Original article

Validation of rapid *Helicobacter pylori* Stool Antigen Test in Thai patients with dyspepsia

Ravin Sony

Department of Medicine, Lampang Hospital

Importance *Helicobacter pylori* (Hp) eradication therapy is recommended in *H.pylori* associated dyspepsia and has been shown to improve dyspeptic symptoms in a subset of patients. The non-invasive *H. pylori* Stool Antigen Test (HpSAT) for diagnosis of Hp infection provides a method of Hp detection which is simpler, faster, and less expensive than other currently available methods.

Objective To evaluate the accuracy of the non-invasive rapid HpSAT for the diagnosis of Hp infection compared with the rapid urease test (RUT) and histological examination in Thai patients with dyspepsia.

Methods This prospective study was conducted with patients age 18-55 years at the Outpatient Clinic of Lampang Hospital, Lampang, from January 2016 to October 2016. Patients with alarming dyspepsia symptoms (defined as unexplained weight loss, anorexia, early satiety, vomiting, progressive dysphagia, bleeding, anemia, jaundice, abdominal mass, lymphadenopathy, family history of upper gastrointestinal tract cancer, history of peptic ulcer, previous gastric surgery and malignancy) and those who had received acid-suppressive drugs or antibiotics within 2-4 weeks prior to recruitment were excluded. Stool samples from patients who presented with dyspepsia were collected in the morning of the day they were scheduled for esophagogastroduodenoscopy (EGD). Samples were sent to the laboratory for detection of Hp using the rapid HpSAT. Gastric biopsy samples were also taken from two sites, the antrum and the corpus, for RUT and histological examination. Patients were considered Hp positive if one of the two invasive tests, either RUT or histology, was positive.

Results Among the 171 patients enrolled in the study, diagnostic indices of HpSAT were: sensitivity 65.3% (95% CI, 53.4-76.0%), specificity 100% (95% CI, 96.2- 100%), positive predictive value 100% (95% CI, 92.7-100%), negative predictive value 78.7% (95% CI, 70.4-85.6%), and accuracy 83.9% (95% CI, 78.5-89.8%).

Conclusions A positive HpSAT result is accurate for the diagnosis of Hp infection in patients with dyspepsia with no alarming symptoms. In cases where HpSAT is negative, further investigation should be done to determine the cause of the dyspepsia. **Chiang Mai Medical Journal 2017;56(2):63-8.**

Keywords: dyspepsia, *Helicobacter pylori*, Stool *H. pylori* Antigen Test (HpSAT), Rapid Urease Test, histology, esophagogastroduodenoscopy

Address correspondence to: Ravin Sony, M.D., Department of Internal Medicine, Lampang Hospital 52000 Thailand. E-mail:ravin.sony@gmail.com

Received: March 2, 2017, **Accepted:** June 26, 2017.

Background

Helicobacter pylori (Hp) infection is one of the most common causes of dyspepsia (1). Eradication therapy for Hp has been shown to improve symptoms. A test-and-treat strategy has been shown to be cost-effective in Asian populations (2-8). The diagnosis of *H. pylori* infection can be made either by invasive or non-invasive methods. Non-invasive methods include the urea breath test (UBT) which is costly, serology testing which does not distinguish active infections from past infections, and the rapid stool test, the *H. pylori* antigen test (HpSAT), which is simple, fast and inexpensive.

At Lampang Hospital, dyspepsia is one of the most common out-patient consultations. A previous study by the authors found that the prevalence of *H. pylori* infection in patients with non-ulcer dyspepsia was about 50% (9-10). At that hospital, the waiting time for esophagogastroduodenoscopy (EGD) for patients with dyspepsia is about 3 months.

The objective of this study was to compare the accuracy of HpSAT for diagnosis of *H. pylori* infection with the standard invasive tests (EGD, RUT, and biopsy) in dyspeptic patients. If the diagnostic accuracy of the test can be confirmed, dyspepsia patients with positive HpSAT results could be spared unnecessary, time-consuming, unpleasant and expensive invasive EDG tests.

Methods

Patients

The study was performed with dyspeptic patients age 18-55 seen at Lampang Hospital between January 2016 and October 2016. Exclusion criteria were alarming dyspepsia symptoms (11-12) and intake of acid-suppressive PPI, bismuth or other antibiotics within the preceding 2-4 weeks (13).

The study protocol and the consent form were approved by the Ethics Committee of Lampang Hospital. The patients or their relatives signed an informed consent form prior to participation.

Methods

The research was designed as a prospective diagnostic accuracy study. Stool samples from 171 patients with dyspepsia were collected in the morning on the day they were scheduled for EGD and were sent to the laboratory for detection of *H. pylori* using the rapid Hp Stool Antigen Test (SD Standard Diagnostics Inc., Korea) performed in accordance with the manufacturer's recommendations. The time required for this procedure is about 15 minutes per patient. Gastric biopsy samples were also taken from two sites, the antrum and the corpus, (14-15) for rapid urease testing (RUT) and histology. The specimens were fixed in formalin and stained with hematoxylin and eosin. If the results of the RUT and histology tests were inconclusive, the specimens were analyzed for the presence of Hp by an experienced pathologist using the Warthin-Starry method (16-17). The gold standard for the presence of *H. pylori* infection was defined as a positive result from one or both of the invasive tests (histology and RUT). The endoscopy-based tests and HpSAT were carried out by other laboratory staff following double blind procedures.

Sample size estimation and statistical analysis

Calculation of the sample size was based on a pilot study conducted in January 2016, in which the sensitivity of HpSAT was determined to be 65%. Therefore, based on the null hypothesis of no information, one-sided test, 5% alpha error and 80% power, at least 67 *H. pylori* infected cases would be needed. As the prevalence of *H. pylori* infection was 42.5%, 158 patients were needed for this study. Stata/IC 13.1 was used for statistical analysis.

Data are presented as number, percentage and mean ± standard deviation. Diagnostic performance of the tests (sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and accuracy) is presented as percentages.

Results

From January 2016 to October 2016, 234 dyspeptic patients were recruited. Of those, sixty-three patients were excluded because of alarming symptoms (N=36) and prior ingestion of antibiotic, bismuth or PPI (N=27). The remaining dyspeptic patients eligible to participate in the study (N=171) included 47 males and 124 females with a mean age of 42.57 ±9.52 years. Demographic characteristics are shown in Table 1. The most common endoscopic findings in the dyspeptic patients were gastritis (83.6%), normal (9.9%), and duodenitis (8.7%) (Table 2).

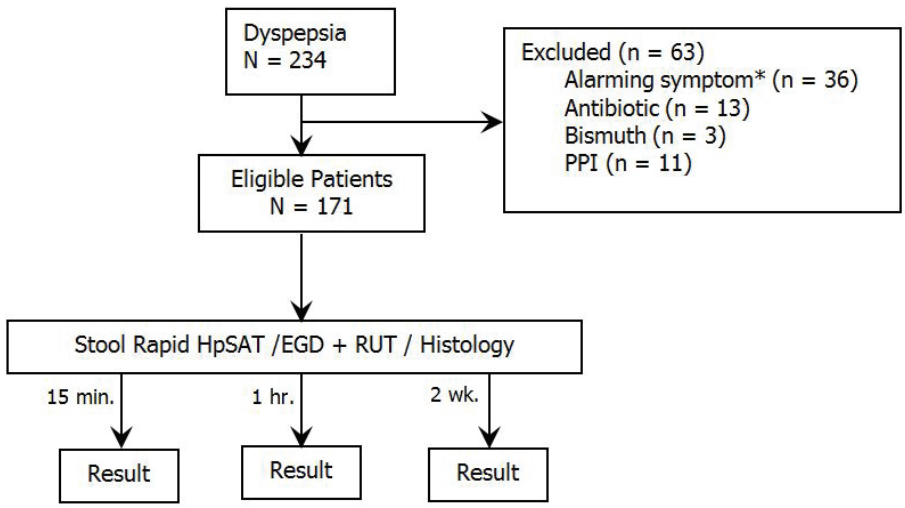


Figure 1. Study flow
*Alarming features include unexplained weight loss, anorexia, early satiety, vomiting, progressive dysphagia, bleeding, anemia, jaundice, abdominal mass, lymphadenopathy, family history of upper gastrointestinal tract cancer, history of peptic ulcer, previous gastric surgery and malignancy.
Abbreviations: HpSAT; *H. pyroli* stool antigen test, EGD; esophagogastroscopy, RUT; rapid urease test

Table 1. Demographic characteristics of the 171 patients with dyspepsia

Variable	Number (%) N=171
Gender	
Male	47 (27.5)
Female	124 (72.5)
Age (mean ± SD)	42.57±9.52
Risk factors	
Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)	15 (8.8)
Alcohol drinking	17 (9.9)
Smoking	8 (4.7)
Raw food consumption	24 (14.0)
Family history of stomach cancer	0 (0)
Comorbidity	19 (11.1)

H. pylori was diagnosed in 75 patients (43.8%) by RUT/histology, 49 (65.3%) of whom had positive HpSAT. Diagnostic indices of HpSAT showed a sensitivity of 65.3% (95% CI, 53.4-76.0%), a specificity of 100% (95% CI, 96.2-100%), a positive predictive value (PPV) of 100% (95% CI, 92.7-100%), a negative predictive value (NPV) of 78.7% (95% CI, 70.4-85.6%), and an accuracy of 84.8% (95% CI, 78.5-89.8%) (Table 3).

Table 2. Endoscopic findings of 171 patients with dyspepsia

Endoscopic finding	Number (%) N=171
Gastritis	143 (83.6)
Normal	17 (9.9)
Duodenitis	15 (8.8)
Esophageal lesion	12 (7.0)
Duodenal ulcer	5 (2.9)
Gastric ulcer	2 (1.2)
Gastric polyps	1 (0.6)
Malignancy	0 (0)

Discussion

Our study results indicate very high specificity (100%) and PPV (100%) with HpSAT. This suggests that eradication treatment for *H. pylori* should be offered to patients with positive HpSAT. However, negative HpSAT is not sufficient to exclude *H. pylori* infection, so other diagnostic methods such as UBT or EGD should be considered in those cases. As previous studies have reported variations in HpSAT test results in countries other than Thailand, additional systematic validation as well as multicenter trials of the test are recom-

Table 3. Two by two contingency table showing true positive, false positive, true negative, false negative comparing HpSAT with the gold standard

HpSAT	RUT+ and/or Histology+	RUT- and Histology-	Total
Positive	49	0	49
Negative	26	96	122
Total	75	96	171

mended (18-21). Such variations could be due to the use of HpSAT from different manufacturers, to unreliable reporting by patients regarding discontinuation of antibiotics or bismuth as well as to substandard laboratory performance not in accordance with the manufacturer's instructions. In addition, tests on unformed or watery stools, differences in stool temperature and variations in the time interval between stool sample collection and stool analysis may also affect the results.

Testing for *H. pylori* using HpSAT should be conducted first rather than immediately recommending endoscopy for dyspepsia patients without alarming symptoms. Such an approach would not only help reduce the workload in the endoscopic unit but would also reduce costs. The non-invasive HpSAT test can be used in children and pregnant women (22-24). The time taken to perform an HpSAT is only about 15 minutes, and the test can be conducted by any medical personnel. HpSAT can be utilized at any hospital, clinic, or public health office, reducing the need for referral for dyspepsia consultation. If symptoms in patients with positive HpSAT do not improve after the eradication of *H. pylori*, further investigation can then be undertaken to look for other causes of the dyspepsia.

In this study, no malignancy or premalignant lesions were detected endoscopically or histopathologically in our study population.

Conclusions and Relevance: *H. pylori* eradication therapy should be offered to patients with a positive *H. pylori* Stool Antigen Test.

Potential conflicts of interest

The author has no conflict of interest to report.

Acknowledgements

The author wishes to thank all the members of the Endoscopic Unit and the Department of Pathology of Lampang Hospital.

References

1. Buckley M, O'Morain C. Prevalence of *Helicobacter pylori* in non-ulcer dyspepsia. Aliment Pharmacol Ther. 1995;9:53-8.
2. Moayyedi P, Deeks J, Talley NJ, Delaney B, Forman D. An update of the Cochrane systematic review of Helicobacter pylori eradication therapy in nonulcer dyspepsia: resolving the discrepancy between systematic reviews. Am J Gastroenterol. 2003;98:2621-6.
3. Mazzoleni LE, Sander GB, Francesconi CF, Mazzoleni F, Uchoa DM, De Bona LR, et al. *Helicobacter pylori* eradication in functional dyspepsia. HEROES Trial. Arch Intern Med. 2011; 171:1929-36.
4. Moayyedi P. *Helicobacter pylori* eradication for functional dyspepsia. Arch Intern Med. 2011;171: 1936-8.
5. Jin X, Li YM. Systematic review and meta-analysis from Chinese literature: the association between Helicobacter pylori eradication and improvement of functional dyspepsia. Helicobacter. 2007;12: 541-6.
6. Moayyedi P, Soo S, Deeks J, Forman D, Mason J, Innes M, et al. Systematic review and economical evaluation of *Helicobacter pylori* eradication treatment for non-ulcer dyspepsia. BMJ. 2000;321:659-64.
7. Mahadeva S, Chia YC, Vinothini A, Mohazmi M, Goh KL. Cost-effectiveness of and satisfaction with a Helicobacter pylori "test and treat" strategy compared with prompt endoscopy in young Asians with dyspepsia. Gut. 2008;57:1214-20.
8. Mahachai V, Vilachone RK, Pittayanon R, Rojborwonwitaya J, Leelakusolvong S, Kositchaiwat C, et al. Thailand Consensus on *Helicobacter pylori*

Treatment 2015. Asian Pac J Cancer Prev. 2016; 17:2351-60.
9. Sony R. Prevalence of *H. pylori* in patients who underwent gastroduodenal endoscopy in Lampang regional hospital for dyspepsia and upper GI bleeding. Lampang M J 1996;17183-9.
10. Pankongngam C. *Helicobacter Pylori* Infection and Etiology of Dyspepsia in Lampang Hospital. Lampang Medical Journal. 2001;22:94-102.
11. Talley NJ, Vakil N. Practice Parameters Committee of American College of Gastroenterology. Guidelnes for the management of dyspepsia. Am J Gastroenterol. 2005;100:2324-37
12. The Gastroenterological Association of Thailand. Guideline for the Management of Dyspepsia and *Helicobacter pylori* 2010. [in Thai]. Bangkok: Krungtep Wechasarn Publishers; 2010.
13. Calvet X. Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection in Proton Pump Inhibitor Era. Gastroenterol Clin North Am. 2015;44:507-18.
14. Uotani T, Graham DY. Diagnosis of *Helicobacter pylori* using the rapid urease test. Annals of Translational Medicine. 2015;3:9. doi:10.3978/j.issn.2305-5839.2014.12.04.
15. Cohen H, Laine L. Endoscopic methods for the diagnosis of *Helicobacter pylori*. Aliment Pharmacol Ther. 1997;11 Suppl 1:3–9.
16. Cha MS. Comparative analysis of histochemical stains about detection of *H. pylori* in gastric mucosa. Korean J Clin Lab Sci. 2007;39:223-30.
17. El-Zimaity HM, Segura AM, Genta RM, Graham DY. Histologic assessment of *Helicobacter pylori* status after therapy: comparison of Giemsa, Diff-Quik, and Genta stains. Mod Pathol. 1998;11: 288-91.
18. Metz DC. Stool testing for *Helicobacter pylori* infection: yet another noninvasive alternative. Am J Gastroenterol. 2000;95:546-8.
19. Li Y-H, Guo H, Zhang P-B, Zhao X-Y, Da S-P. Clinical value of *Helicobacter pylori* Stool Antigen Test,ImmunoCard STAT HpSA, for detecting *H pylori* infection. W J Gastroenterol 2004;10:913-4. doi:10.3748/wjg.v10.i6.913.
20. Shimoyama T. Stool antigen tests for the management of *Helicobacter pylori* infection. World J Gastroenterol 2013;19:8188-91. doi: 10.3748/wjg.v19.i45.8188.
21. Sharbatdaran M, Kashifard M, Shefaee S, Siadati S, Jahed B, Asgari S. Comparison of stool antigen test with gastric biopsy for the detection of Helicobacter Pylori infection. Pak J Med Sci 2013;29:68-71. doi: http://dx.doi.org/10.12669/pjms.291.2865
22. Leal YA, Cedillo-Rivera R, Simón JA, Velázquez JR, Flores LL, Torres J. Utility of stool sample-based tests for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children. J Pediatr Gastroenterol-Nutr. 2011;52:718-28.
23. Mégraud F. Comparison of non-invasive tests to detect *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents: results of a multicenter European study. J Pediatr. 2005;146:198-203.
24. Guven MA, Ertas IE, Coskun A, Ciragil P. Serologic and stool antigen assay of *Helicobacter pylori* infection in hyperemesis gravidarum: which test is useful during early pregnancy? Taiwan J Obstet and Gynecol. 2011;50:37-41.

การตรวจสอบการวินิจฉัยการติดเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ไพโลไร โดยระบิดแฮลิโคแบคเตอร์ไพโลไรสตูลแอนติเจนเทสต์ ในผู้ป่วยดิสเปบเซีย

ราวิน โซนี่
กลุ่มงานอายุรกรรม โรงพยาบาลลำปาง

ความสำคัญ การติดเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลไร (*H. pylori*) เป็นสาเหตุที่สำคัญสาเหตุหนึ่งของอาการอาหารไม่ย่อย (dyspepsia) โดยการรักษาการติดเชื้อนี้จะทำให้ผู้ป่วยกลุ่มหนึ่งมีอาการดีขึ้นดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการตรวจวินิจฉัยแบบไม่รุกรานที่ง่าย, รวดเร็วและราคาไม่แพงเพื่อวินิจฉัยการติดเชื้อในภาวะนี้ เช่น การตรวจสารก่อภูมิต้านทานของเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลไรในอุจจาระของผู้ป่วย (HpSAT)

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาความแม่น (accuracy) ของการวินิจฉัยการติดเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลไรด้วยวิธีการตรวจสารก่อภูมิต้านทานของเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลไรในอุจจาระของผู้ป่วยในผู้ป่วยที่มีอาการอาหารไม่ย่อย เปรียบเทียบกับการตรวจปฏิกิริยาเคมีของเอนไซม์ urease และ/หรือการตรวจทางพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อจากกระเพาะอาหาร

วิธีการวิจัย เป็นการศึกษาแบบไปข้างหน้าในผู้ป่วยอายุระหว่าง 18-55 ปี ที่มีอาการอาหารไม่ย่อยและมารับการรักษาที่คลินิกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลศูนย์ลำปาง ตั้งแต่เดือนมกราคม 2559 – ตุลาคม 2559 แต่ไม่รวมผู้ป่วยที่มีอาการเตือนของโรคที่อันตราย หรือได้รับยาลดกรดหรือยาปฏิชีวนะภายในเวลา 2-4 สัปดาห์ โดยผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษาจะได้รับการส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้นและตัดชิ้นเนื้อจากทั้งกระเพาะส่วนปลายและส่วนคอร์ปัส เพื่อตรวจหาการติดเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ไพโลไรด้วยวิธีการตรวจปฏิกิริยาเคมีของเอนไซม์ urease และการตรวจทางพยาธิวิทยาและจะเก็บอุจจาระ เพื่อตรวจ HpSAT ในตอนเช้าของวันส่องกล้องด้วย โดยจะถือว่าผู้ป่วยมีการติดเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลไรถ้าตรวจพบการติดเชื้อด้วยวิธีการตรวจปฏิกิริยาเคมีของเอนไซม์ urease และ/หรือการตรวจทางพยาธิวิทยา

ผลการวิจัย มีผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษาทั้งหมด 171 ราย พบว่าการตรวจ HpSAT มีความไวในการวินิจฉัยการติดเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลไร (sensitivity) ร้อยละ 65.3 (ช่วงความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 53.4-76.0) ความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 100 (ช่วงความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 96.2-100) ค่าการประเมินผลเป็นบวก (positive predictive value) ร้อยละ 100 (ช่วงความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 92.7-100) และค่าการประเมินผลเป็นลบ (negative predictive values) ร้อยละ 78.7 (ช่วงความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 92.7-100) โดยมีความแม่นร้อยละ 83.9 (ช่วงความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เท่ากับร้อยละ 78.5-89.8)

สรุปผลการวิจัย การตรวจ HpSAT สามารถใช้ในการตรวจหาการติดเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลไรในผู้ป่วยที่มีอาการอาหารไม่ย่อยได้ดีเนื่องจากมีความจำเพาะสูง และมีราคาประหยัดกว่าการตรวจด้วยวิธีที่ใช้การส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารโดยถ้าผลการตรวจเป็นลบจึงควรตรวจด้วยวิธีที่ใช้การส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารต่อไป **เชียงใหม่เวชสาร 2560;56(2):63-68.**

คำสำคัญ: อาการอาหารไม่ย่อย เฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลไร การตรวจสารก่อภูมิต้านทานของเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลไรในอุจจาระของผู้ป่วย วิธีการตรวจปฏิกิริยาเคมีของเอนไซม์ urease การตรวจทางพยาธิวิทยา การส่องกล้องตรวจทางเดินอาหารส่วนต้น