



Nachweis von Autoantikörpern gegen Strukturproteine der Haut

Übersicht serologischer Testsysteme



- Weltweit umfangreichstes Produktportfolio zur Unterstützung der serologischen Diagnostik blasenbildender Autoimmundermatosen
- Detektion aller relevanten Autoantikörper bei Pemphigus- und Pemphigoid-Erkrankungen sowie bei der Epidermolysis bullosa acquisita und Dermatitis herpetiformis Duhring mittels ELISA und IIFT
- Effektive Such- und Differenzierungstests in nur einer Inkubation mit den hochsensitiven BIOCHIP-Mosaiken
- Vielfältige Automatisierungsoptionen

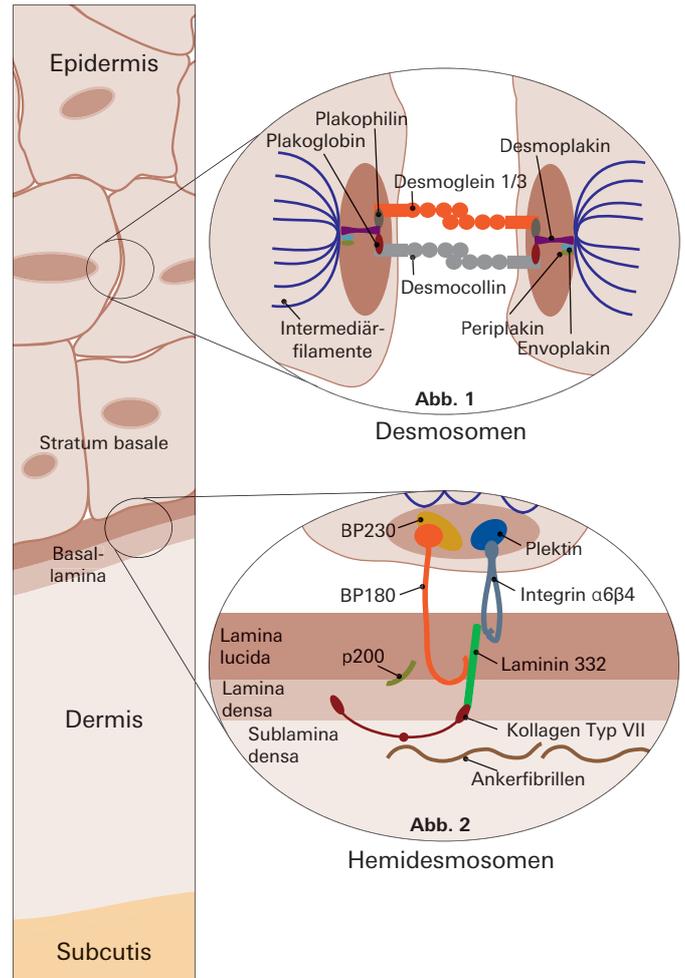
Die menschliche Haut

Die Haut grenzt das Innere des Menschen von der Außenwelt ab und schützt es vor schädlichen Einflüssen. Sie besteht aus drei Schichten: Epidermis (Oberhaut), Dermis (Lederhaut) und Subkutis (Unterhaut). Die Basallamina verbindet die unterste Schicht der Epidermis (Basalschicht, Stratum basale) mit der obersten Bindegewebsschicht der Dermis (Sublamina densa, Stratum papillare). Sie besteht aus der Lamina lucida und der Lamina densa.

Die Stabilität des Zellverbundes in der Epidermis ist essentiell für die Schutzwirkung der Haut. Verschiedene Zellkontakte vermitteln die stabile Verbindung zwischen den Zellen untereinander und mit der Basallamina.

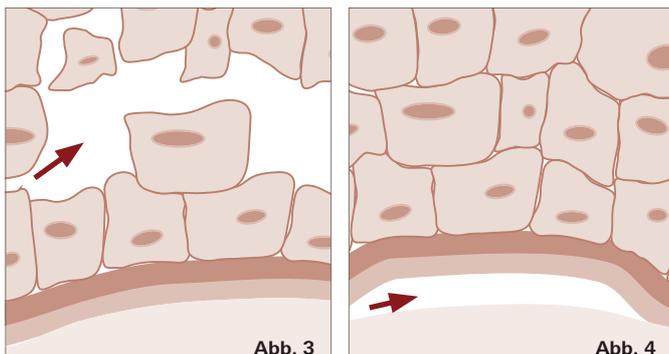
Desmosomen (Abb. 1) dienen dem stabilen Kontakt zwischen den epidermalen Zellen (Keratinocyten) in der Stachelzellschicht (Stratum spinosum). Sie verknüpfen die Zytoskelette benachbarter Zellen miteinander und bestehen aus den Transmembranproteinen Desmoglein 1/3 und Desmocollin sowie intrazellulären Plaque-Proteinen (Plakine).

Sogenannte Hemidesmosomen (Abb. 2) verankern die Zellen der epidermalen Basalschicht mit der darunterliegenden Basallamina. Über die zytoplasmatischen Proteine BP230 und Plektin sowie die Transmembranproteine BP180 und Integrin $\alpha 6\beta 4$ verknüpfen sie das Zytoskelett mit den Kollagenfibrillen der Basallamina. Laminin 332 (Laminin 5) fungiert dabei als Bindeglied zwischen BP180/Integrin $\alpha 6\beta 4$ und Kollagen Typ VII. Durch die Interaktion des Kollagens mit den Ankerfibrillen der Sublamina densa wird die Epidermis in der Bindegewebsschicht verankert.



Bullöse Autoimmundermatosen

Bullöse Dermatosen sind seltene blasenbildende Erkrankungen der äußeren Haut und angrenzender Schleimhäute. Es handelt sich um Autoimmunerkrankungen, bei denen das Immunsystem Antikörper gegen strukturelle Bestandteile der Desmosomen und Hemidesmosomen bildet. Die Immunreaktion führt zur Auflösung des Zellverbandes oder Ablösung der Hautschichten, wodurch Blasen innerhalb der Epidermis (Abb. 3) oder zwischen der Epidermis und der Dermis entstehen (Abb. 4).

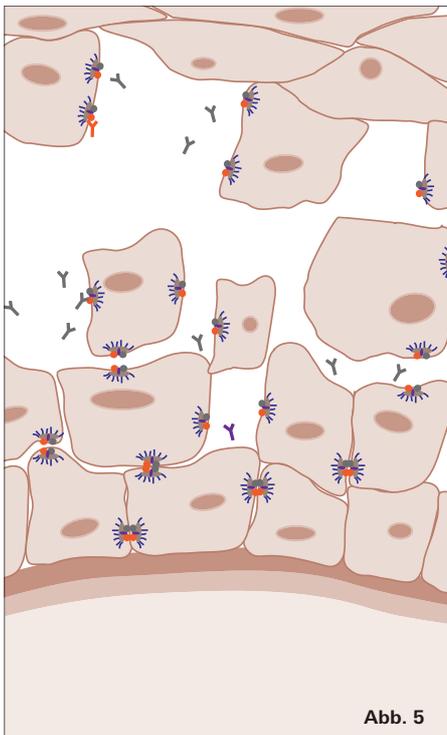


Klassifikation der bullösen Autoimmundermatosen

- Pemphigus-Erkrankungen
 - Pemphigus vulgaris
 - Pemphigus foliaceus
 - Paraneoplastischer Pemphigus
 - weitere: IgA Pemphigus, P. vegetans, P. herpetiformis, P. erythematous, Medikamenten-induzierter Pemphigus
- Pemphigoid-Erkrankungen
 - Bullöses Pemphigoid
 - Pemphigoid gestationis
 - Schleimhautpemphigoid
 - Lineare IgA-Dermatose
 - Anti-p200-Pemphigoid
- Epidermolysis bullosa acquisita
- Dermatitis herpetiformis Duhring

Pemphigus-Erkrankungen

Pemphigus-Erkrankungen umfassen mehrere blasenbildende Autoimmunerkrankungen, die sich durch eine intraepitheliale Auflösung der Zellverbände in der Stachelzellschicht der Epidermis (Akantholyse) der äußeren Haut und der Schleimhäute auszeichnen (Abb. 5). Die Akantholyse wird durch Autoantikörper verursacht, die gegen die Desmosomen zwischen den Keratinozyten gerichtet sind und diese beschädigen. Sowohl in der direkten als auch der indirekten Immunfluoreszenz ergibt sich aus der Lokalisation der Immunkomplexe ein interzelluläres, wabenartiges Fluoreszenzmuster auf Gewebeproben der Haut und Ösophagus-Gewebeschnitten. Zielantigene innerhalb der Desmosomen sind insbesondere Desmoglein (Dsg) 1 und 3, aber auch Plakine und Desmocollin (Dsc). Dsg1 wird besonders stark an der Oberfläche der Epidermis exprimiert, während Dsg3 überwiegend in tieferen Schichten der Epidermis und in den Schleimhäuten lokalisiert ist. Über die Verteilung des Dsg1 und 3 lassen sich die unterschiedlichen Ausprägungen verschiedener Formen des Pemphigus erklären.



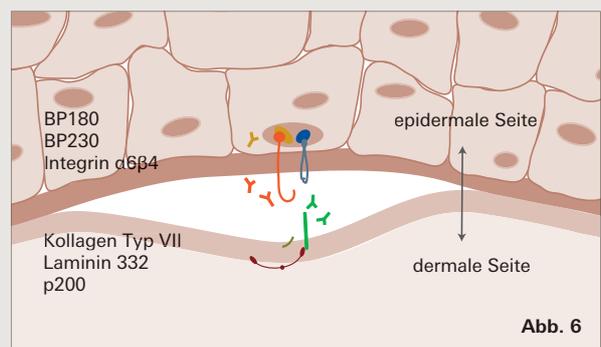
| Pemphigus-Erkrankung | Charakteristika | Zielantigen |
|---|---|---|
| Pemphigus vulgaris (PV) | PV: Suprabasale Blasenbildung der äußeren Haut und der Schleimhäute | Dsg1 und Dsg3 |
| | Mukosaler PV: Suprabasale Blasenbildung vor allem der Schleimhäute | Dsg3 |
| Pemphigus foliaceus (PF) | Blasenbildung der oberflächlichen Epidermis-Schichten der äußeren Haut; die Schleimhäute sind nicht betroffen | Dsg1 |
| Paraneoplastischer Pemphigus (PNP) | Vorliegen eines Tumors (häufig eine hämatologische Neoplasie) zusätzlich zur Hauterkrankung; ausgeprägte Stomatitis | Plakine (Envoplakin, Periplakin, Desmoplakin), Dsg3, Dsg1, Plektin, BP230, α -2-macroglobulin-like-1 |

Pemphigoid-Erkrankungen

Pemphigoid-Erkrankungen sind eine heterogene Gruppe von Autoimmunerkrankungen mit subepidermaler Blasenbildung. Die Autoantikörper richten sich gegen Bestandteile der Hemidesmosomen und Strukturfilamente, sie verursachen eine charakteristische Ablösung der Epidermis von der darunterliegenden Dermis. In der direkten Immunfluoreszenz auf einer Gewebeprobe der Haut lassen sich entlang der Basalmembran die gewebegebundenen Antikörper (Immunkomplexe) nachweisen. Indirekte Immunfluoreszenz zur Spezifizierung der Autoantikörper-Identität wird oft auf Ösophagus-Gewebeschnitten und mit Salzlösung separierter Spalthaut (Abb. 6) durchgeführt: Auf der epidermalen Seite der Spalthaut befinden sich die für Pemphigoid-Erkrankungen relevanten Zielantigene BP180 und BP230. Die Antigene Kollagen Typ VII, Laminin 332 und p200 hingegen verbleiben nach der Spaltung der Haut auf der dermalen Seite.

Salzlösung-separierte Spalthaut

Hautproben (Primat) werden mit 1 M NaCl inkubiert. Das Salz löst die dermale-epidermale Verankerung der Hautschichten innerhalb der Basallamina. Indirekte Immunfluoreszenz auf der Spalthaut leistet einen wichtigen Beitrag zur Spezifizierung der Zielantigene, basierend auf ihrer Lokalisation auf der epidermalen oder dermalen Seite der Spalthaut.



| Pemphigoid-Erkrankung | Charakteristika | Zielantigen (Autoantikörper) |
|-------------------------------------|--|--|
| Bullöses Pemphigoid (BP) | Subepidermale Blasenbildung der äußeren Haut, selten der Schleimhäute; tritt häufiger bei älteren Menschen auf | BP180, BP230 (IgG, bindet an die epidermale Seite der Spalthaut) |
| Pemphigoid gestationis (PG) | Gilt als Ausprägung des BP bei schwangeren Frauen | BP180, BP230 (IgG, bindet an die epidermale Seite der Spalthaut) |
| Schleimhautpemphigoid (SHP) | Subepidermale Blasenbildung vor allem der oralen und okulären Schleimhäute | BP180, selten: Integrin $\alpha 6\beta 4$ (IgG, IgA, binden an die epidermale Seite der Spalthaut), Laminin 332 (IgG, bindet an die dermale Seite der Spalthaut) |
| Lineare IgA-Dermatose (LAD) | Bildung juckender subepidermaler Blasen der äußeren Haut; häufigste bullöse Autoimmundermatose bei Kindern | Ektodomäne des BP180 (LAD-1) (IgA, bindet an die epidermale Seite der Spalthaut) |
| Anti-p200-Pemphigoid (p200P) | BP-ähnliche subepidermale Blasenbildung der äußeren Haut | p200 (IgG, bindet an die dermale Seite der Spalthaut) |

Epidermolysis bullosa acquisita

Epidermolysis bullosa acquisita (EBA) ist eine schwere blasenbildende Autoimmundermatose, die sowohl die Körperhaut als auch Schleimhäute betrifft. Es wird zwischen einer nicht-entzündlichen und einer entzündlichen Form unterschieden. Letztere ähnelt in ihrer klinischen Ausprägung dem BP, SHP oder der LAD. Zielantigen der EBA-charakteristischen Autoantikörper ist das Kollagen Typ VII.

| Erkrankung | Charakteristika | Zielantigen (Autoantikörper) |
|--|---|---|
| Epidermolysis bullosa acquisita (EBA) | Subepidermale Blasenbildung der äußeren Haut und der Schleimhäute | Kollagen Typ VII (IgG, bindet an die dermale Seite der Spalthaut) |

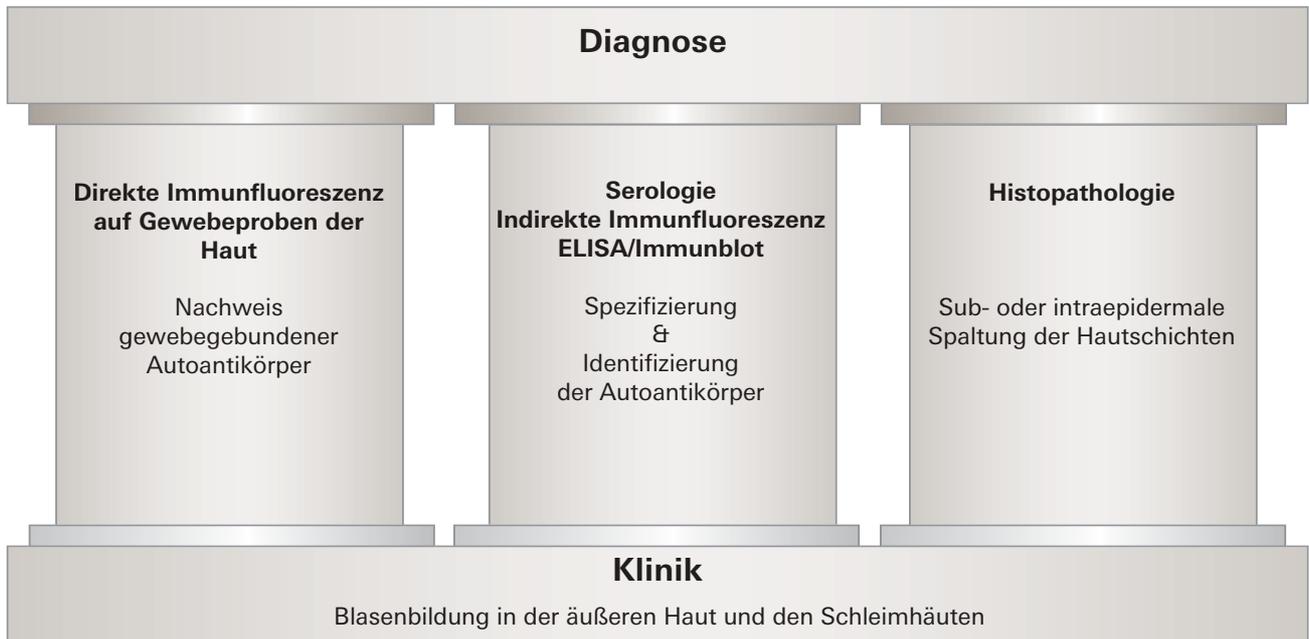
Dermatitis herpetiformis Duhring

Dermatitis herpetiformis Duhring (DHD) nimmt eine gesonderte Stellung unter den bullösen Autoimmundermatosen ein. Die Blasenbildung findet ähnlich wie bei den Pemphigoid-Erkrankungen und EBA subepidermal statt. Häufig sind die Streckseiten der Extremitäten, aber auch die Schultern, das Gesäß oder der Beckengürtel betroffen. Die Schleimhäute zeigen in der Regel keine Blasenbildung. DHD gilt jedoch als kutane Manifestation der Zöliakie (Gluten-Unverträglichkeit) und ist, wie diese, durch Antikörper gegen Endomysium (EmA, IgA), das körpereigene Enzym (Gewebs-/epidermale) Transglutaminase (Anti-tTG/-eTG, IgA) und/oder desamidiertes Gliadin (IgA/IgG) gekennzeichnet.

| Erkrankung | Charakteristika | Zielantigen |
|---|---|--|
| Dermatitis herpetiformis Duhring (DHD) | Subepidermale Blasenbildung; assoziiert mit einer Gluten-Unverträglichkeit; Besserung der Symptome bei Gluten-freier Diät | desamidierte Gliadinpeptide, (Gewebs-/epidermale) Transglutaminase, Endomysium |

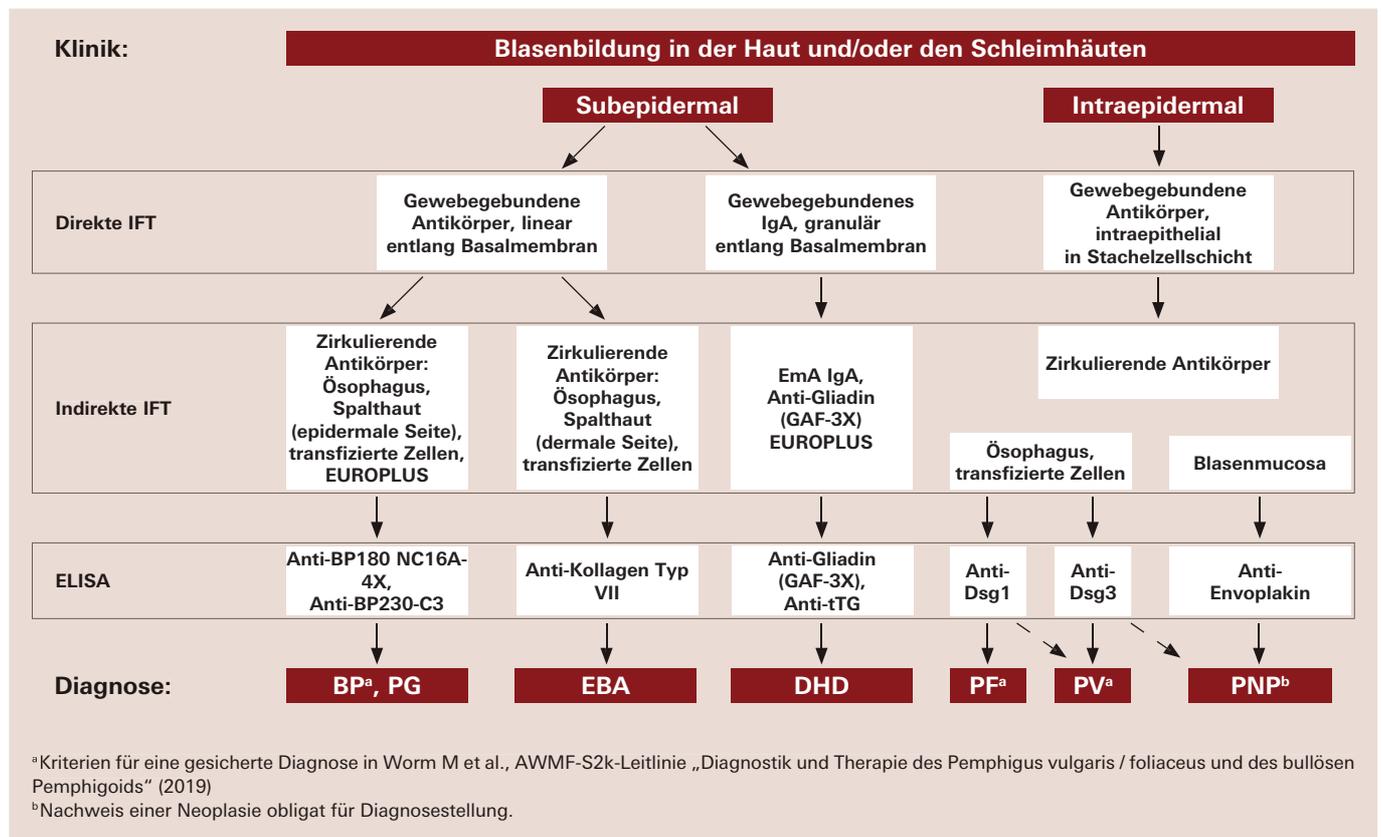
Die drei Säulen der Labordiagnostik bei bullösen Autoimmundermatosen

Die aktuellen Leitlinien empfehlen bei klinischer Verdachtsdiagnose einer bullösen Autoimmundermatose die Kombination drei labordiagnostischer Maßnahmen zur Bestätigung und Differenzierung der Diagnose.¹⁻⁵



Worm M et al., AWMF-S2k-Leitlinie „Diagnostik und Therapie des Pemphigus vulgaris / foliaceus und des bullösen Pemphigoids“ (2019)

Diagnostik bullöser Autoimmundermatosen mit den EUROIMMUN-Dermatologie-Testsystemen

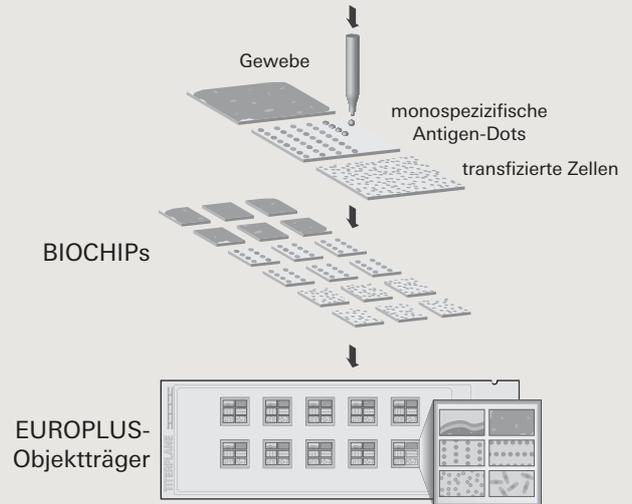


Schema nach Otten JV et al., Molecular Diagnosis in Autoimmune Skin Blistering Conditions, Current Molecular Medicine 14: 69-95 (2014)

Indirekte Immunfluoreszenz mit der EUROPLUS-/BIOCHIP-Technologie

Im EUROPLUS-System werden die EUROIMMUN BIOCHIP-Mosaik (Kombinationen aus Gewebeschnitten, Zellkultursubstraten und transfizierten Zelllinien innerhalb einzelner Reaktionsfelder) um weitere BIOCHIPS ergänzt, die mit spezifischen Einzel-Antigenen beschichtet sind.

Die nativen oder rekombinant hergestellten Antigene werden in Form von Tropfen oder Rauten auf die Deckgläser aufgetragen. Bei einer positiven Reaktion ist eine deutliche Fluoreszenz der Substrate erkennbar. Die EUROPLUS-Substrate ermöglichen, wie auch die transfizierten Zellen, einen monospezifischen Antikörpernachweis, der parallel zum Antikörper-Screening auf Gewebe-/Zellsubstraten innerhalb der gleichen Inkubation erfolgt.



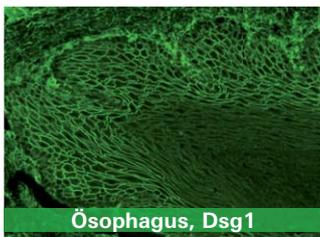
Indirekte Immunfluoreszenztests (IIFT) für die Dermatologie

EUROIMMUN bietet ein breites Spektrum unterschiedlicher IIFT-Substrate als BIOCHIP-/EUROPLUS-Mosaik zur Differenzierung der verschiedenen bullösen Autoimmundermatosen an: Gewebe, transfizierte Zellen und EUROPLUS-Substrate.

Eine Studie von van Beek et al. zum Dermatologie-Mosaik 7 bestätigt die hohe Sensitivität und Spezifität der Substrate: Von 42 BP-Seren reagierten 98,8% mit der Basalmembran der Gewebesubstrate (Ösophagus, Spalthaut), 100% mit dem EUROPLUS-Substrat BP180-NC16A-4X und 55% mit BP230 (globuläre C-terminale Domäne, gC)-transfizierten Zellen.⁶ Die Dsg1-transfizierten Zellen wiesen eine 90%ige Sensitivität für PF (n=50) auf, während 98,5% der PV-Seren (n=65) mit Dsg3-transfizierten Zellen reagierten. Die Spezifitäten der Substrate lagen zwischen 98,2% und 100%.

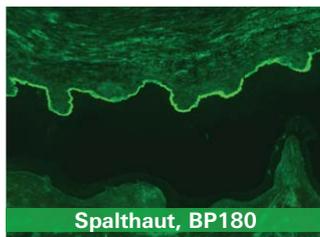
Goletz et al. belegten den hervorragenden diagnostischen Nutzen Laminin-332-transfizierter Zellen zum Nachweis des Laminin-332-Schleimhautpemphigoids.⁷ Die Sensitivität im BIOCHIP-Mosaik betrug 84% bei 99,5% Spezifität.

Seither weltweit durchgeführte Studien unabhängiger Labore zeigen die Dermatologie-Mosaik als effektive Such- und Differenzierungstests für die serologische Diagnostik bullöser Autoimmundermatosen.⁸⁻¹²



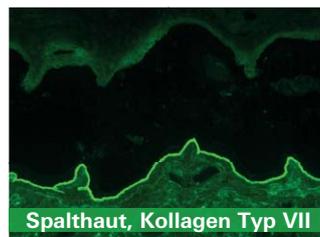
Ösophagus, Dsg1

Ösophagus: Nachweis von Antikörpern gegen **Stachelzelledesmosomen** (Pemphigus) und **Basallamina** (Pemphigoid).

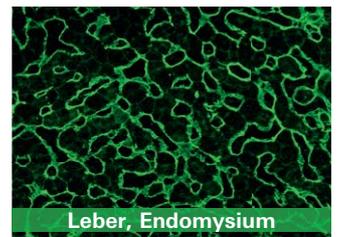


Spalthaut, BP180

Spalthaut: Differenzierung von Autoantikörpern gegen Antigene der epidermalen (**BP180**, **BP230**) und dermalen (**Kollagen Typ VII**, **Laminin 332**, **p200**) Seite der Haut.

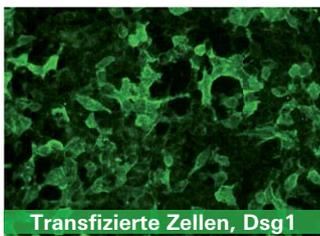


Spalthaut, Kollagen Typ VII



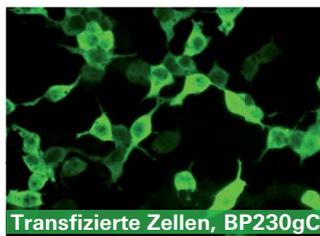
Leber, Endomysium

Endomysium: Nachweis von **EmA**, assoziiert mit Zöliakie und DHD.

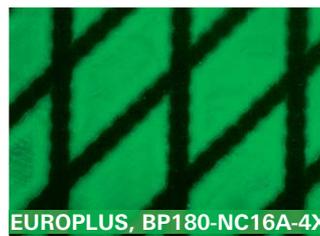


Transfizierte Zellen, Dsg1

Transfizierte Zellen: Monospezifischer Nachweis von Antikörpern gegen **Dsg1**, **Dsg3** (Pemphigus), **BP230gC**, **Laminin332** (Pemphigoid) und **Kollagen Typ VII** (EBA).

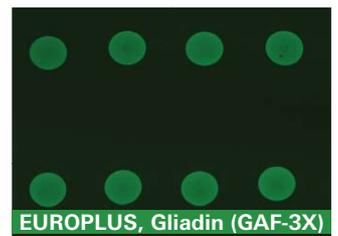


Transfizierte Zellen, BP230gC



EUROPLUS, BP180-NC16A-4X

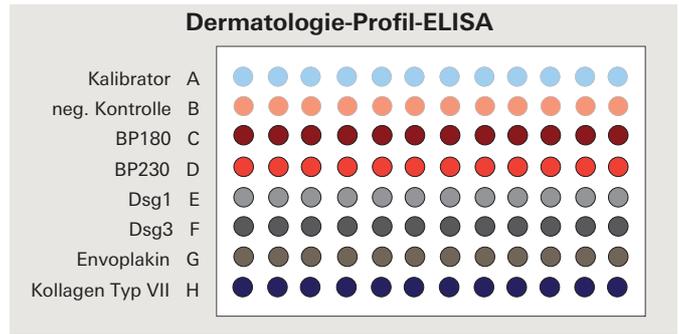
EUROPLUS-Substrate: Monospezifischer Nachweise von Antikörpern gegen **BP180-NC16A-4X** (Pemphigoid) und desamidiertes **Gliadin (GAF-3X)** (Zöliakie, DHD).



EUROPLUS, Gliadin (GAF-3X)

Enzyme-Linked-Immunsorbent-Assays (ELISA) für die Dermatologie

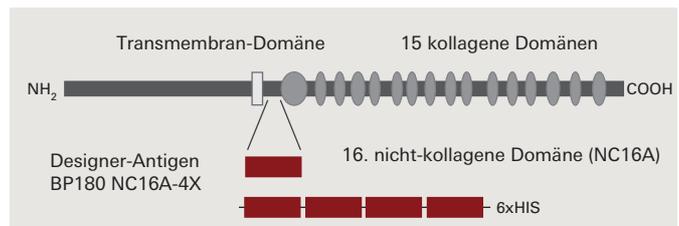
Da die jeweiligen Autoantikörper hochspezifisch für die mit ihnen assoziierten Autoimmundermatosen sind, unterstützt der monospezifische Antikörpernachweis mit den EUROIMMUN-ELISA die sichere Diagnose. Zusätzlich ist mit den Tests eine quantitative Bestimmung der Antikörpertiter möglich. Der neue Dermatologie-Profil-ELISA wurde als multiparametrischer Test entwickelt, um Patienten mit Verdacht auf eine bullöse Autoimmundermatose schnell und verlässlich auf verschiedene relevante Autoantikörper gleichzeitig zu testen. Der Profil-ELISA umfasst die Antigene BP180, BP230, Dsg1, Dsg3, Envoplakin und Kollagen Typ VII.



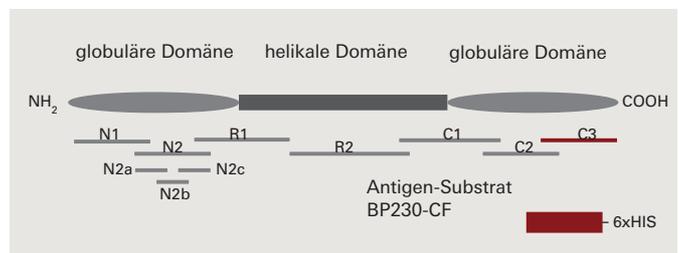
Der **Dermatologie-Profil-ELISA** ist ein praktischer und standardisierter Test zur Unterstützung der Routinediagnose bullöser Autoimmundermatosen. Dies wurde in einer internationalen Studie belegt, in der er im Vergleich zur direkten Immunfluoreszenzmikroskopie bei 94% der Pemphigus-Patienten und 71% der Pemphigoid-Patienten und im Vergleich zum konventionellen mehrstufigen Diagnoseverfahren bei 91% der Pemphigus-Patienten und 88% der Patienten mit bullösem Pemphigoid sowie bei 93% der Autoantikörper-negativen Seren konkordante Ergebnisse erzielte.¹³

Der Dermatologie-Profil-ELISA – Kombination sechs bedeutender Antigene

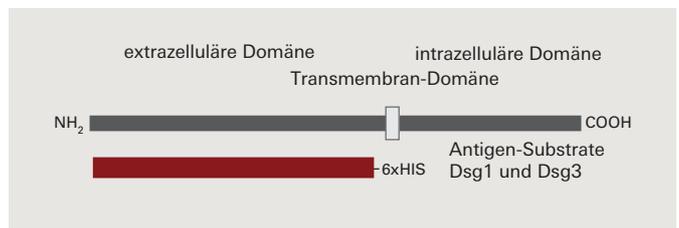
BP180-NC16A-4X: Das Antigen-Substrat ist ein Tetramer der immundominanten extrazellulären 16. nicht-kollagenen Domäne (NC16A) des Glykoproteins BP180. Autoantikörper gegen BP180 sind indikativ für das BP. Der monospezifische ELISA weist eine Sensitivität (118 BP-Seren, 20 PG-Seren) von 89,8% und Spezifität (229 Kontrollseren, 494 Blutspender) von 97,8%. Antikörpertiter korrelieren mit Krankheitsaktivität.¹⁴



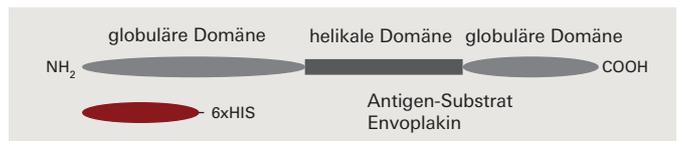
BP230-CF: Ein C-terminales Fragment von BP230 wird als Antigen-Substrat verwendet. Der Nachweis von Autoantikörpern gegen BP230 ergänzt die serologische Diagnostik des BP. Der monospezifische ELISA hat eine Sensitivität von 56,8% (118 BP-Seren) und eine Spezifität von 97,6% (276 Kontrollseren, 483 Blutspender). Die parallele Bestimmung von Anti-BP180- und Anti-BP230-Autoantikörpern erhöht den diagnostischen Wert für die Identifizierung von BP-Patienten um zusätzliche 4,2%.¹⁵



Dsg1 und Dsg3: Ektodomänen von Dsg1 und Dsg3 stellen die Antigen-Substrate für die Diagnostik von PF und PV dar. Der Anti-Dsg1-ELISA weist 96% Sensitivität für PF (50 PF-Seren) und 97,9% (48 BP-Seren)/99,3% (401 Blutspender) Spezifität auf. Der Anti-Dsg3-ELISA hat 100% Sensitivität für PV (71 PV-Seren) und 97,9% (48 BP-Seren)/99,8% (401 Blutspender) Spezifität. Die Antikörpertiter korrelieren mit Krankheitsaktivität des Pemphigus.¹⁶



Envoplakin: Als Antigen-Substrat wird der N-Terminus von Envoplakin verwendet, welcher die höchste Reaktivität bei PNP-Seren zeigt. Im monospezifischen ELISA zeigte sich eine Sensitivität (31 PNP-Seren) von 80,6% und eine Spezifität (30 PV-Seren, 50 BP-Seren) von 98,8%.¹⁷



Kollagen Typ VII: Antigen-Substrat ist die N-terminale nicht-kollagene Domäne NC1. Der monospezifische ELISA erreicht 94,5% Sensitivität (73 EBA-Seren) und 98,7% Spezifität (395 Kontrollseren, 254 Blutspender).¹⁸





Bestellung

| Indirekte Immunfluoreszenztests (IIFT) | | | |
|--|--|-------------|---|
| Bezeichnung | Erkrankung | Bestell-Nr. | Substrate |
| Epidermis (Stachelzell-Desmosomen, Basalmembran) | Bullöse Autoimmundermatosen (Bullöses Pemphigoid, Pemphigus-Erkrankungen, Paraneoplastischer Pemphigus, Epidermolysis bullosa acquisita) | FA 1501 | Ösophagus (Primat) |
| Dermatologie Mosaik 7 | | FA 1501-7 | Ösophagus (Primat), NaCl-separierte Spalthaut (Primat), transfizierte Zellen (BP230gC, Desmoglein 1, Desmoglein 3), EUROPLUS (BP180-NC16A-4X) |
| Dermatologie Mosaik 20 | | FA 1501-20 | Ösophagus (Primat), NaCl-separierte Spalthaut (Primat) |
| Laminin 332 | Laminin-332-Schleimhautpemphigoid | FA 150b-50 | Transfizierte Zellen, Kontrolltransfektion |

| ELISA | | | |
|---------------------|---------------------------------|------------------|--|
| Bezeichnung | Erkrankung | Bestell-Nr. | Rekombinante Antigene |
| BP180-NC16A-4X | Bullöses Pemphigoid | EA 1502-4801-2 G | Tetramer der immundominanten 16. nicht-kollagenen Domäne des BP180 |
| BP230-CF | Bullöses Pemphigoid | EA 1502-4801-1 G | C-terminales Fragment des BP230 |
| Desmoglein 1 | Pemphigus-Erkrankungen | EA 1495-4801 G | Extrazelluläre Domäne des Desmoglein 1 |
| Desmoglein 3 | Pemphigus-Erkrankungen | EA 1496-4801 G | Extrazelluläre Domäne des Desmoglein 3 |
| Envoplakin | Paraneoplastischer Pemphigus | EA 1491-4801 G | N-terminales Fragment des Envoplakin |
| Kollagen Typ VII | Epidermolysis bullosa acquisita | EA 1947-4801 G | NC1-Domäne von Kollagen Typ VII |
| Dermatologie-Profil | Bullöse Autoimmundermatosen | EA 1490-1208-1 G | BP180 NC16A-4X, BP230-CF, Desmoglein 1, Desmoglein 3, Envoplakin, Kollagen Typ VII |

Tests nur für Forschungszwecke*

| Bezeichnung | Testsystem | Bestell-Nr. | Substrate |
|--|------------|-----------------|---|
| Dermal Binder Mosaic 1** | IIFT | FA 150b-1005-1 | Transfizierte Zellen (Laminin 332, LAMB4, Kollagen Typ VII), Kontrolltransfektion |
| Anti-Laminin Subunit Beta 4 (LAMB4) IIFT** | | FA 150b-1005-51 | Transfizierte Zellen (LAMB4), Kontrolltransfektion |

* nicht zur In-vitro-Diagnostik

** Geschützt durch die Patentanmeldungen EP3655060, CN111072768, SG10201908826U und die Patente US11208465, JP7326108 und KR10-2637893

Referenzen

¹Worm M et al. **AWMF-S2k-Leitlinie „Diagnostik und Therapie des Pemphigus vulgaris / foliaceus und des bullösen Pemphigoids“**. (2019). ²Joly P et al. **Updated S2K guidelines on the management of pemphigus vulgaris and foliaceus initiated by the european academy of dermatology and venereology (EADV)**. J Eur Acad Dermatol Venereol 34(9):1900-1913 (2020). ³Rashid H et al. **European guidelines (S3) on diagnosis and management of mucous membrane pemphigoid, initiated by the European Academy of Dermatology and Venereology – Part I**. J Eur Acad Dermatol Venereol. 35(9):1750-1764 (2021). ⁴Schmidt E et al. **European Guidelines (S3) on diagnosis and management of mucous membrane pemphigoid, initiated by the European Academy of Dermatology and Venereology – Part II**. J Eur Acad Dermatol Venereol 35(10):1926-1948 (2021). ⁵Görög A et al. **S2k guidelines (consensus statement) for diagnosis and therapy of dermatitis herpetiformis initiated by the European Academy of Dermatology and Venereology (EADV)**. J Eur Acad Dermatol Venereol. 35(6):1251-1277 (2021). ⁶van Beek N et al. **Serological diagnosis of autoimmune bullous skin diseases: Prospective comparison of the BIOCHIP mosaic-based indirect immunofluorescence technique with the conventional multi-step single test strategy**. Orphan J Rare Dis 7:49 (2012). ⁷Goletz S et al. **A sensitive and specific assay for the serological diagnosis of antilaminin 332 mucous membrane pemphigoid**. Br J Dermatol. 180(1):149-156 (2019). ⁸Adaszewska A et al. **The use of BIOCHIP technique in diagnosis of different types of pemphigus: Vulgaris and foliaceus**. J Immunol Methods 468:35-39 (2019). ⁹Özkesici B et al. **The Value of the BIOCHIP Mosaic-based Indirect Immunofluorescence Technique in the Diagnosis of Pemphigus and Bullous Pemphigoid in Turkish Patients**. Acta Dermatovenerol Croat 25(3):202-209 (2017). ¹⁰Wang M et al. **BIOCHIP mosaic for the diagnosis of autoimmune bullous diseases in Chinese patients**. Eur J Dermatol 30(4):338-344 (2020). ¹¹Zarian H et al. **Biochip technology for the serological diagnosis of bullous pemphigoid**. ISRN Dermatol. 2012:237802 (2012) ¹²Adaszewska A et al. **The use of BIOCHIP mosaics in diagnostics of bullous pemphigoid: Evaluation and comparison to conventional multistep procedures**. J Cutan Pathol. 47(2):121-127 (2020). ¹³van Beek N et al. **Prospective studies on the routine use of a novel multivalent enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of autoimmune bullous diseases**. J Am Acad Dermatol 76(5):889-894 (2017). ¹⁴Sitaru C et al. **Enzyme-linked immunosorbent assay using multimers of the 16th non-collagenous domain of the BP180 antigen for sensitive and specific detection of pemphigoid autoantibodies**. Exp Dermatol 16:770-777 (2007). ¹⁵Blöcker IM et al. **Epitope mapping of BP230 leading to a novel enzyme-linked immunosorbent assay for autoantibodies in bullous pemphigoid**. Br J Dermatol 166:964-970 (2012). ¹⁶Schmidt E et al. **Novel ELISA systems for antibodies to desmoglein 1 and 3: correlation of disease activity with serum autoantibody levels in individual pemphigus patients**. Exp Dermatol 19:458-463 (2010). ¹⁷Probst C et al. **Development of ELISA for the specific determination of autoantibodies against envoplakin and periplakin in paraneoplastic pemphigus**. Clin Chim Acta 410:13-18 (2009). ¹⁸Komorowski L et al. **Sensitive and specific assays for routine serological diagnosis of epidermolysis bullosa acquisita**. J Am Acad Dermatol 68(3):e89-95 (2012)