errores diagnósticos. Irene Canto, en un estudio realizado en 26 pacientes con histología de esófago de Barrett, mostró que con la tinción de azul de metileno la sensibilidad es de 95% y la especificidad de 97%, con valores predictivos positivo y negativo de 98 y 92%, respectivamente. Por el contrario, en otro estudio, que incluyó una muestra de 105 pacientes enrolados al azar, mostró

que la sensibilidad fue de 55% y la especificidad de 63.6%, con valores predictivos positivo y negativo del 23 y 87%, respectivamente.²⁵ Esto parecería desvirtuar el valor de esta técnica en el contexto del trabajo cotidiano de una unidad de endoscopia, por el alto número de falsos positivos, e incluso de falsos negativos, con datos en la literatura que demuestran que hay focos de metaplasia aun en la mucosa de aspecto normal.

En un estudio prospectivo cruzado llevado a cabo en 975 pacientes que comparaba cromoendoscopia (azul de metileno) con endoscopia convencional (biopsia aleatorizada de cuatro cuadrantes), la cromoendoscopia fue superior en la detección del esófago de Barrett (3.5 versus 1.6%; $p < 0.001$). El número de biopsias necesarias fue mucho mayor con la técnica convencional que con el azul de metileno (3,900 versus 130).¹²

Numerosos estudios publicados sobre el uso de la cromoscopia con azul de metileno para la detección del epitelio columnar especializado muestran resultados variables. Siete estudios reportaron alta sensibilidad (91-98%) y especificidad variable (43-97%); sin embargo, en cuatro estudios se reportaron resultados insatisfactorios (sensibilidad 53-72%; especificidad 32-51%), pero las muestras eran pequeñas.

Las diferencias en los estudios dependen de la técnica de tinción, la interpretación del patrón mucoso y de la experiencia del endoscopista con las coloraciones vitales. Para mejorar la técnica, el endoscopista debe de utilizar la endoscopia de magnificación, conjuntamente con la tinción, lo cual permitirá desarrollar y conocer la caracterización del patrón de la mucosa esofágica, incrementando la especificidad para la detección del esófago de Barrett de 91 a 100%.²⁶⁻²⁸

Conclusiones

En una entidad con implicaciones pronósticas tan sombrías, la amplia variabilidad en cuanto al diag-

nóstico endoscópico y el histológico deben llevar a una revisión por consenso de nuestro quehacer, para imponer una terminología unificadora. Toda esta discusión adquiere una importancia enorme al revisar la supervivencia a cinco años de pacientes con adenocarcinoma surgido en esófago de Barrett, aun detectado por técnicas de seguimiento que muestran tasas no superiores a 24%. La cromoendoscopia con azul de metileno al 0.5% en nuestro trabajo de investigación presentó una alta exactitud diagnóstica en la detección endoscópica del esófago de Barrett, constituyendo un método útil, seguro y sin complicaciones para el diagnóstico y seguimiento de esta entidad considerada como premaligna en el desarrollo de adenocarcinoma en esófago distal.

Referencias

1. Sampliner RE. Practice guidelines on the diagnosis, surveillance, and therapy of Barrett's esophagus. The Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 1028-1032.
2. Bell NVJ, Hunt RH. Role of gastric acid suppression in the treatment of gastroesophageal reflux disease. *Gut* 1992; 33: 118-124.
3. Csendes A, Braghetto I, Burdiles P, Puente G, Korn O, Diaz JC et al. Long-term results of classic antireflux surgery in 152 patients with Barrett's esophagus: Clinical, radiologic, endoscopic, manometric and acid reflux test analysis before and late after operation. *Surgery* 1998; 123: 645-657.
4. Csendes A, Braghetto I, Burdiles P, Diaz JC, Maluenda F, Korn O. A new physiologic approach for the surgical treatment of patients with Barrett's esophagus. Technical considerations and results in 65 patients. *Ann Surg* 1997; 226: 123-133.
5. Sampliner RE, Garewal HS, Fenerty MB, Aickin M. Lack of impact of therapy on extent of Barrett's esophagus in 67 patients. *Dig Dis Sci* 1990; 35: 93-96.
6. Berenson MM, Johnson TD, Markowitz NR, Buchi KN, Samowitz WS. Restoration of squamous mucosa after ablation of Barrett's esophageal epithelium. *Gastroenterology* 1993; 104: 1686-1691.
7. Mathew G, Watson DI, Myers JC, Holloway RH, Jamieson GG. Oesophageal motility before and after laparoscopic Nissen fundoplication. *Br J Surg* 1997; 84: 1465-1469.
8. Spechler SJ, Goyal RK. The columnar-lined esophagus, intestinal metaplasia, and Norman Barrett. *Gastroenterology* 1996; 110: 614-621.
9. Bremner CG, Lynch VP, Ellis FH. Barrett's esophagus: Congenital or acquired? An experimental study of esophageal mucosal regeneration in the dog. *Surgery* 1970; 68: 209-216.
10. Paull A, Trier JS, Dalton MD, Camp RC, Loeb P, Goyal RK. The histologic spectrum of Barrett's esophagus. *N Engl J Med* 1976; 295: 476-480.

11. Devesa SS, Blot WJ, Fraumeni JF. Changing patterns in the incidence of esophageal and gastric carcinoma in the United States. *Cancer* 1998; 83: 2049-2053.
12. Canto MI, Setrakian S, Willis JE, Chak A, Petras RE, Sivak MV. Methylene blue staining of dysplastic and nondysplastic Barrett's esophagus: An *in vivo* and *ex vivo* study. *Endoscopy* 2001; 33: 391-400.
13. Canto MI, Yoshida T, Gossner L. Chromoscopy of intestinal metaplasia in Barrett's esophagus. *Endoscopy* 2002; 34: 330-6.
14. Sharma P, Topalovski M, Mayo MS, Weston AP. Methylene blue chromoendoscopy for detection of short-segment Barrett's esophagus. *Gastrointest Endosc* 2001; 54: 289-293.
15. Wo JM, Ray MB, Mayfield-Stokes S, Al-Sabbagh G, Gebrail F, Sloane SP et al. Comparison of methylene blue-directed biopsies and conventional biopsies in the detection of intestinal metaplasia and dysplasia in Barrett's esophagus: A preliminary study. *Gastrointest Endosc* 2001; 54: 294-301.
16. Dave U, Shouisa S, Westay D. Methylene blue staining: Is it really useful in Barrett's esophagus? *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 333-335.
17. Kiesslich R, Hahn M, Herrmann G, Jung M. Screening for specialized columnar epithelium with methylene blue: Chromoendoscopy in patients with Barrett's esophagus and a normal control group. *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 47-52.
18. Tytgat GNT, Hameeteman W, Onstenk R, Schorborg R. The spectrum of columnar-lined esophagus: Barrett's esophagus. *Endoscopy* 1989; 21: 177-185.
19. Vakil N, VanZanten S, Dent J, Kahrilas P, Jones R. The definition of GERD a global evidence-based consensus. *Gastroenterology* 2006; 130: A-394 [#M2010].
20. Sharma P, Armstrong D, Berman J. The development and validation of an endoscopic grading system for Barrett's esophagus. The Prague C and M criteria. *Gastroenterology* 2006; 130: A 121 [#820].
21. Leodolter A, Oberueber P, Zielinski D, Vieth M, Stolte M, Labenz J. Prospective evaluation of the new Prague classification for Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2006; 130: A-265 (#S1828).
22. Sampliner RE. Adenocarcinoma of the esophagus and gastric cardia: Is there progress in the face of increasing cancer incidence? *Ann Intern Med* 1999; 130: 67-69.
23. Sampliner RE, Steinbronn K, Garewal HS. Squamous mucosa overlying columnar epithelium in Barrett's esophagus in the absence of anti-reflux surgery. *Am J Gastroenterol* 1988; 83: 510-512.
24. Sjogren RW, Johnson LF. Barrett's esophagus: A review. *Am J Med* 1983; 74: 313-321.
25. Canto MI, Setrakian S, Willis J, Chak A, Petras R, Powe NR et al. Methylene blue-directed biopsies improve detection of intestinal metaplasia and dysplasia in Barrett's esophagus. *Gastrointest Endosc* 2000; 51: 560-568.
26. Kouklakis GS, Kountouras J, Dokas SM. Methylene blue chromoendoscopy for the detection of Barrett's esophagus in a Greek cohort. *Endoscopy* 2003; 35: 383-387.
27. Endo T, Awakawa T, Takahashi H. Classification of Barrett's epithelium by magnifying endoscopy. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 641-647.
28. Yagi K, Nakamura A, Sekine A. Accuracy of magnifying endoscopy with methylene blue in the diagnosis of specialized intestinal metaplasia and short-segment Barrett's esophagus in Japanese patients without *Helicobacter pylori* infection. *Gastrointest Endosc* 2003; 58: 189-195.