



UNIVERSITÉ DE LILLE  
**FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG**

Année : 2023

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT  
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**Facteurs de risque d'infection sévère et statut immunitaire des  
enfants traités par Rituximab : une étude de cohorte rétrospective  
au CHU de Lille**

Présentée et soutenue publiquement le 1<sup>er</sup> Décembre 2023 à 18h  
au Pôle Formation  
par **Marie LATOUCHE**

---

**JURY**

**Président :**

**Monsieur le Professeur Francois DUBOS**

**Assesseurs :**

**Monsieur le Docteur Wadih ABOU CHAHLA**

**Madame le Docteur Charlotte SAMAILLE**

**Directeur de thèse :**

**Madame le Docteur Yasemin KARACA**

---

## **Avertissement**

La faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteur(e)s.

<b>I.</b>	<b>Introduction</b>	6
	a. Mécanisme d'action du Rituximab	6
	b. Indications du Rituximab en pédiatrie	8
	c. Effets du Rituximab sur l'immunité	10
	1. <i>Immunité humorale</i>	10
	2. <i>Immunité cellulaire</i>	12
	d. Infections post-Rituximab et facteurs de risque d'infections	12
	e. Objectifs de l'étude	14
<b>II.</b>	<b>Article</b>	15
	Abstract	16
	a. Introduction	17
	b. Methods	19
	1. <i>Study design and inclusion criteria</i>	19
	2. <i>Definition and outcomes</i>	19
	3. <i>Data collection</i>	20
	4. <i>Ethics</i>	21
	5. <i>Statistical analysis</i>	21
	c. Results	22
	1. <i>Patient baseline characteristics and treatments associated with Rituximab</i>	23
	2. <i>Bacterial infections before RTX</i>	27
	3. <i>Post-Rituximab infections</i>	28
	4. <i>Risk factors for post-RTX infections</i>	33
	5. <i>Evolution of lymphopenia and hypogammaglobulinemia after RTX treatment and comparison of immune data before and after treatment</i>	36
	6. <i>Association of lymphopenia and hypogammaglobulinemia with severe infection</i>	40
	7. <i>Ig supplementation</i>	42
	d. Discussion	43
	1. <i>Infections, incidence, and risk factors for infection</i>	43
	2. <i>Impact of RTX on immune status</i>	46
	3. <i>Strengths and limitations</i>	49
	e. Conclusion	51

<b>III. Discussion</b> .....	52
A. Infections et facteurs de risque d'infection post-Rituximab.....	52
1. <i>Type d'infection</i> .....	53
2. <i>Fréquence des infections</i> .....	54
3. <i>Facteurs de risque d'infection sévère sous RTX</i> .....	55
4. <i>Un nouveau facteur de risque : l'infection bactérienne dans les six mois avant RTX</i> .....	57
B. Evolution du taux d'immunoglobulines, hypogammaglobulinémie et supplémentation en Ig .....	60
1. <i>Hypogammaglobulinémie</i> .....	60
a. <i>Hypogammaglobulinémie IgM</i> .....	60
b. <i>Hypogammaglobulinémie IgA</i> .....	61
c. <i>Hypogammaglobulinémie IgG</i> .....	61
2. <i>Lien entre hypogammaglobulinémie et infection</i> .....	64
3. <i>Supplémentation en Ig</i> .....	65
4. <i>Hypogammaglobulinémie persistante : un reflet de la dysfonction immunitaire post-RTX</i> .....	67
C. Lymphopénie .....	69
1. <i>Lymphopénie B post-RTX</i> .....	69
a. <i>Durée de la déplétion B</i> .....	69
b. <i>Lien entre déplétion B et infection</i> .....	70
2. <i>Lymphopénie T post-RTX</i> .....	71
D. Forces et limites .....	72
1. <i>Forces</i> .....	72
2. <i>Limites</i> .....	73
E. Perspectives .....	74
<b>IV. Conclusion</b> .....	75
<i>References</i> .....	76
<i>Annexe 1 : Risk factors for multiple severe post-rituximab infection</i> .....	88
<i>Annexe 2 : Fiche de recueil de données</i> .....	89

## Liste des abréviations

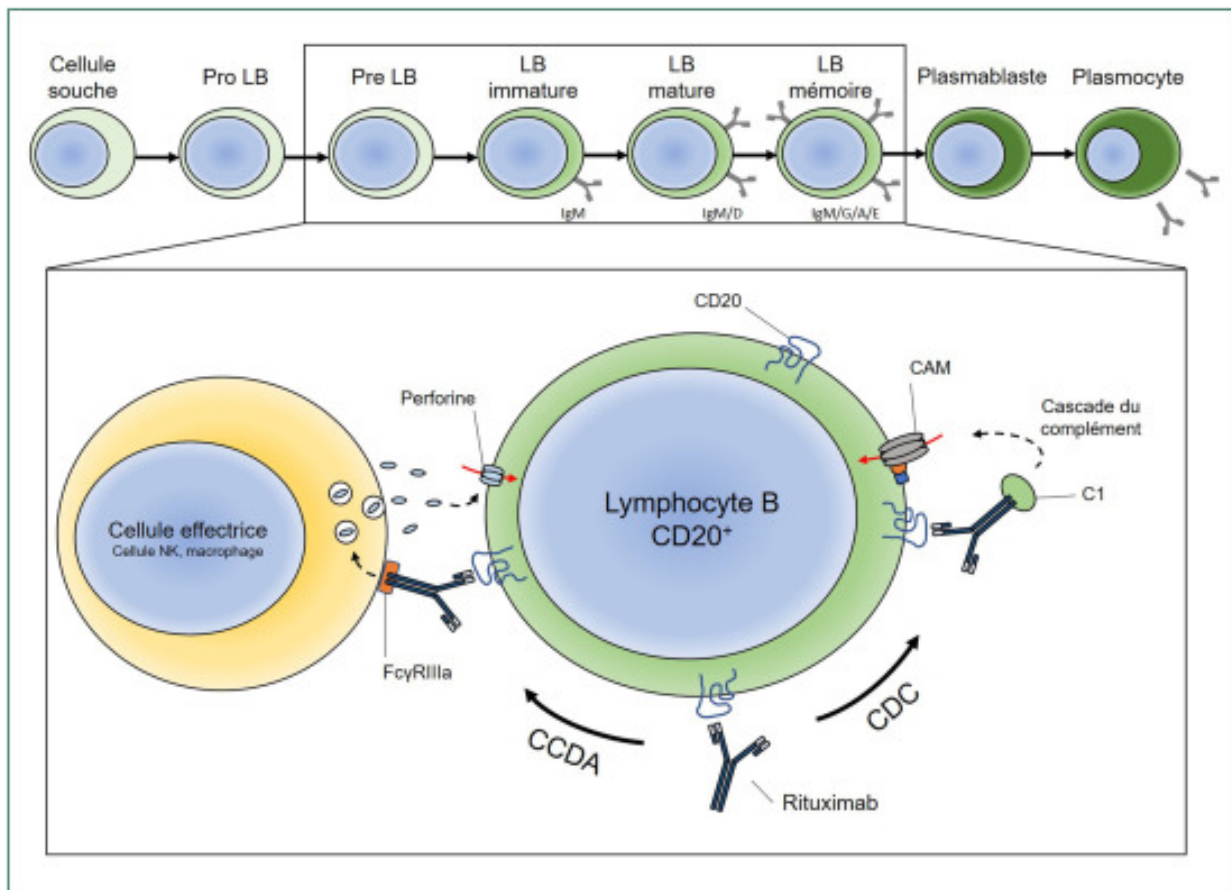
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
CMV	Cytomégalovirus
CCDA	Cytotoxicité cellulaire anticorps-dépendante
CDC	Cytotoxicité dépendante du complément
CMV	Cytomégalovirus
EBV	Epstein Barr virus
ENT	ORL
GCSH	Greffe de cellules souches hématopoïétiques
HAS	Haute Autorité de Santé
Ig	Immunoglobuline
IgA	Immunoglobuline A
IgM	Immunoglobuline M
IgG	Immunoglobuline G
Ly	Lymphocyte
LyT	Lymphocyte T
LyB	Lymphocyte B
LyCD4	Lymphocyte CD4+
LyCD8	Lymphocyte CD8+
LyCD19	Lymphocyte CD4+
LyNK	Lymphocyte natural killer
MMF	Mycophénolate Mofétil
RTX	Rituximab

## I. Introduction

Le Rituximab (RTX) est un anticorps monoclonal anti-CD20 développé dans les années 1980. C'est aujourd'hui l'immunothérapie la plus utilisée en pédiatrie (1).

### a. Mécanisme d'action du Rituximab

Le RTX est un anticorps monoclonal IgG1-kappa glycosylé chimérique humain/murin déplétant (2). Il est dirigé spécifiquement contre les lymphocytes B (LyB) qui expriment l'antigène de surface transmembranaire CD20 régulant le cycle cellulaire et la différenciation des LyB. Le récepteur CD20 est exprimé par les précurseurs B de la moelle osseuse à partir du stade immature (cellules pré-B et LyB immatures) excepté le stade pro-B et tous les LyB circulants (LyB matures Th1/Th2, et LyB mémoires) (3, 4). En se fixant au LyB, le RTX provoque son inactivation et sa destruction (5) via 2 mécanismes : la cytotoxicité cellulaire anticorps-dépendante (CCDA) et la cytotoxicité dépendante du complément (CDC) (**Figure 1**) (3,5). La déplétion des cellules B dans le sang périphérique est dose-dépendante, rapide et dure entre 6 et 12 mois (6, 7).



**Figure 1.** Mécanisme d'action du Rituximab, *K. Bigaut et al. (3)*

*Teng et al. (8)* ont montré que chez les adultes traités par RTX dans le cadre d'une polyarthrite rhumatoïde, la totalité des patients présentaient une déplétion complète des LyB (CD19+) dans le sang périphérique et 32 % des patients avaient une déplétion dans la moelle osseuse. *Nakou et al. (9)* montraient, sur une population similaire, que les LyB diminuaient significativement dans le sang périphérique (2% vs 0.9%  $p=0.02$ ) mais pas dans la moelle osseuse (4.6% vs 3.8%,  $p=0.27$ ). D'autres études suggèrent une grande variabilité inter-individuelle concernant l'impact du RTX sur la déplétion des cellules B dans la moelle osseuse, peu importe la dose ou la fréquence des injections de RTX ou de la déplétion B dans le sang périphérique (7, 10). Les cellules CD19+ de la moelle osseuse semblent être plus résistantes à l'effet du RTX que celles du sang périphérique.

L'impact du RTX réside principalement dans le sang périphérique (9). Le taux de cellules B circulantes après RTX conditionne la réponse au RTX ; une absence de diminution des LyB après injection de RTX est donc prédictive d'une mauvaise réponse clinique au traitement (11). Cependant, la déplétion B dans la moelle osseuse semble paraître être associée à une plus longue durée de réponse au traitement (7).

b. Indications du Rituximab en pédiatrie

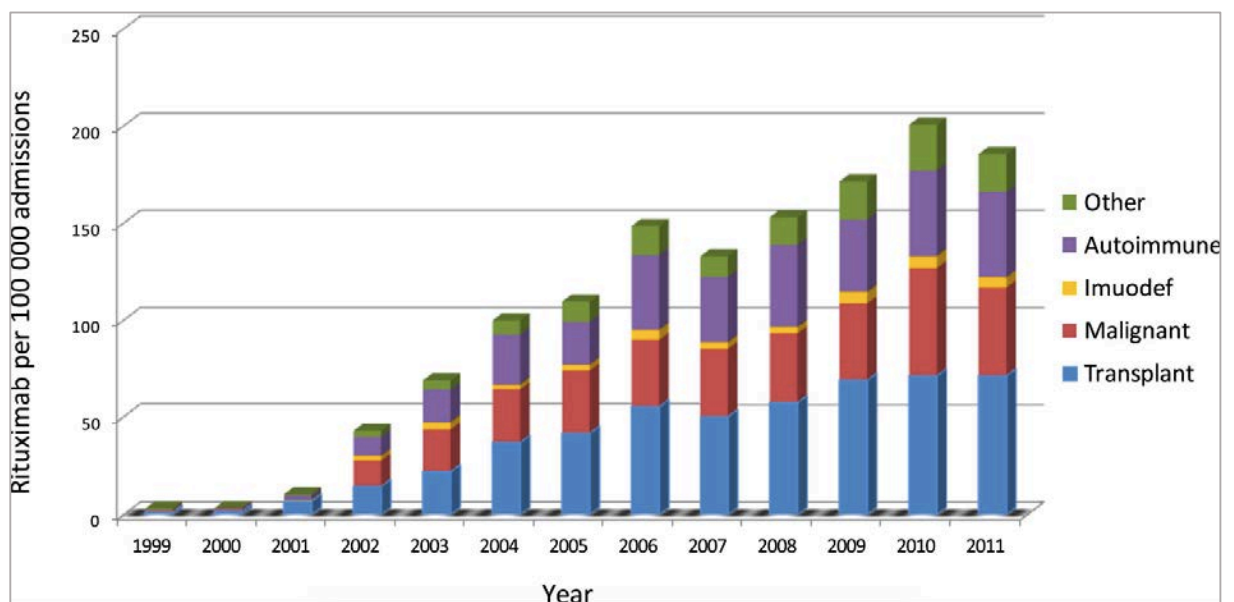
Le RTX est indiqué dans les pathologies provoquées par une hyper-activation des LyB, par exemple pour les lymphomes dûs à une prolifération anormale des LyB ou les maladies auto-immunes provoquées par la production d'auto-anticorps par les LyB.

Initialement utilisé en héματο-oncologie, les indications du Rituximab ont été élargies depuis les années 2000 pour de nombreuses maladies auto-immunes. En pédiatrie, le Rituximab est recommandé par la HAS dans les indications suivantes : à partir de 6 mois, pour le lymphome diffus à grandes cellules B CD20 positif, le lymphome de Burkitt, la leucémie de Burkitt, et lymphome Burkitt-like et à partir de 2 ans pour le pemphigus vulgaris, la maladie de Wegener et la polyangéite microscopique (12).

Le RTX est donc majoritairement utilisé en pédiatrie hors-AMM dans le cadre des formes sévères ou réfractaires de maladies auto-immunes. Ses indications sont aujourd'hui larges avec une population hétérogène : elles concernent l'oncologie avec les complications post-transplantation, le syndrome lymphoprolifératif à EBV et les maladies auto-immunes systémiques, néphrologiques, dermatologiques,



hématologiques et gastro-entérologiques (13). Kavcic et al. (14) ont recensé à partir de bases de données administratives toutes les indications d'utilisations du RTX dans les services de pédiatrie aux Etats-Unis entre 2000 et 2010. Sur 2875 patients recensés, l'utilisation du RTX se faisait majoritairement dans le cadre de 4 grandes catégories diagnostiques : les complications post-transplantation (40% des indications), notamment le syndrome lympho-prolifératif post-greffe ; l'hématologie maligne (17%) comprenant surtout les lymphomes ; les déficits immunitaires primitifs (4%) et les maladies auto-immunes (27%) systémiques (lupus, arthrite juvénile) ou spécifiques d'organe, notamment neurologiques, néphrologiques (syndrome néphrotique), hématologiques (cytopénies auto-immunes) et gastroentérologiques (maladies inflammatoires du tube digestif). Le taux d'admission pour injection de RTX augmentait de manière exponentielle pendant cette période, passant de 3/100.000 à 185/100.000 admissions comme montré dans la **figure 2**.



**Figure 2.** Evolution du taux d'admission pour injection de RTX aux Etats Unis entre 1999 et 2011, extrait de Kavcic M. et al (14)

Le RTX est administré en pédiatrie par voie intra-veineuse à la dose de 375 mg/m<sup>2</sup> avec des schémas d'administration variables. Le schéma le plus souvent utilisé consiste en des injections monitorées en fonction taux de LyB CD19+ circulants (par exemple 1 injection de RTX dès que le taux de CD19+ devient supérieur à 100/mm<sup>3</sup>). Il peut aussi être administré sous forme de « cure » (injections répétées sur 1 mois), ou en schéma protocolisé et standardisé comme dans les lymphomes (5). Entre 10% et 15% des patients présentent des effets indésirables immédiats pendant la perfusion tels qu'une détresse respiratoire, des vomissements, de la fièvre, du prurit, des céphalées ou de l'hypotension (1, 15). Ces effets sont souvent résolutifs après une pause de la perfusion et l'administration d'anti-histaminique et ne contre-indiquent pas la poursuite du traitement (16). Ces effets sont prévenus en pédiatrie par une injection d'un anti-histaminique tel que de la Dexchlorphéniramine avant administration et une vitesse de perfusion augmentée progressivement (17). Un effet indésirable rare mais grave et qui contre-indique la poursuite du traitement est le choc anaphylactique qui survient dans 1% à 4% des cas (1, 18, 19). Une désensibilisation peut être proposée dans certains cas (20).

### c. Effets du RTX sur l'immunité

#### 1. Immunité humorale

Le RTX interfère avec l'immunité humorale en déplaçant les LyB. La reconstitution de l'immunité humorale débute en moyenne six mois après la fin du traitement (21). Le suivi des taux de cellules B en laboratoire se fait via la cytométrie de flux dans le cadre d'un immunophénotypage lymphocytaire, le marqueur le plus souvent utilisé est

le CD19 présent sur tous les sous-ensembles des cellules B à l'exception des cellules plasmiques à longue durée de vie (22).

Le renouvellement des LyB débute par des LyB naïfs et les LyB mémoires peuvent réapparaître jusque 2 ans après la dernière injection de RTX (23). Dans l'étude de *Labrosse et al.* (24) sur 207 enfants recevant du RTX toutes indications confondues, 39% présentaient encore une lymphopénie B 12 mois après la fin du traitement.

Le RTX n'a classiquement pas d'impact sur les plasmocytes, en raison de leur absence d'expression de l'antigène CD20 et donc pas d'effet théorique sur la production d'immunoglobulines (Ig). Cependant, les LyB sont à l'origine de la réponse immunitaire humorale avec leur différenciation en plasmocytes dans les organes immunitaires. De nombreuses études ont montré que le RTX induit une hypogammaglobulinémie transitoire dans 30 à 50 % des cas jusqu'à 6 mois après le traitement, voire une hypogammaglobulinémie persistante jusqu'à 12 mois, affectant les trois classes d'immunoglobulines (24, 25). Par exemple, dans l'étude de *Khojah et al.* (26) sur 63 enfants recevant du RTX dans une maladie auto-immune, 44% présentaient une hypogammaglobulinémie IgG à la suite du RTX survenant dans 79% des cas dans les 6 premiers mois du traitement. L'impact de cette hypogammaglobulinémie sur les infections post-RTX n'est pas réellement connu. Par ailleurs, l'instauration d'un traitement par RTX peut révéler un déficit immunitaire sous-jacent (25).

Peu de données dans la littérature sont disponibles concernant la reconstitution immunitaire B et l'immunité humorale post-injection de RTX toutes indications confondues, en particulier chez les enfants.

## 2. Immunité cellulaire

La réduction des taux de LyB altère leur fonction de cellule présentatrice d'antigène ce qui pourrait entraîner un dysfonctionnement des LyT CD4 et des réponses anormales spécifiques des cellules T (27). Cependant, l'impact du RTX sur la population lymphocytaire T est controversé. Des études expérimentales montrent une diminution des LyT CD4 et CD8 après injection de RTX (28). D'autres études chez l'adulte ne retrouvent pas de modification des taux des cellules T après traitement (29) ou alors une augmentation des cellules T-CD4+ et T-CD8+ après RTX (30) ou bien uniquement une diminution d'une sous-population CD3+CD20+ (31).

### *d. Infections post-RTX, prévention des infections et facteurs de risque d'infections*

Le RTX peut provoquer des infections via l'immunosuppression provoquée par la lymphopénie B, l'hypogammaglobulinémie et l'altération de la communication B et T (27). La prévalence semble être entre 20 % et 30 % chez l'adulte (32, 33). La prévalence de ces infections et les facteurs de risque d'infection sont peu étudiés en pédiatrie (34).

L'étude japonaise de Takao et al. (35) montrait que le RTX était significativement associé aux infections dans les syndromes néphrotiques idiopathiques de l'enfant. Dans l'essai randomisé INTER-B-NHL-Ritux 2010 sur des enfants atteints de lymphome non hodgkinien, les enfants recevant du RTX associé à la chimiothérapie présentaient plus d'évènements infectieux menaçant le pronostic vital ou fatal que ceux recevant une chimiothérapie seule (36). L'étude de *Kavcic et al.* (14) a montré que 79% des enfants sous RTX souffraient d'au moins une complication infectieuse, pouvant aller de la bactériémie à l'infection virale et l'infection fongique. Des études

d'efficacité et de sécurité sont publiées dans chacune des indications du RTX (37-41). Néanmoins, il s'agit de petites cohortes descriptives spécifiques, avec des biais concernant les effets sur l'immunité et les infections, liés à l'utilisation d'immunosuppresseurs ou de chimiothérapie concomitantes. Il est donc nécessaire d'obtenir des données de sûreté concernant le risque infectieux et immunitaire sur de plus grandes cohortes multidisciplinaires. La population recevant ce traitement est très hétérogène et présente souvent des comorbidités qui peuvent également provoquer des infections secondaires.

Il n'y a pas de réel consensus ou de recommandation concernant la prévention des infections des enfants sous RTX. Certains reçoivent une antibioprophylaxie et/ou une supplémentation en Ig en cas d'hypogammaglobulinémie post-RTX ou en systématique dès l'initiation du traitement (24). L'impact de ces traitements sur la survenue d'infections est peu étudié en pédiatrie.

#### e. Objectifs de l'étude

Le risque d'infections toutes indications confondues sous RTX ainsi que le lien avec le profil immunitaire des patients avant, pendant et après traitement par RTX restent à définir.

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer les facteurs de risque d'infection sévère sous RTX dans une cohorte pédiatrique de patients recevant du RTX toutes indications confondues.

Les objectifs secondaires étaient de :

- Décrire le taux d'incidence d'infections et d'infections sévères post-RTX et le type de ces infections
- Décrire l'évolution des données immunitaires avant et après traitement par RTX, à savoir l'évolution du taux d'immunoglobulines IgA/IgM/IgG, des lymphocytes T CD4/CD8 et B CD19
- Analyser l'association entre la lymphopénie et l'hypogammaglobulinémie post-RTX et la survenue d'une infection sévère

## II. Article

# Risk factors for severe infection and immune status in children treated with Rituximab: a retrospective cohort study at Lille University Hospital

Marie Latouche<sup>1</sup>, Hélène Behal<sup>2</sup>, Angélique Cotteau-Leroy<sup>3</sup>, François Dubos<sup>1,2</sup>, Yasemin Karaca-Altintas<sup>4,5</sup>

1 Pediatric Emergency Unit and Infectious Diseases, Univ. Lille, CHU Lille, Lille, France

2 ULR 2694 - METRICS:  valuation des Technologies de Santé et des Pratiques M dicales, University of Lille, CHU Lille, 59000, Lille, France

3 CHU Lille, Pharmacy Unit, Lille, France.

4 Department of Pediatrics, Children's Hospital, CH Roubaix, Roubaix, France

5 Univ. Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019-UMR 9017-CIIL- Center for Infection and Immunity of Lille, Lille, France

**Key words** : Rituximab, children, infection, immune status, hypogammaglobulinemia

## **Abstract**

Introduction: Rituximab is an anti-CD20 monoclonal antibody widely used in pediatrics, inducing B lymphocytes (Ly) depletion and hypogammaglobulinemia, which infectious consequences are poorly studied. The main objectives of this study were to describe incidence of severe infections (SI), analyze risk factors of SI, and evaluate the evolution of immunoglobulins (Ig) and Ly levels, focusing on their association with SI.

Methods: A retrospective cohort study was conducted between 2010 and 2020 at a tertiary university hospital in Lille, France, including all children receiving at least one dose of RTX with a follow-up of 24 months. Clinical and associated-treatment risk factors were evaluated in multivariate analysis, and available pre- and post-RTX immune profiles (Ig and Ly) were assessed.

Results: This cohort included 210 patients with a mean age of  $9.9 \pm 4.9$  years (56.2% boys). A total of 49.5% patients developed 310 SI, representing an incidence rate at 1-year post-RTX of 1.17 per patient per year. In multivariate analysis, risk factors of SI for all indications were a history of bacterial infection in the 6 months prior RTX (OR 4.9 [2.2;10.7],  $p < 0.01$ ) and associated chemotherapy (OR 5.6 [1.4;37.4],  $p < 0.01$ ). Frequencies of IgA (+36%,  $p < 0.01$ ), IgM (+46%,  $p < 0.01$ ) and IgG hypogammaglobulinemia (+13%,  $p = 0.04$ ) significantly increased after RTX treatment. RTX also induced T-CD4 (+11%,  $p = 0.03$ ) and T-CD8 lymphopenia (+11%,  $p = 0.05$ ). IgA hypogammaglobulinemia and T-CD4 and T-CD8 lymphopenias occurring in the year post-RTX were associated with SI ( $p < 0.01$  for all).

Conclusion: The risk of infection under RTX is early, real and severe, whatever the indication. RTX treatment induces more hypogammaglobulinemia and T-lymphopenia, aggravating pre-existing immune dysfunction. It is therefore necessary to take precautions regarding the risk of SI, particularly in the case of recent bacterial infection before starting RTX and T lymphopenia under treatment, which remain markers of inadequate immune response.



a. Introduction

Rituximab (RTX) is the most widely used immunotherapy in pediatrics (1). This monoclonal chimeric antibody is directed specifically against B-cells expressing the transmembrane surface antigen CD20, which regulates the cell cycle and differentiation of B-cells (2). Initially used in hemato-oncology, RTX's indications have been extended since 2010 to numerous autoimmune diseases involving B lymphocyte activity. In pediatrics, RTX is recommended by the French National Authority for Health (HAS) for the following conditions: CD20-positive diffuse large B-cell lymphoma, Burkitt's lymphoma, Burkitt's leukemia and Burkitt-like lymphoma, pemphigus vulgaris, Wegener's disease and microscopic polyangeitis (12). Nevertheless, RTX is mainly used in pediatrics for refractory or severe forms of autoimmune disease. Today, its indications are broader, concerning a heterogenous population : oncology, post-transplant complications, EBV lymphoproliferative syndrome and systemic or organ-specific autoimmune diseases (13).

RTX-induced B-cell depletion can lead to infections, the prevalence of which appears to be between 20% and 30% in adults (32, 33). The prevalence of these infections and their specific risk factors are poorly studied in paediatrics (34). An American study based on administrative data from 2875 patients showed that 79% of children on RTX suffered at least from one infectious complication, ranging from bacteremia to viral and fungal infections (14). Efficacy and safety studies have been published for specific RTX's indications (35-41). However, these are small, specific descriptive cohorts, with biases concerning effects on immunity and infections, linked to the use of concomitant immunosuppressants, chemotherapy or underlying disease.

It is therefore necessary to obtain safety data on infectious and immune risk in larger multidisciplinary cohorts.

RTX interference with humoral and cellular immunity in children is not fully understood. Reconstitution of humoral immunity usually begins six months after the end of treatment (21). Although RTX classically has no impact on plasma cells due to their lack of CD20 antigen expression, numerous studies have shown that it can induce transient hypogammaglobulinemia in 30-50% of cases up to 6 months after treatment, and even persistent hypogammaglobulinemia defined as low levels of immunoglobulin (particularly IgG) beyond 12 months post-treatment, affecting all immunoglobulin classes (24, 25). Experimental studies have shown a reduction in T-cells CD4 and CD8 after injection of RTX, probably as a result of B and T communication (28).

The infectious consequences of RTX and the link with the immune status of patients under treatment are not fully described and understood. The primary endpoint of this study was to assess risk factors for severe infection after RTX treatment for all indications in a pediatric cohort. The secondary goals were first to describe the incidence rate and time occurrence of infections and severe infections post-RTX, second to describe the evolution of immune status before and after RTX treatment, in particular the evolution of immunoglobulin IgA/IgM/IgG, T-cells CD4/CD8 and B-cells; and finally to analyze the association between levels of Ig and CD4/CD8 and the occurrence of severe infection.

## *b. Material and Methods*

### 1. Study design and inclusion criteria

This was a retrospective monocentric study conducted at Lille University Hospital, enrolling all pediatric patients under 18 years of age who had received at least one dose of RTX between January 1, 2010 and December 31, 2020. Patients who met these criteria with a follow-up of at least 2 years after the last injection were included.

### 2. Definition and outcomes

One RTX injection or dose corresponded to a 375 mg/m<sup>2</sup> of RTX intravenous injection. A cure of RTX was defined as multiple doses (usually four) injected over one month. Successive RTX doses were considered to be in different cures if they were over one month apart. The total duration of exposure to RTX corresponded to the period between the first and the last injection of RTX. The number of RTX doses and cures were left to the physicians' decisions according to B-cell depletion, disease recurrence or local protocols.

Hypogammaglobulinemia was defined according to standard levels for age described previously (42) and B-cell depletion, TCD4/TCD8 lymphopenia were defined according to normal levels of circulating B cells and T cells described by Commans-Bitter et al. (43). B-cell depletion was defined as a CD19+ cell count below 200/mm<sup>3</sup>. Persistent hypogammaglobulinemia was defined as IgA, IgM or IgG levels below the standards for age for more than 12 months after the last RTX injection. The cumulative B-cell depletion corresponds to the entire period during which the patient had LyB levels below 200/mm<sup>3</sup> after the first dose of RTX, i.e. the sum of each period between

an RTX injection and normal LyB levels in patients with multiple cures and the period between the injection and normal LyB levels in patients with a single cure. A patient was considered Ig-supplemented if supplementation was initiated up to one month after the last RTX injection and lasted at least one month. An infection was considered as "severe" if the patient needed an hospitalization and/or surgery and/or ICU stay and/or death. Multiple severe infections were defined as at least two infections per patient.

### 3. Data collection

Pediatric patients up to 18 years-old receiving at least one dose of RTX at Lille University Hospital were extracted from hospital pharmacy electronic records. Each patient was included once. Clinical and biological data were collected from patients electronic records up to 24-month follow-up.

The following clinical data were collected at baseline, i.e. before the first RTX injection : age, sex, weight, diagnosis, comorbidities. Immune data were determined on the last data available prior to the first RTX injection (PNN count, levels of IgG, IgA, IgM and CD4/CD8/CD19 counts). The same immune data available during follow-up were collected. RTX treatment details were recorded, including dosage in mg/m<sup>2</sup> and frequency of administration. Associated treatments, i.e. immunosuppressive drugs (type, dose), corticosteroids (type, dose) or chemotherapy (type), were recorded in the 6 months prior to the first RTX injection and during the 2-year follow-up. Antibiotic, antiviral and/or antifungal prophylaxis were also recorded. The existence of a bacterial, viral or fungal infection and its characteristics (duration, treatment, evolution) were collected in the 6 months prior to initiation of treatment. During follow-up, all characteristics of bacterial, viral and fungal infections were recorded. The Ig

supplementation strategy was also assessed for each patient (indication, dose, duration) and available levels of IgG, IgA and IgM levels before and during supplementation were analyzed.

#### 4. Ethics

Parents or legal guardians were informed of this study through the institutional charter. The study was approved by the institutional data protection authority of Lille University Hospital and was declared to Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL) under N°2231437.

#### 5. Statistical analysis

Qualitative variables were described in terms of frequencies and percentages. Quantitative variables were described in terms of mean and standard deviation, or median and interquartile range in the case of non-Gaussian distributions. The normality of distributions was verified graphically and using the Shapiro-Wilk test.

The search for risk factors for severe infection (at least one) within 2 years of the first RTX injection was carried out using Chi-2 tests for qualitative variables, and Student's or Mann-Whitney tests for quantitative variables, depending on the distribution of the variables. Factors associated with the 0.05 threshold were entered into a multivariate logistic regression model, with automatic bottom-up stepwise selection due to the limited number of events compared with the number of candidate factors. Due to the large number of missing data for immune status variables (around 50%), these were not studied in multivariate models. Odds ratios were expressed with their 95% confidence intervals as effect sizes. The log-linearity hypothesis was tested for quantitative variables. The search for associations between immune check-ups at

different follow-up times and the occurrence of severe infection within 2 years of the first RTX injection was carried out using Chi-2 tests or Fisher's exact test in the case of a theoretical frequency <5. Risk factors for multiple severe infections (at least 2 severe infections) within 2 years of the first RTX injection were investigated using the same univariate analyses as described for risk of severe infection (at least one). Analyses were carried out in two populations: the primary analysis was carried out in patients without pre-RTX immune deficiency ; the secondary analysis was carried out excluding hemato-onco patients from the same population.

A McNemar test was used to compare Ig levels before and after Ig RTX and after supplementation.

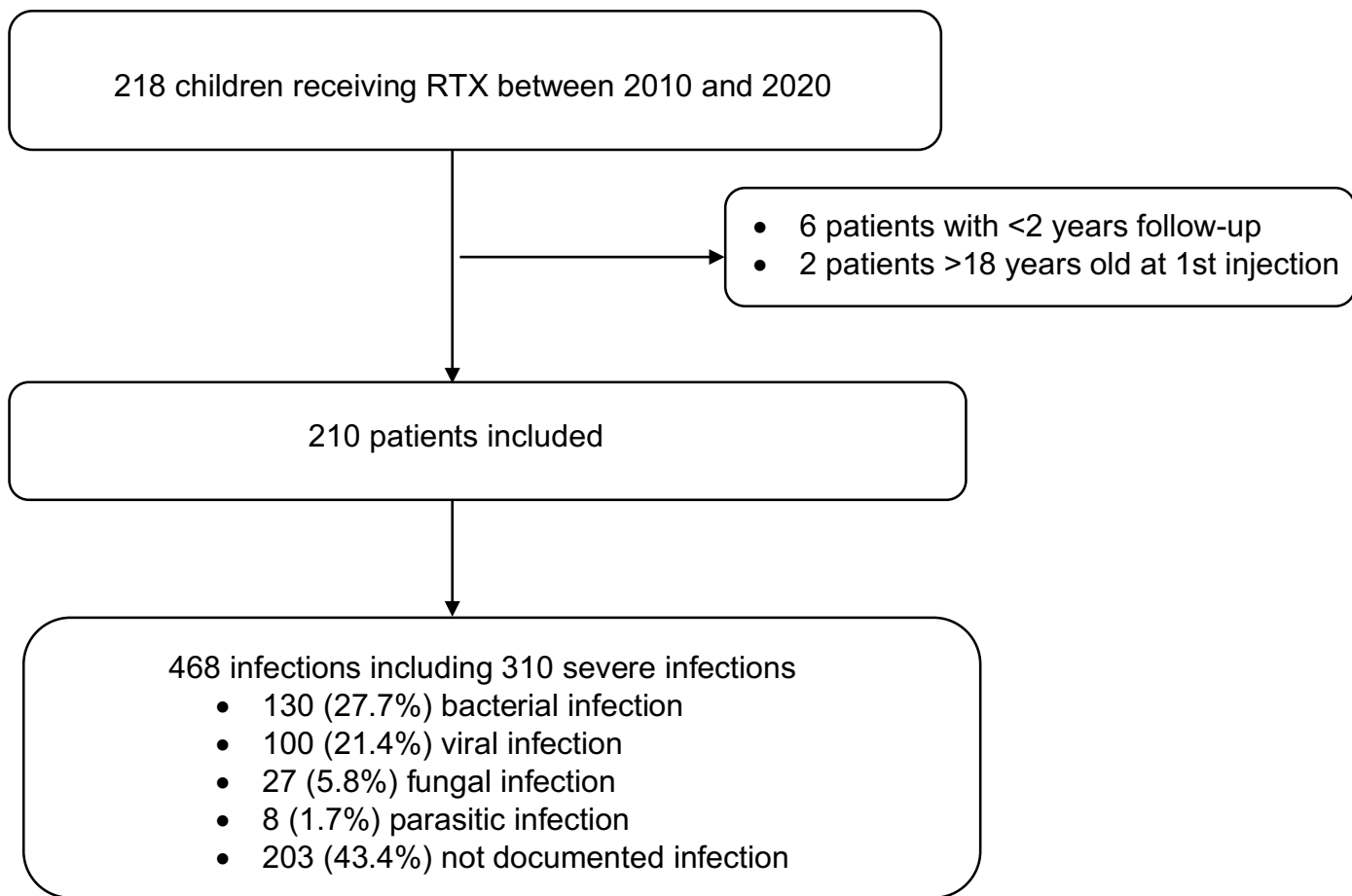
The significance level was set at 5%. Statistical analyses were performed using SAS software (SAS Institute version 9.4).

### c. Results

#### 1. Patient baseline characteristics and treatments associated with RTX

Two hundred and eighteen patients were eligible during inclusion period and 210 patients were included (mean age  $9.9 \pm 4.9$  years; 56.2% male) (**Figure 1**). The average time between the diagnosis of the disease and the first RTX injection was 2.7 years. Patients received a mean of  $4 \pm 3$  doses of RTX over a mean exposure time of  $10.6 \pm 17.4$  months. Patient demographics prior to RTX initiation are presented in **Table 1**. Eight patients (3.8%) had an immune deficiency prior to RTX administration : one due to a NCKAP1L mutation, two to variable common immune deficiency, one of unknown cause, three due to ataxia telangiectasia syndromes, one Ras-associated autoimmune leukoproliferative disorder syndrome.

Concerning associated treatments to RTX, 163 (78%) patients were receiving concomitant corticosteroid therapy, 70 (33%) chemotherapy and 122 (58.1%) other immunosuppressive medication. Out of the patients receiving RTX-associated chemotherapy, 36 (51.4%) were receiving it as part of the INTER-B-NHL-Rituximab 2010 protocol as described by Minard-Colin et al (44). With regard to infection prevention, more than half of the patients (130, 62%) received antibiotic prophylaxis by Sulfamethoxazole-Trimethoprim, and 71 (34%) patients received Ig supplementation. The overall characteristics of the treatments associated with RTX injections are presented in **Table 2**.



**Figure 1.** Study flow chart



**Table 1.** Patient demographics prior to Rituximab initiation

	<b>All patients (N=210)</b>
<b>Patient demographics</b>	
Male sex n (%)	118 (56.2)
Age at first Rituximab, mean (SD)	9.9 (4.9)
Age at diagnosis, mean (SD)	7.41 (5.11)
Weight at diagnosis, mean (SD)	33.7 (19.7)
Time from onset of disease to 1st injection of Rituximab in years, mean, (SD)	2.7 (3.8)
<b>Comorbidity, n (%)</b>	
Asthma	20 (9.5)
Cardiopathy	8 (3.8)
Respiratory disease	11 (5.2)
Neurologic disease	14 (6.6)
Digestive disease	20 (9.5)
<b>Indication of Rituximab</b>	
<b>Diagnostic category, n (%)</b>	
Hematological malignancies	42 (20)
Non-malignant hematology	24 (11)
Autoimmune disease (systemic or organ-specific from other specialties)	32 (15)
Nephrology	65 (31)
Post-transplant	28 (13)
EBV infection	19 (9)
<b>Rituximab cures</b>	
Number of RTX doses, mean (SD)	4 (3)
Cumulative total dose of RTX (mg/m <sup>2</sup> ), mean (SD)	2015 (1916)
Number of cures of RTX, mean (SD)	3 (3)
Total duration of RTX exposure in months, mean (SD)	10.6 (17.4)
Patients with single cure of RTX, n (%)	53 (25.2)
<b>Treatments within 6 months of 1<sup>st</sup> RTX injection, n (%)</b>	
Corticosteroids	156 (74.3)
Immunosuppressive medication	104 (49.5)
Chemotherapy	33 (15.7)

**Table 2.** Treatments associated with RTX

<b>Treatments</b>	<b>Number of patients, n (%)</b>	<b>Missing data</b>
<b>Anti-infective prophylaxis, n (%)</b>	<b>130 (61.9)</b>	<b>0</b>
<b>Antibiotic prophylaxis</b>	130 (100)	
Sulfamethoxazole-Trimethoprim	112 (92.6)	
Oracillin	5 (4.1)	
Pentacarinat	1 (9.8)	
Azithromycin	2 (1.7)	
Amoxicillin	1 (0.8)	
<b>Anti-fungal prophylaxis</b>	31 (14.8)	
Voriconazole	12 (5.7)	
B Amphotericin	11 (5.2)	
Fluconazole	7 (3)	
Caspofungin	1 (0.4)	
<b>Anti-viral prophylaxis</b>	29 (13.8)	
Valaciclovir	20 (9.5)	
Aciclovir	8 (4)	
Valganciclovir	1 (0.4)	
<b>Corticosteroids, n (%)</b>	<b>163 (78)</b>	<b>47</b>
Prednisone, n (%)	153 (94)	
Methylprednisolone, n (%)	14 (6)	
Hydrocortisone hemissuccinate, n (%)	7 (3)	
<b>Immunosuppressive medication, n (%)</b>	<b>122 (58.1)</b>	<b>89</b>
Ciclosporin	77 (63.6)	
Methotrexate	4 (3.3)	
Azathioprine	6 (4.9)	
Mycophenolate Mofetil	26 (21.5)	
Tacrolimus	2 (1.7)	
Everolimus	4 (3.3)	
Other	2 (1.7)	
<b>Chemotherapy, n (%)</b>	<b>70 (33.3)</b>	<b>0</b>
Inter-B-NHL-Rituximab 2010	36 (51.4)	
Chemotherapy for other hematological malignancies	15 (21.4)	
R-CHOP	5 (7.1)	
Endoxan alone	6 (8.6)	
During transplant	8 (11.4)	

## 2. Bacterial infections before Rituximab

A total of 61 patients (29%) had a bacterial infection within 6 months before starting RTX, with a mean time before first RTX injection of 2.17 months ( $\pm$  1.7 months). These infections required antibiotic therapy with piperacillin/tazobactam in 21 (34.4%) patients, 3rd-generation cephalosporin for 12 (20%), amoxicillin or amoxicillin-clavulanic acid for 18 (29.5%), aminoglycosides for 7 (11.4%) and vancomycin for 4 (6.5%). The description and frequency of these bacterial, viral and fungal infections are shown in **Table 3**.

**Table 3.** Description of infections in the 6 months before first RTX injection

	n (%)
<b>Bacterial infection within 6 months before 1<sup>st</sup> RTX injection</b>	61 (28.8)
<b>Type of infection</b>	
Febrile Aplasia	19 (31.2)
Pneumonia	12 (19.7)
ENT bacterial infection	9 (14.9)
Bloodstream Infection	7 (11.5)
Peritonitis	4 (6.6)
Severe skin infection	3 (4.9)
Acute bacterial gastroenteritis	2 (3.2)
Urinary tract infection	2 (3.2)
Other	3 (4.9)
<b>Germ</b>	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4 (6.6)
<i>Escherichia coli</i>	3 (4.9)
<i>Enterobacter cloacae</i>	2 (3.2)
<i>Staphylococcus aureus</i>	2 (3.2)
Other	3 (4.9)
Not documented	44 (72.1)
<b>Viral infection within 6 months before 1st injection</b>	33 (15.7)
<b>Fungal infection within 6 months before 1st injection</b>	11 (5.2)

### 3. Post-Rituximab infections

A total of 147 patients (70%) presented 468 infections, including 104 patients (50%) with 310 severe infections. Ninety patients without immune deficiency had at least one severe infection within 24 months after RTX starting. Sixty-six patients (31%) presented multiple severe infections. A single patient had an average of 2.27 infections and 1.49 severe infections after RTX.

The incidence of infections during the first year and for the first two years after RTX treatment were respectively 1.54 and 0.74 infections per patient per year, and 1.17 and 0.48 for a severe form.

Concerning the time of occurrence of the infections, 65.2% (n=305 patients) of the infections occurred within 10 months after RTX starting, and 93.8% (n=90 patients) of the severe infections occurred within 24 months in patients without immune deficiency. The mean time from first RTX injection to first infection was 18.6 +/- 1.5 days and 30 +/- 1.8 days to first severe infection. Patients receiving a single course of RTX had an infection and a severe infection within respectively a mean time of 9.8 +/- 1 days and 13 +/- 1.2 days. The Kaplan-Meier curves describing the occurrence of infection and severe infection after RTX injection are shown in **Figure 2**.

Underlying indication was associated with the occurrence of a severe infection : indeed, 83% (35/42) of patients receiving RTX for malignancies had at least one severe infection, 78% (15/19) for EBV infections, 67% (19/28) for post-transplant indications, whereas this rate was 37% (12/32) for autoimmune diseases, 33% (8/24) in non-malignant hematology patients and 12% (8/65) in nephrology patients (p<0.01).

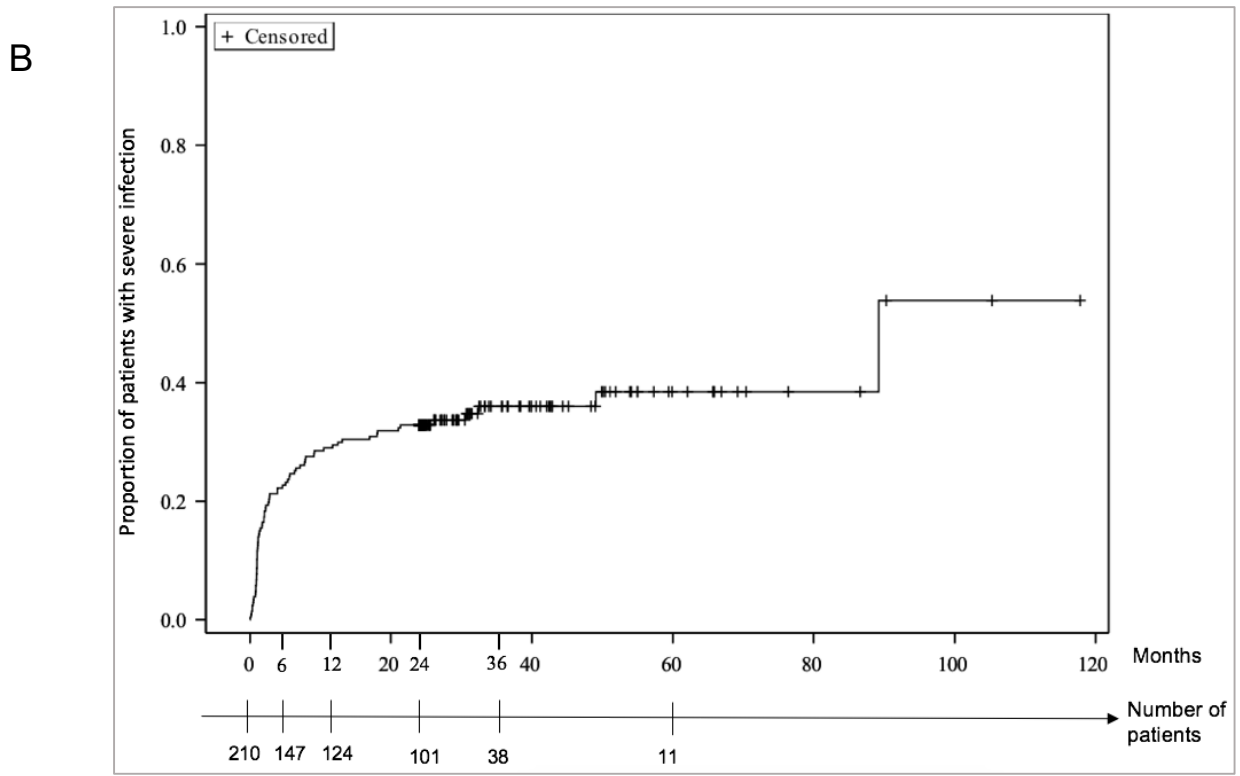
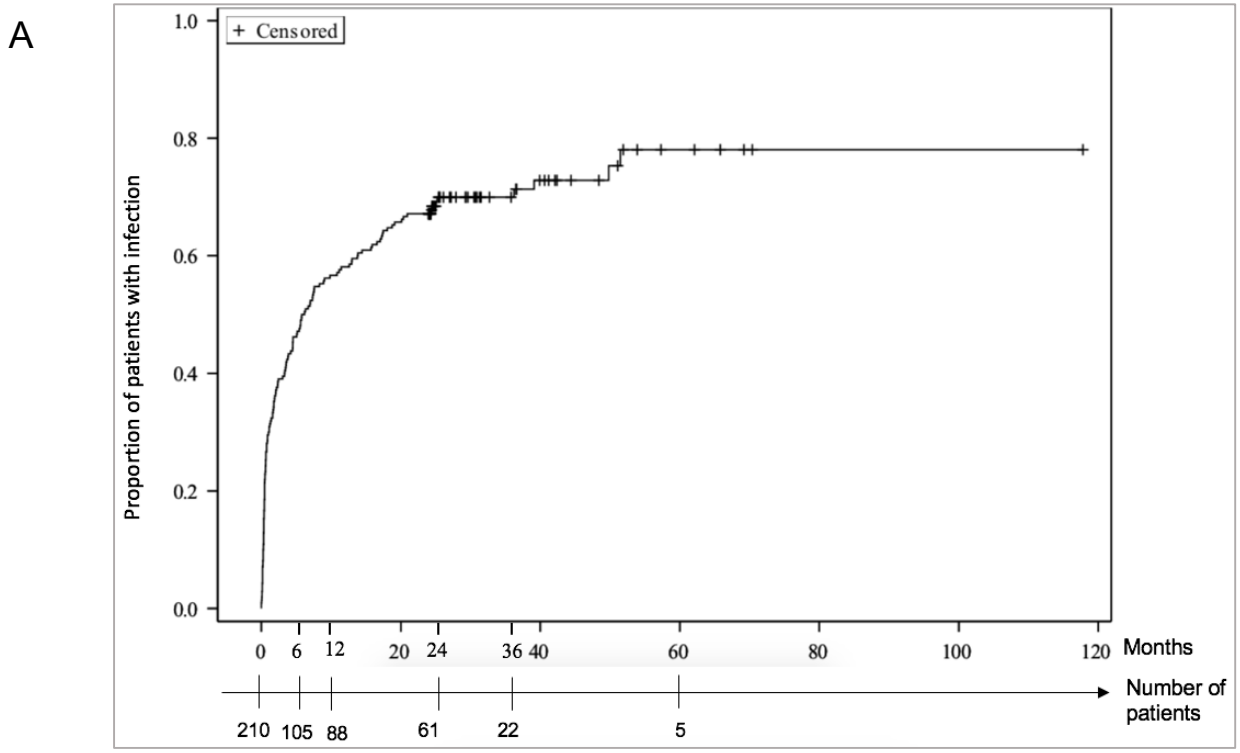
The most frequent infections were febrile aplasia (23.1%), bronchopulmonary infections (21%) and ENT infections (17.9%). Infections were of bacterial origin in

27.6% of cases, and non-documented in 43.4%. The description of post-RTX infections is shown in **Table 4**. Thirteen patients in the study died following RTX treatment. The death of eight patients was directly attributable to infection. Four died from CMV and/or EBV infection : one died from EBV reactivation with lymphoproliferative syndrome treated by bone marrow transplantation, one from CMV infection and EBV reactivation after bone marrow transplant for Shwachman-diamond disease, one from CMV infection post-lung transplantation for mucoviscidosis, and one from acute respiratory distress post relapse of EBV-associated large B-cell lymphoproliferative syndrome in a context of ataxia telangiectasia. Two patients died from bacterial infection : one from bilateral Escherichia coli infiltrative pneumonia in a context of ataxia telangiectasia, one from septic shock in a context of limbic encephalitis with anti-NMDA antibodies. Two deaths were attributable to fungal infection : one multivisceral infection with Aspergillus fumigatus during a relapse of acute myeloblastic leukemia, one septic shock due to in a context of post-transplant relapse of acute myeloblastic leukemia. Five patients died of non-infectious causes.

**Table 4.** Description of post-Rituximab infections

	<b>Infections, n (%)</b>	<b>Severe Infections n (%)</b>
	<b>N=468</b>	<b>N= 310</b>
<b>Germ category</b>		
Bacteria	130 (27.6)	95 (30.6)
Virus	100 (21.4)	57 (18.4)
Fungi	27 (5.8)	21 (6.8)
Parasite	8 (1.7)	1 (0.3)
Not documented	203 (43.4)	136 (43.9)
<b>Type of infection</b>		
Febrile aplasia	112 (23.9)	112 (36)
Bacterial origin suspected but not documented	101 (21.6)	101 (32.6)
Bacterial origin confirmed	11 (2.3)	11 (3.5)
Pulmonary infection	100 (21.4)	68 (22.2)
ENT infection	84 (17.9)	10 (3.2)
Bacteraemia	60 (13)	60 (19)
Digestive infection	49 (10.4)	31 (10.1)
Cutaneous infection	45 (9.7)	14 (4.6)
Urinary tract infection	14 (3)	10 (3.3)
Osteoarticular infection	2 (0.4)	2 (0.6)
Meningitis	2 (0.4)	2 (0.6)
<b>Germ</b>		
<b>Bacteria</b>		
<i>Escherichia coli</i>	14 (3)	13 (4.2)
<i>Staphylococcus aureus</i>	11 (2.4)	9 (3)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	9 (2)	9 (3)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9 (2)	9 (3)
<i>Clostridium difficile</i>	6 (1.3)	6 (2)
<i>Haemophilus influenzae</i>	5 (1.1)	4 (1.3)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4 (0.9)	4 (1.3)
<i>Streptococcus mitis</i>	4 (0.9)	4 (1.3)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4 (0.9)	3 (1)
<i>Enterobacter cloacae</i>	4 (0.9)	4 (1.3)
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	3 (0.7)	3 (1)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3 (0.7)	3 (1)
<i>Citrobacter spp</i>	2 (0.4)	2 (0.7)
<i>Salmonella spp</i>	2 (0.4)	2 (0.7)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1 (0.2)	1 (0.3)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1 (0.2)	1 (0.3)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1 (0.2)	1 (0.3)
Other	48 (10)	17 (5)
<b>Virus</b>		
Enterorhinovirus	10 (2.2)	8 (2.7)

CMV	9 (2)	8 (2.7)
VZV	8 (1.8)	5 (1.7)
HSV	7 (1.5)	2 (0.7)
Influenza virus	5 (1.1)	2 (0.7)
EBV	4 (0.9)	2 (0.7)
VRS	3 (0.7)	2 (0.7)
Adenovirus	3 (0.7)	3 (1)
SARS-CoV-2	3 (0.7)	2 (0.7)
Other	45 (40.5)	23 (7.4)
<b>Fungal</b>		
<i>Candida Albicans</i>	10 (2.2)	8 (2.7)
<i>Other Candida</i>	3 (0.7)	3 (1)
<i>Aspergillus fumigatus</i>	3 (0.7)	3 (1)
<i>Mucor mycosis</i>	1 (0.2)	1 (0.3)
Other	10 (5.8)	6 (2)
<b>Not documented</b>	203 (43.4)	136 (43.9)
<b>Management</b>		
Hospitalization		310 (100)
Length of hospital stay in days, mean (SD)		10.6 (11.4)
Intensive care unit		34 (16.1)
Surgery		17 (5.5)
Death		8 (2.6)
<b>Treatment</b>		
<b>Antibiotic</b>		
Piperacillin/tazobactam		133 (46.5)
Amikacin		40 (1.4)
3 <sup>rd</sup> generation cephalosporin		32 (11.2)
Amoxicillin		17 (5.9)
Carbapenem		9 (3.1)
Vancomycin		9 (3.1)
Gentamycin		4 (1.4)
Macrolide		4 (1.4)
Metronidazole		4 (1.4)
Fluoroquinolone		3 (1)
<b>Antifungal</b>		
Fluconazole		4 (1.4)
B Amphotericin		3 (1)
Voriconazole		2 (0.7)
Caspofungin		1 (0.3)
Other		
<b>Antiviral</b>		
Aciclovir		5 (1.7)
Ganciclovir		6 (2)
Valaciclovir		2 (0.7)
Foscarnet		2 (0.7)
<b>Other</b>		30 (9.6)



**Figure 2.** Kaplan-Meier curves showing the occurrence of infection and severe infection after starting RTX

- (A) Kaplan-Meier curve of the occurrence of all infections after starting RTX
- (B) Kaplan-Meier curve of the occurrence of severe infection after starting RTX



#### 4. Risk factors for post-Rituximab infections

Ninety patients without immune deficiency (93.8%) presented at least one severe infection within 24 months after RTX treatment starting. Risk factors for the occurrence of severe infections within 24 months of RTX treatment initiation were analyzed according to patient characteristics before RTX treatment and associated treatments after RTX, and are reported for all patients except those with immune deficiency in **Table 5**, and excluding oncology patients in **Table 6**.

For the whole cohort, significant risk factors for severe infection in univariate analysis were, before treatment, diagnostic category, digestive comorbidity, CD4 lymphopenia, CD19 lymphopenia, IgM hypogammaglobulinemia, bacterial infection and young age at first injection. Corticosteroid therapy before treatment was a protective factor. Concerning treatments associated to RTX, only chemotherapy was a significant risk factor ; antibiotic prophylaxis and associated antifungal prophylaxis were associated with severe infection and were not protective factors. In multivariate analysis, bacterial infection within 6 months before RTX treatment (OR=4.86 [2.2 ; 10.7],  $p<0.01$ ) and chemotherapy (OR=5.6 [1.4 ; 37.4],  $p<0.01$ ) emerged as predominant severe infection risk factors.

Excluding oncology patients, the same risk factors were found in both univariate and multivariate analyses (**Table 6**).

Risk factors for multiple severe infections excluding oncology patients in univariate analysis were diagnostic category ( $p<0.01$ ), presence of digestive comorbidity (OR=3.2 [1.1 ; 9.2],  $p=0.03$ ), presence of pre-RTX IgM hypogammaglobulinemia (OR=3.3 [1.2 ; 9.1],  $p=0.02$ ), presence of a bacterial infection prior to RTX (OR=4.5 [2 ; 9.1],  $p=0.01$ ) and RTX-associated chemotherapy (OR= 7.4 [3 ; 18.2],  $p<0.01$ ) (**Supplementary material 1**).

**Table 5.** Risk factors for severe infection within two years after RTX treatment for all patients excluding patients with pre-RTX immune deficiency

	Severe infection	Without severe infection	Univariate analysis			Multivariate analysis		
	n=90*	n=112*	OR	IC 95%	p	OR	IC 95%	p
<b>Before RTX treatment**</b>								
Male sex	52 (58)	64 (57)	1.02	[0.6 ; 1.8]	0.9			
Diagnostic category					<0.01			
<i>Nephrology (reference)</i>			1					
<i>Oncology</i>			28	[9.8 ; 83]				
<i>Non-malignant hematology</i>			3.8	[1.2 ; 11.8]				
<i>Auto-immune diseases</i>			4.5	[1.6 ; 12.6]				
<i>Post-transplant</i>			15.1	[5.1 ; 44.5]				
Vaccination status up to date	58 (64)	81 (72)	0.7	[0.3 ; 1.2]	0.22			
Asthma	11 (12)	9 (8)	1.6	[0.6 ; 4]	0.32			
Digestive comorbidity	12 (13)	6 (5)	2.7	[1 ; 7.6]	0.04			
CD4 lymphopenia	22 (55)	18 (28)	3.2	[1.4 ; 7.2]	<0.01			
CD8 lymphopenia	11 (28)	13 (20)	1.5	[0.6 ; 3.8]	0.3			
CD19 lymphopenia	14 (41)	14 (22)	2.5	[1.2 ; 6.3]	0.04			
HypolIgG	22 (58)	30 (45)	1.7	[0.7 ; 3.7]	0.19			
HypolIgM	16 (42)	14 (20)	2.7	[1.1 ; 6.1]	0.02			
Immunosuppressive medication	60 (70)	75 (69)	1.1	[0.5 ; 1.9]	0.88			
Corticosteroids	57 (70)	93 (83)	0.5	[0.2 ; 0.9]	0.03			
Bacterial infection	35 (39)	20 (18)	2.9	[1.5 ; 5.6]	<0.01	4.9	[2.2 ; 10.7]	<0.01
Viral infection	18 (20)	13 (11)	1.9	[0.8 ; 4.1]	0.1			
Age at 1st rituximab (years), mean (SD)	9.1 (5)	10.6 (5)	0.9	[0.8 ; 0.9]	0.02			
Weight at diagnosis (kg), mean (SD)	31 (21)	36 (18)	1	[0.9 ; 1]	0.08			
Age at diagnosis (y), mean (SD)	8 (5)	7 (4)	1.1	[0.9 ; 1]	0.15			
<b>Associated treatment</b>								
Immunosuppressive medication	48 (53)	71 (63)	0.6	[0.3 ; 1.1]	0.14			
Corticosteroids	73 (81)	84 (75)	1.4	[0.7 ; 2.8]	0.3			
Chemotherapy	55 (61)	11 (10)	14.4	[6.7 ; 30]	<0.01	5.6	[1.4 ; 37]	<0.01
Antibiotic prophylaxis***	75 (83)	49 (43)	6.4	[3.3 ; 12.5]	<0.01			
Anti-fungal prophylaxis***	26 (29)	5 (4)	8.7	[3.1 ; 23.7]	<0.01			
Ig supplementation	29 (32)	35 (31)	1.03	[0.5 ; 1.8]	0.9			

\* 6 patients presented their first severe infection above 24 months after the start of RTX treatment and were considered "without severe infection"

\*\* Pre-RTX IgA hypogammaglobulinemia was not studied due to too many missing data

\*\*\* Prophylaxis were not included in the multivariate analysis

**Table 6.** Risk factors for severe post-rituximab infection excluding oncology patients

	Severe infection n n=58	Without severe infection n=102	Univariate analysis			Multivariate analysis		
			n (%)	n (%)	OR	IC 95%	p	OR
<b>Before RTX treatment*</b>								
Male sex	31 (53)	59 (58)	1.02	[0.6 ; 1.8]	0.69			
Diagnostic category					<0.01			
<i>Nephrology (reference)</i>			1					
<i>Non-malignant hematology</i>			3.8	[1.2 ; 11.8]				
<i>Auto-immune disease</i>			4.5	[1.6 ; 12.6]				
<i>Post-transplant</i>			15.1	[5.1 ; 44.5]				
Vaccination status up to date	38 (66)	75 (73)	0.7	[0.4 ; 1.5]	0.38			
Asthma	6 (10)	9 (9)	1.2	[0.4 ; 3.6]	0.72			
Digestive comorbidity	11 (19)	6 (6)	3.8	[1.3 ; 10.9]	<0.01			
CD4 lymphopenia	19 (54)	18 (29)	2.9	[1.2 ; 6.8]	0.01			
CD8 lymphopenia	10 (28)	12 (19)	1.6	[0.6 ; 4.2]	0.3			
CD19 lymphopenia	13 (40)	14 (22)	2.3	[0.9 ; 5.9]	0.06			
HypogG	21 (58)	30 (47)	1.5	[0.7 ; 3.6]	0.27			
HypogM	14 (39)	13 (20)	2.5	[1.1 ; 6.1]	0.04			
Immunosuppressive medication	40 (71)	74 (72)	0.9	[0.5 ; 1.9]	0.88			
Corticosteroids	40 (74)	88 (86)	0.5	[0.2 ; 1.2]	0.11			
Bacterial infection	29 (50)	20 (19)	4.2	[2 ; 8.5]	<0.01	4.5	[1.9 ; 10.2]	<0.01
Viral infection	18 (31)	13 (13)	3.1	[1.4 ; 7.1]	<0.01			
Age at 1st rituximab (years), mean (SD)	8.1 (5)	10.5 (5)	0.9	[0.8 ; 0.9]	<0.01			
Weight at diagnosis (kg), mean (SD)	25 (20)	36 (19)	0.9	[0.9 ; 1]	<0.01			
Age at diagnosis (years), mean (SD)	6.4 (5)	6.5 (5)	0.9	[0.9 ; 1]	0.89			
<b>Associated treatment</b>								
Immunosuppressive medication	45 (78)	70 (67)	1.7	[0.8 ; 3.5]	0.17			
Corticosteroids	45 (77)	78 (75)	1.2	[0.5 ; 2.4]	0.71			
Chemotherapy	24 (41)	4 (4)	17.6	[5.7 ; 54.5]	<0.01	16.2	[4.8 ; 54.3]	<0.01
Antibiotic prophylaxis	44 (75)	41 (39)	4.8	[2.3 ; 9.9]	<0.01			
Anti-fungal prophylaxis**	14 (24)	5 (5)	6.3	[2.1 ; 18.6]	<0.01			
Ig supplementation	26 (45)	35 (34)	1.6	[0.8 ; 3.1]	0.17			

\* Pre-RTX IgA hypogammaglobulinemia was not studied due to too many missing data

\*\* Prophylaxis were not included in the multivariate analysis

5. Evolution of lymphopenia and hypogammaglobulinemia after Rituximab treatment and comparison of immune data before and after treatment

Immune data before first RTX injection were available for 109 (52%) patients for Ig and 101 (48%) patients for Ly phenotyping. After RTX treatment, these data were available for 152 (72%) patients for Ig and for 171 (81%) patients for Ly. Levels of all three types of immunoglobulin and of CD19, T-CD4 and T-CD8 lymphocytes decreased significantly after RTX treatment compared to levels before treatment. The evolution of patients' immune status after RTX treatment is shown in **Table 7**.

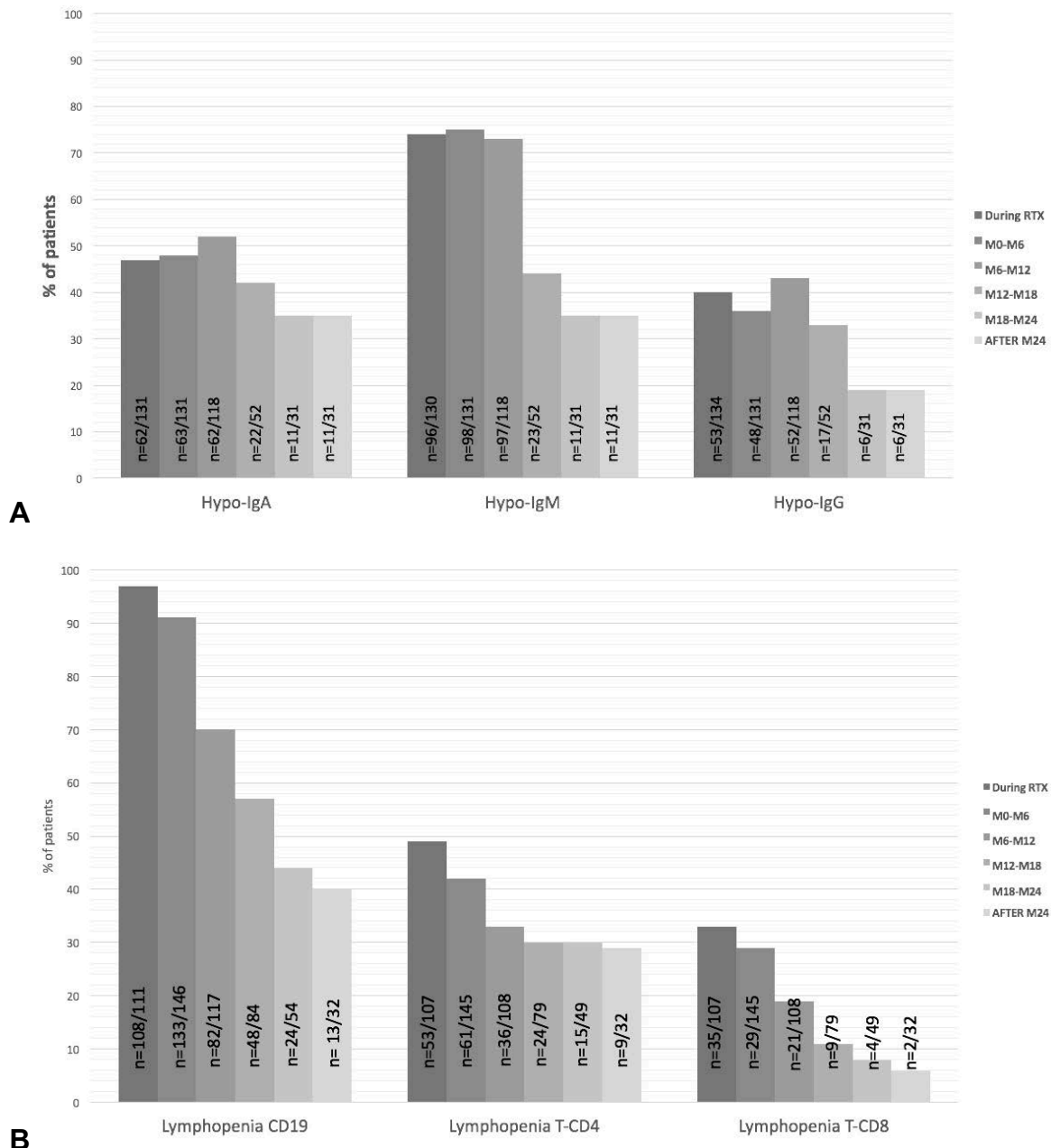
Rates of hypogammaglobulinemia and lymphopenia appeared to peak during or immediately after RTX courses, and gradually declined over the first 12 months after the last RTX injection. After 12 months, of the 52 (25%) patients with available Ig assays, only 17 (32%) had persistent IgG hypogammaglobulinemia and 22 (42%) had IgA and/or IgM hypogammaglobulinemia. Of the 84 patients with available Ly phenotyping after 12 months, 48 (53%) had B lymphopenia, 24 (30%) T-CD4 lymphopenia and 9 (11.3%) T-CD8 lymphopenia (**Figure 3**).

When comparing immune data before and after RTX specifically in patients who had immune data available before and after RTX, there was a significant increase in B-lymphopenia (34% vs 48%,  $p < 0.01$ ), T-CD4 lymphopenia (38% vs. 49%,  $p = 0.03$ ) and T-CD8 lymphopenia (19% vs. 30%,  $p = 0.05$ ) before and after RTX. There was also a significant increase in IgA hypogammaglobulinemia (6% vs. 42%,  $p < 0.01$ ), IgM hypogammaglobulinemia (29% vs. 75%,  $p < 0.01$ ) and IgG hypogammaglobulinemia (37% vs. 50%,  $p = 0.04$ ) hypogammaglobulinemia as shown in **Figure 4**.

**Table 7.** Immune data of patients before and after RTX treatment

	<b>N=210 n (%)<sup>*</sup></b>	<b>Missing data</b>
<b>B cell depletion time</b>		91
Cumulative B-cell depletion time in months, mean (SD)	26.6 (21.4)	
B-cell depletion in patients with single dose or single cure in months, mean (SD)	10.8 (7.6)	
Cumulative B-cell depletion in patients with multiple cures in months, mean (SD)	36.7 (34.6)	
<b>Lymphopenia CD19 (B-cell depletion after RTX)</b>		
Before RTX	30 (29.7)	109
After RTX	171 (100)	39
<b>Lymphopenia CD4</b>		
Before RTX	42 (41.5)	109
After RTX	81 (47.4)	39
<b>Lymphopenia CD8</b>		
Before RTX	25 (24.7)	109
After RTX	54 (31.6)	39
<b>Hypogammaglobulinemia IgA</b>		
Before RTX	7 (6.4)	101
After RTX	72 (47)	58
<b>Hypogammaglobulinemia IgM</b>		
Before RTX	34 (31.2)	101
After RTX	117 (77)	58
<b>Hypogammaglobulinemia IgG</b>		
Before RTX	53 (48.6)	101
After RTX	76 (50)	58

\* Percentages were expressed as number of patients meeting the criteria over the total number of patients with available data



**Figure 3.** Evolution over time of the rate of patients with lymphopenia and hypogammaglobulinemia during treatment and after the last dose of RTX\* \*\*

(A) Evolution of the rate of patients with lymphopenia B, T-CD4 and T-CD8 during treatment and after the last dose of RTX

(B) Evolution of the rate of patients with hypogammaglobulinemia IgA, IgM and IgG during treatment and after the last dose of RTX

\* On each bar, n is expressed as the number of patients with corresponding pathological immunological data over the number of patients with immunological data available at this time point. The expressed percentages correspond to these proportions at each specific time for each immunological data.

\*\* During RTX = immune data between 1st RTX injection and last RTX injection in patients receiving multiple doses,

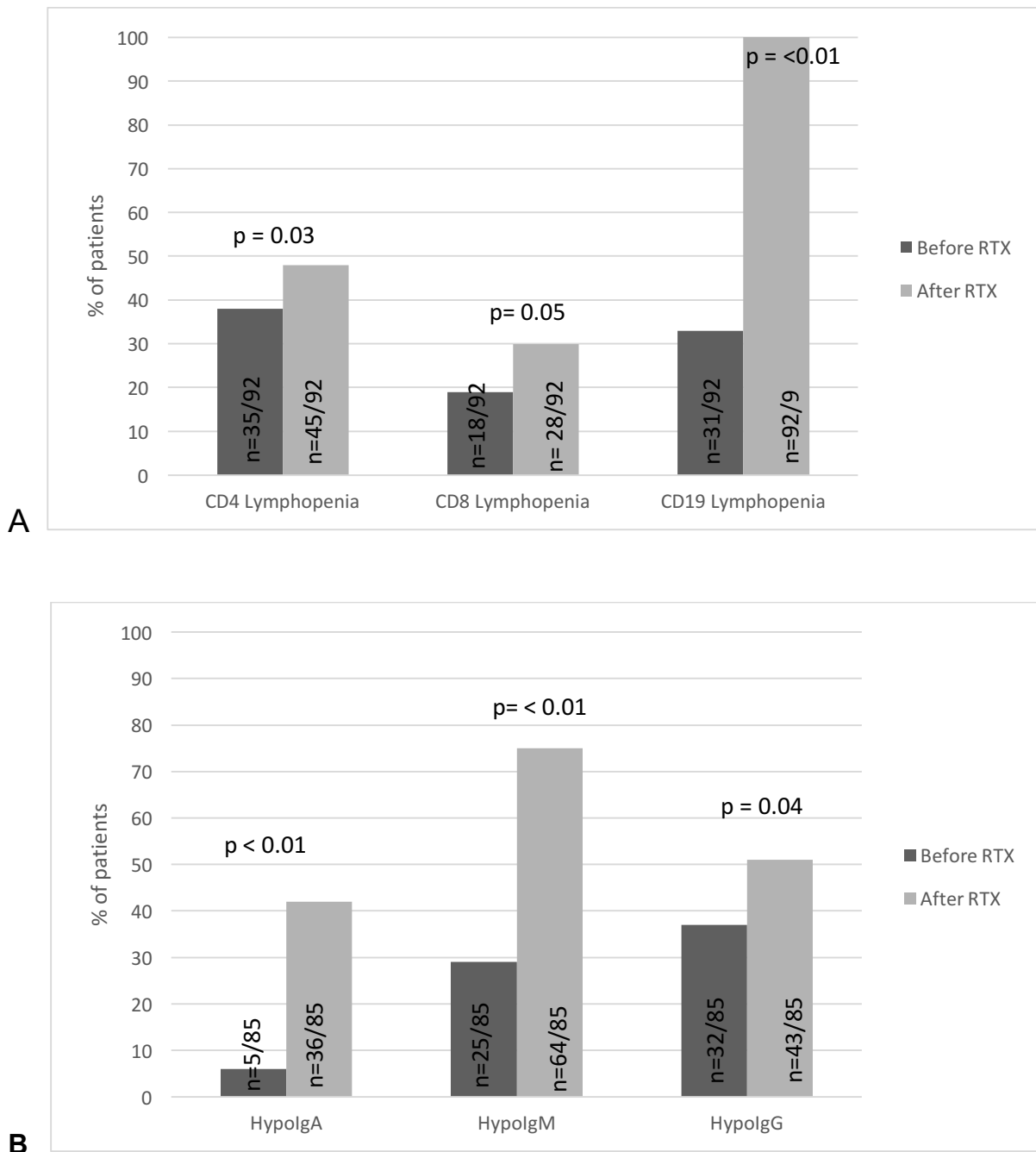
M0-M6 = immune data from 1<sup>st</sup> month after last RTX injection to 6 months after last RTX injection,

M6-M12 = immune data between 6 and 12 months after the last RTX injection,

M12-M18 = immune data between 12 and 18 months after the last RTX injection.

M18-M24 = immune data between 18 and 24 months after the last RTX injection,

After M24 = immune data more than 24 months after the last RTX injection



**Figure 4.** Comparison of lymphopenia and hypogammaglobulinemia frequency before and after RTX treatment in patients with pre-RTX and post-RTX immune data available

- (A) Comparison of lymphopenia frequency before and after RTX treatment in patients with pre-RTX and post-RTX immune data available \*
- (B) Comparison of hypogammaglobulinemia IgA, IgM and IgG frequency before and after RTX treatment in patients with pre-RTX and post-RTX immune data available \*\*

\* Percentage of patients with lymphopenia after RTX was compared to the same percentage before treatment in the 92 patients with both pre and post-therapy available data.

\*\* Percentage of patients with hypogammaglobulinemia after RTX was compared to the same percentage before treatment in the 85 patients with both pre and post-therapy available data.

## 6. Association of lymphopenia and hypogammaglobulinemia with severe infection

Since hypogammaglobulinemia and lymphopenia were significantly more frequent after RTX treatment, especially in the first 12 months, we checked whether there was an association of these modifications of immune status with severe infection and their timing. The association between severe infection within 24 months and post-RTX immune status including all patients except those with pre-existing immune deficiency is shown in **Table 8**. In univariate analyses, patients with CD4, CD8 or CD19 lymphopenia and IgA hypogammaglobulinemia were significantly at higher risk of severe infection. Interestingly, IgG hypogammaglobulinemia was not associated to severe infection ( $p=0.08$ ).

When excluding oncology patients, severe infection was still associated with CD4 lymphopenia (66% vs 36%,  $p<0.01$ ), CD8 lymphopenia (44% vs 22%,  $p<0.01$ ) and IgA hypogammaglobulinemia (62% vs 37% ,  $p<0.04$ ) from treatment initiation to 1 year after treatment.

Since CD4, CD8 or CD19 lymphopenia and IgA hypogammaglobulinemia were associated with severe infection, we checked whether modification of Ig level and lymphopenia occurred before the severe infection. Of the 98 patients who had at least one severe infection within 24 months of the first RTX injection, 33 had immune data available prior to the first severe infection. Among these, 17 patients (51%) had IgG and 20 (61%) had IgA hypogammaglobulinemia before the first severe infection. Moreover, 31 patients (94%) had CD19 lymphopenia, 26 (79%) had T-CD4 and 20 (61%) had T-CD8 lymphopenia before the first severe infection.



**Table 8.** Association between post-RTX severe infection within 24 months (including all patients except pre-RTX immune deficiency) and post-RTX immune status

	Severe infection, N=90		Without severe infection, N=112		p
	n (%)	Missing data	n (%)	Missing data	
<b>Total (during and after treatment)</b>					
CD4 lymphopenia	45 (66.2)	22	36 (36)	12	<0.01
CD8 lymphopenia	30 (44.1)	22	22 (22)	12	<0.01
HypolgA	42 (61.8)	22	31 (36.5)	27	<0.01
HypolgM	53 (77.9)	22	59 (69.4)	27	0.26
HypolgG	35 (51.5)	22	32 (37.6)	27	0.08
<b>During RTX treatment</b>					
CD19 lymphopenia	38 (97.4)	51	68 (97.1)	42	0.9
CD4 lymphopenia	25 (67.6)	53	26 (38.8)	45	0.01
CD8 lymphopenia	16 (43.3)	53	17 (25.4)	45	0.06
HypolgA	37 (64.9)	33	21 (31.3)	45	<0.01
HypolgM	46 (80.7)	33	45 (67.1)	45	0.1
HypolgG	27 (47.3)	33	24 (35.8)	45	0.2
<b>0m-6m post-RTX</b>					
CD19 lymphopenia	54 (90)	30	75 (91.5)	30	0.8
CD4 lymphopenia	39 (65)	30	20 (24.7)	31	<0.01
CD8 lymphopenia	27 (45)	30	14 (17.3)	31	<0.01
HypolgA	36 (62.1)	32	25 (37.3)	45	<0.01
HypolgM	45 (77.6)	32	49 (73.1)	45	0.6
HypolgG	23 (39.7)	32	24 (35.8)	45	0.6
<b>6m-1a post-RTX</b>					
CD19 lymphopenia	32 (61.5)	38	48 (77.4)	50	0.07
CD4 lymphopenia	21 (44.7)	43	14 (24.1)	54	0.03
CD8 lymphopenia	13 (27.7)	43	8 (13.8)	54	<0.01
HypolgA	35 (64.8)	36	25 (41.7)	52	0.01
HypolgM	41 (75.9)	36	42 (70)	52	0.5
HypolgG	27 (50)	36	24 (40)	52	0.2

## 7. Ig supplementation

Ig supplementation significantly reduced the rate of patients with IgG hypogammaglobulinemia (in patients with available before-and-after data, 21/43 (49%) vs 6/43 (14%),  $p < 0.01$ ). The characteristics of this supplementation and its impact on hypogammaglobulinemia are shown in **Table 9**.

**Table 9.** Characteristics of patients with Ig supplementation

	n (%)	Missing data
<b>IgIV supplementation, n (%)</b>	71 (33.8)	0
<b>Duration of Ig supplementation in months, mean (SD)</b>	14.9 (14.1)	13
<b>Diagnostic category supplemented population, (n%)</b>		
Hematological malignancies	4 (5.6)	
Non-malignant hematology	10 (14)	
Autoimmune disease	9 (12.7)	
Nephrology	20 (28)	
Post-transplant	21 (29.5)	
EBV infection	7 (9.8)	
<b>Cause of supplementation, n(%)</b>		
Hypogammaglobulinemia	36 (50)	
Risk of infection	12 (17)	
Recurrent infections	12 (17)	
Service protocol	11 (15)	
<b>Reason for stopping supplementation, n(%)</b>		
Risk exit	44 (61.9)	
Stop RTX	21 (29.5)	
Death	5 (7)	
Adverse effects	2 (2.8)	
<b>Hypogammaglobulinemia during IgIV supplementation, n (%)</b>		14
IgA	18 (31.6)	
IgM	33 (57.8)	
IgG	11 (19)	
<b>Time of initiation of Ig supplementation compared to:</b>		2
1st RTX injection in months, mean (SD)	2 (26.8)	
Last RTX injection in months, mean (SD)	-11.5 (26.3)	

#### d. Discussion

Our study recorded infectious complications and the evolution of immune data (Ig and Ly levels) of 210 patients receiving RTX for all indications. Half (49.5%) of the patients presented 310 early severe infections, within a mean delay of 1 month. The incidence rate of severe infections in the first year was 1.17 per patient per year. In multivariate analysis, risk factors for post-RTX severe infection within 24 months of treatment were a history of bacterial infection in the 6 months preceding the start of RTX (OR 4.5 [1.9;10.2],  $p < 0.01$ ) and chemotherapy associated with RTX (OR 16.2 [4.8;54.3],  $p < 0.01$ ). The frequency of all classes of hypogammaglobulinemia and of B, T-CD4 and T-CD8 lymphopenia increased significantly after RTX treatment. IgA hypogammaglobulinemia and T-CD4 and T-CD8 lymphopenia after RTX treatment were risk factors of severe infection ( $p < 0.01$ ).

##### 1. Infections, incidence, and risk factors for infection

This study confirms the existence of a real and early risk of infection under RTX treatment: on average, a patient had 2.27 infections and 1.49 severe infections after RTX. As reported in the literature, infections were mainly bacterial when documented (65%) and concerned, in rank order, febrile aplasia, pulmonary infections, ENT infections, bacteremia, digestive tract, skin and urinary tract infections. These types of infections are found in studies describing severe post-RTX infections (1, 24, 45, 46), probably because of their usual frequency in the age group of RTX indications and the effect of RTX on bacterial infections. In our study, only 17 cases (3%) of fungal

infections were described, in particular with *Candida albicans*, which is also described in the literature (reported frequency between 0 and 2%) (14, 27, 32).

In our study, the majority (65%) of infections occurred during the first 10 months, with the risk of infection persisting for up to 5 years. The incidence rate of severe infections in the first year was 1.17 per patient per year. Other pediatric studies show a high prevalence of infections after RTX treatment for all indications, ranging from 18% to 48% of patients (1, 24). In pediatric cohorts, the incidence rate of severe infections varies from 7 per 100 patient-years for patients treated for lupus to a rate of 31 severe bacterial infections per 100 patient-years in a study of patients at very high risk of infection (post-transplant lymphoproliferative disease) (1, 47, 48).

In our study, risk factors for severe infection in univariate analysis were diagnostic category, digestive comorbidity, CD4, CD19 lymphopenia, IgM hypogammaglobulinemia, bacterial or viral infection within 6 months, young age at first RTX injection, and chemotherapy associated to RTX treatment. In the literature, risk factors for infections under RTX remain similar to our study's, concerning the patient's condition, the indication for treatment, and pre-treatment immune changes such as hypogammaglobulinemia. Mc Attee et al. (1) demonstrated that the oncological indication, the presence of neutropenia and Ig supplementation were linked to severe infection and in the study of Labrosse et al. (24), the presence of pre-RTX hypo-IgA and/or pre-RTX hypo-IgM were significant risk factors of infection. In our study, the frequency of severe infections varied greatly according to the indications for RTX, and occurred particularly in oncology patients, post-transplant or in case of EBV infection, and less in patients receiving RTX in the context of autoimmune or nephrological pathology, as in the literature (19, 44, 49, 50).

In multivariate analysis, a history of bacterial infection within 6 months before RTX (OR 4.5 [1.9 ; 10.2],  $p < 0.01$ ) and chemotherapy associated with RTX (OR 16.2 [4.8 ; 54.3],  $p < 0.01$ ), but not underlying indication, emerged as risk factors for severe infection, even after excluding oncology patients. The significant association between bacterial infection prior to the first RTX injection and the occurrence of severe infection is quite interesting, and could be the link between pre-RTX and post-RTX immune dysfunction leading to severe infection. Indeed, the only study to our knowledge that also observed this association was the cohort study by Barmettler et al. (51) of adults receiving RTX for any indication, with patients who had a bacterial infection prior to RTX having 4.16 times the risk of post-RTX infection. The association between severe infection before and after treatment has also been demonstrated in other contexts of immunodepression, notably in adults receiving liver transplantation (52), chemotherapy (53) or hematopoietic stem-cell transplantation (54). This association shows that the immune status prior to RTX, but above all the ability of the system to respond to infections is important in determining the impact of RTX on the immune system and the infectious risk under treatment (24, 45). First, this pre-RTX immune dysfunction is reflected in our study in the immune data for the 6 months prior to RTX initiation: 49% of patients had IgG hypogammaglobulinemia and 30% had B lymphopenia. Pre-RTX immune dysfunction is seen, for example, in lymphoma patients who have impaired immune regulation prior to initiation of any treatment that conditions infectious complications, particularly fungal infections (55-57). In patients with nephrotic syndrome, urinary loss of IgG, reduction in opsonizing factors, and decrease in complement factors B and D may favor pre-treatment infections (34, 45, 58). Second, this immune dysfunction may also be attributed to the underlying disease: indeed, patients treated for autoimmune disease have a higher risk of immune

deficiency, and this may be discovered with the use of immunosuppressive or corticosteroid treatments prior to RTX injection (1, 25, 27, 34, 59, 60, 61). Third, RTX treatment reduces the ability of humoral immunity to respond adequately not only to new antigens, but also to antigens already encountered by the sufferer (27); patients on RTX have poorer responses to booster vaccinations (62, 63). This inadequate humoral response exists even in the absence of associated hypogammaglobulinemia (62). This is probably due to the reduced quantities of memory B cells after treatment, and reduced LyB turnover from the memory B cell pool, which can lead to severe infection even in a patient who has already encountered the antigen (27). Overall, the existence of a severe infection prior to RTX treatment may therefore reflect immune dysfunction and an inadequate humoral immune response that will worsen under RTX treatment, or be linked to the occurrence of resistant or virulent germs in the respiratory or digestive flora, which may become virulent again in the context of an inadequate immune response under RTX (27, 54). This possibility must therefore be considered when assessing the risk of infection with RTX, particularly in cases of associated and documented hypogammaglobulinemia or lymphopenia.

## 2. Impact of RTX in immune status

This study confirms the onset and/or aggravation of significant hypogammaglobulinemia under RTX treatment for all three gammaglobulin classes, particularly IgM (29% vs. 75%,  $p < 0.01$ ). The main hypothesis to explain the preferential IgM involvement is that RTX preferentially destroys naive perifollicular (IgM+, IgD+, CD27-) and uncommutated splenic marginal zone B cells (IgM+, IgD+, CD27+), both of which are direct precursors of IgM-producing cells (64, 65, 66). Fifty percent (76) of

patients developed IgG hypogammaglobulinemia after treatment, a rate similar to that found in pediatric studies (1, 14, 24, 34, 45, 50). IgG and IgA appear to be less depressed under RTX due to their partial production by long-lived CD20-negative plasma cells (67) produced in the T-dependent germinal center pathway. In addition, mucosal B cells, particularly IgA+ plasmoblasts, are self-sufficient and do not require the participation of RTX-affected peripheral blood CD20+ B cells for regeneration (68). In our study, systemic corticosteroid therapy in 156 (74%) of patients before RTX and 153 (73%) of patients after RTX may have increased the prevalence of IgG hypogammaglobulinemia pre and post RTX (69, 70).

To assess whether this outbreak of hypogammaglobulinemia was linked to occurrence of severe infection, as discussed recently in literature (24, 45), we analyzed the association between the occurrence of severe infection and all classes of hypogammaglobulinemia over different time points after RTX treatment. We found no significant association but a tendency between IgG hypogammaglobulinemia post-RTX and the occurrence of severe infection (51% vs. 37%,  $p=0.08$ ). Interestingly, we showed that among with available immune data, IgG hypogammaglobulinemia occurred prior to the first severe infection (20/33 patients, 60%). In the study by Labrosse et al (24), patients with post-RTX hypogammaglobulinemia were at greater risk of post-RTX infection, and younger age seems to increase this risk (45). In our study, 71 (33.8%) patients were supplemented with Ig for a mean duration of 15 months. Ig supplementation significantly reduced the rate of IgG hypogammaglobulinemia and could have therefore probably reduced the real incidence of post-RTX IgG hypogammaglobulinemia but also exert an immunomodulatory effect, which may explain the lack of association found between post-RTX IgG hypogammaglobulinemia and the occurrence of severe infection.

Although IgM was the most frequently lowered Ig in our study, post-RTX IgM hypogammaglobulinemia was not associated with an increased risk of severe infections in univariate analysis ( $p=0.26$ ), as found in other studies (24, 51, 71).

Our study also analyzed levels of CD19 B-cells, T-CD4 and T-CD8 lymphopenia after RTX treatment. In the pediatric literature, the kinetics of recovery of normal B-cell levels after RTX treatment lasts between 6 and 12 months, and appears to vary according to age and indication (1, 24, 34, 64, 72, 73). The study by Launspach et al. (50) comparing patients who received RTX after hematopoietic stem cell transplantation with patients who did not received RTX, showed that RTX significantly delayed LyB recovery by a median of 162 days. In our study, the mean duration of cumulative B depletion was 26.6 months ( $\pm 21.4$ ) and appears comparable to the duration in the literature (1, 45, 74).

Our study provides rare data on the impact of RTX on cellular immunity. Indeed, we observed that T-CD4 and/or T-CD8 lymphopenia before RTX treatment increased significantly the risk of severe infection in univariate analysis ( $p<0.01$ ). Moreover, RTX treatment had a significant impact on cellular immunity with a decrease in T-CD4 (38% vs. 49%,  $p=0.03$ ) and T-CD8 lymphocytes levels (19% vs. 30%,  $p=0.05$ ) after treatment, increasing the risk of severe infection ( $p<0.01$ ). To our knowledge, this is the first study to demonstrate an impact of RTX on T-CD4 and T-CD8 lymphopenia in children. The study by Stabler et al. (75) in adults receiving RTX for autoimmune disease showed a similar trend: patients with severe infections had significantly lower T-CD4 counts before RTX treatment. In fact, thanks to the B7/CD28, CD40/CD40 ligand and OX40 ligand/OX40 molecules expressed on the surface of B and T cells, B lymphocytes send costimulatory signals to T cells which lead to the activation of Th1



cells and determine the primary expansion of T-CD4 cells (28, 75-77). RTX could hamper this B-T cell communication, decreasing costimulation of T-cells and enhancing severe infection.

### 3. Strengths and limitations

Our study is one of the first to provide data on risk factors for infection with RTX for all indications, including immune monitoring data before and up to one year after treatment. The number of data collected was large, thanks to a ten-year collection period in a large university hospital. Moreover, although our data collection was retrospective, the available data on immune follow-up before RTX treatment and in the year following the last injection were substantial and superior to those observed in the literature (1, 51). These data enabled us to show, to our knowledge for the first time in a pediatric cohort, a 4.5-fold increase in the risk of infection in the event of bacterial infection in the 6 months prior to RTX initiation and a significant impact of RTX on T-CD4 and T-CD8 lymphopenia.

Our study has several limitations. First, retrospective data collection may have led to systematic selection and classification biases. For example, data concerning infections, particularly non-severe ones, may have been missed if not processed in the electronic records. Furthermore, the heterogeneity of indications in our cohort means that the described effects of RTX can be observed in practice on patients with different debilitated backgrounds and can be secondary to acquired or treatment-induced immunodepression, notably because of treatments associated with RTX. To compensate for this heterogeneity, we secondarily analyzed the risk factors for

infection in patients receiving RTX outside the oncological indication, because of the preponderant role of chemotherapy. Patients with pre-RTX immune deficiency were also excluded.

e. Conclusion

Although little studied, particularly among children, the risk of infection under RTX is real, severe and early, with an incidence rate of 1.17 per patient per year. Particular attention should be paid to patients with bacterial infection within 6 months before the starting of RTX, being a major risk factor of severe infection under RTX, probably linked to pre-RTX immune dysfunction. RTX treatment also induces the onset and/or aggravation of significant hypogammaglobulinemia and T-cell lymphopenia, aggravating pre-existing immune dysfunction and enhancing risk of severe infection. Close immunomonitoring of children receiving RTX is necessary in order to detect patients most at risk of infection or underlying immune deficiency. Prospective studies on the risk of infection under RTX and recommendations for infection prevention from scientific societies are needed.

### III. Discussion

Notre étude a recensé les complications infectieuses et le statut immunitaire chez 210 patients recevant du RTX toutes indications confondues, afin d'étudier les facteurs de risque constitutionnels et immunitaires d'infections sévères sous RTX et d'évaluer le retentissement de ce traitement sur le système immunitaire.

Dans notre étude, 49,5% des patients présentaient 310 infections sévères précoces, avec un délai moyen de 1 mois. Le taux d'incidence des infections sévères était de 1,17 par patient et par an au cours de la première année et de 0,48 au cours de la deuxième année. En analyse multivariée, les facteurs de risque d'infection sévère post-RTX étaient un antécédent d'infection bactérienne dans les 6 mois avant l'initiation du traitement et une chimiothérapie associée au traitement. La fréquence de l'hypogammaglobulinémie IgA, IgM et IgG ainsi que de la lymphopénie T CD4/CD8 augmentait significativement après traitement par RTX. Il existait une association significative entre l'atteinte immunitaire post-RTX, notamment l'hypogammaglobulinémie IgA et la lymphopénie B, T-CD4 et T-CD8 dans les 12 premiers mois post-RTX et la survenue d'infection sévère.

#### A. Infections et facteurs de risque d'infection post-Rituximab

Cette étude met en évidence l'existence d'un risque infectieux secondaire au RTX réel et précoce : en effet, 70% des patients présentaient au moins une infection post-RTX et 49% au moins une infection sévère, avec en moyenne 2,27 infections et 1,49 infections sévères par patient. La majorité (65%) des infections survenaient

durant les 10 premiers mois, avec un risque infectieux persistant jusqu'à 5 ans après le début du traitement.

### 1. Type d'infection

Comme rapporté dans la littérature, en dehors des infections non documentées, l'origine bactérienne était majoritaire (28%) et concernaient dans l'ordre de fréquence des aplasies fébriles suspectées bactériennes, pneumopathies, infections ORL, bactériémies, infections digestives, cutanées et urinaires. Ces types d'infections sont retrouvées dans les études décrivant les infections sévères post-RTX (1, 24, 45, 46), probablement en raison de leurs fréquences habituelles dans la tranche d'âge d'indication du RTX, aggravées par le terrain d'immunodépression associé et l'effet propre du RTX. Ces infections étaient sévères dans 66% des cas et conféraient un risque vital non négligeable avec 7% de réanimation et 3,8% (8 patients) de décès attribuables à l'infection. Les décès par infection survenaient néanmoins chez des patients à terrain fortement débilité (quatre patients décédaient d'infection post- greffe de moelle et deux patients dans un contexte oncologique).

De manière intéressante et de façon similaire aux autres études de cohorte (14, 25, 45), aucune pneumocystose n'était retrouvée, et les patients bénéficiaient dans 53% des cas d'une antibioprophylaxie par Sulfaméthoxazole-Triméthoprim. Cependant deux cas d'infections à germes opportunistes ont été observés : 1 cas d'infection pulmonaire à *Stenotrophomonas maltophilia*, 1 cas d'infection pulmonaire à *Acinetobacter baumannii*. Dans notre étude, 17 cas d'infections fongiques ont été décrits (3%) en particulier à *Candida albicans*, ce qui est également décrit dans la littérature (entre 0 et 2%). En effet, les complications fongiques sont décrites

majoritairement dans les cohortes se focalisant sur les lymphomes ou chez les adultes, où la fréquence peut atteindre 10%, avec notamment des aspergilloses (14, 27, 32).

## 2. Fréquence des infections

D'autres études pédiatriques sur des patients recevant du RTX toutes indications confondues retrouvaient une prévalence élevée d'infection après traitement par RTX. Dans l'étude de Labrosse et al. (24), 23,7% des patients présentaient au moins une infection sévère au décours de la première année post-RTX. Dans l'étude de Mc Atee et al. (1), 48% des patients présentaient une infection dans les 2 ans et 18% des patients présentaient une infection sévère. Dans l'étude de cohorte multicentrique américaine de Kavcic et al. (14) sur 2875 enfants recevant du RTX toutes indications confondues, 79% des patients souffraient d'au moins une complication infectieuse dont 6,1% de septicémie et 2% de choc septique.

Ces infections surviennent de manière précoce, puisque le taux d'incidence des infections sévères dans notre étude était de 1,17 par patient et par an au cours de la première année et de 0,48 au cours de la deuxième année. Dans les cohortes spécifiques pédiatriques, le taux d'incidence des infections sévères varie entre un taux le plus faible à 7 pour 100 patients-années pour des patients traités pour un lupus (47) et un taux de 31 infections bactériennes sévères pour 100 patient-années dans une étude monocentrique étudiant exclusivement les patients à très haut risque infectieux (maladie lymphoproliférative post-transplantation) (48). Ces auteurs rapportent un sur-risque 4 fois plus élevé entre les patients qui recevaient du RTX et ceux sans RTX pour la même indication. La seule étude pédiatrique toutes indications confondues rapportant un taux d'incidence des infections sous RTX est celle de Mc Atee et al. (1) qui retrouve un taux de 64 infections pour 100 patients-années, avec 13 infections

sévères pour 100 patients-années avec une majorité des infections survenant dans les 12 premiers mois.

### 3. Facteurs de risque d'infection sévère sous Rituximab

En analyse univariée, les facteurs de risque d'infection sévère avant l'initiation du traitement étaient l'indication du RTX, la présence d'une comorbidité digestive, d'une lymphopénie CD4 ou CD19, d'une hypogammaglobulinémie IgM, d'une infection bactérienne ou virale dans les 6 mois avant l'instauration du RTX et un âge jeune à la 1<sup>ère</sup> injection de RTX. Les facteurs de risque d'infection sévère significatifs après l'instauration du RTX étaient un antécédent d'infection bactérienne dans les 6 mois avant l'initiation du traitement et une chimiothérapie associée au traitement.

Dans la littérature, les facteurs de risque d'infection sous RTX restent similaires à ceux de notre étude : le terrain, l'indication du traitement, et des modifications immunitaires avant traitement comme une hypogammaglobulinémie.

Dans notre étude, les infections sévères survenaient particulièrement chez les patients oncologiques, post-greffe ou dans le cadre d'une infection à EBV et moins chez les patients recevant du RTX dans le cadre d'une pathologie auto-immune ou néphrologique. Néanmoins, l'indication sous-jacente n'était pas un facteur de risque d'infection sévère en analyse multivariée. La fréquence des infections post-RTX chez l'enfant dans la littérature varie grandement en fonction des indications du RTX : ce taux semble bas aux alentours de 10% chez les patients qui en reçoivent dans le cadre d'une pathologie neurologique (49) ou dans le cadre d'une arthropathie juvénile idiopathique (19) ou aux alentours de 20% dans le cadre d'un syndrome néphrotique (35, 77). Il semble plus élevé aux alentours de 60% quand il est donné dans le cadre

d'une greffe de moelle osseuse (50) ou de 100% dans le cadre d'un lymphome (44).

Concernant les données disponibles chez l'adulte, les facteurs de risque d'infection retrouvés dans l'analyse du registre AIR (Research Aged on Tolerance of Biotherapies) (46) qui suit des adultes recevant du RTX dans le cadre de maladies auto-immunes retrouvait comme facteur de risque d'infection sévère une comorbidité cardiaque ou pulmonaire et une atteinte extra-articulaire de la polyarthrite rhumatoïde. L'étude de Barmettler et al. (51) retrouvait comme facteur de risque d'infection le sexe masculin, l'indication oncologique ou rhumatologique, l'existence d'une infection dans les 6 mois avant RTX et l'hypogammaglobulinémie IgG avant et après RTX. Mariette et al. (46) montrait que la présence d'une hypogammaglobulinémie IgG avant RTX augmentait de 3,9 fois le risque de développer une infection sévère dans les 12 mois post-RTX chez l'adulte.

Concernant les études pédiatriques, les facteurs de risque d'infection chez l'enfant étaient, dans l'étude de Mc Atee et al. (1), la présence d'une neutropénie, l'indication oncologique et la supplémentation en Ig ; dans l'étude de Kavcic et al. (14), l'indication sous-jacente, avec un sur-risque chez les patients ayant un déficit immunitaire ou en post-transplantation et dans l'étude de Labrosse et al. (24) l'hypo-IgA pré-RTX et une l'hypo-IgG pré-RTX.

Dans notre étude, en analyse multivariée, seules la chimiothérapie et l'infection bactérienne avant traitement sont des facteurs de risque d'infection sévère post-RTX toutes indications confondues. Cependant, de manière intéressante, ces variables persistent en tant que facteurs de risque après avoir exclu les patients oncologiques. La chimiothérapie associée au RTX reste donc prépondérante dans le risque d'infection sévère (78).



#### 4. Un nouveau facteur de risque : l'infection bactérienne dans les 6 mois avant Rituximab

De manière intéressante, nous retrouvons une association significative entre l'existence d'une infection bactérienne avant la première injection de RTX et la survenue d'infection sévère, les patients ayant subi une infection bactérienne avant RTX ayant 4,16 fois plus de risque d'infection post-RTX ( $p < 0,01$ ).

La seule étude à notre connaissance qui a également observé cette association est l'étude de cohorte de Barmettler et al. (51) sur 8633 adultes recevant du RTX toutes indications confondues : les patients ayant présenté une infection dans les 6 mois avant RTX avaient 4,77 fois plus de risque de présenter une infection sévère post-traitement. L'association entre infection sévère avant traitement et sous traitement a également été démontrée dans d'autres contextes, notamment d'immunodépression. Dans une étude chinoise sur 210 adultes recevant une greffe de foie, le risque d'infection post-transplantation était significativement augmenté si, dans les deux semaines précédant la transplantation, le patient présentait une infection ou une pneumonie, même si celle-ci était guérie et contrôlée (52). Une étude chez 240 adultes atteints de lymphome non hodgkinien montrait que le risque de neutropénie fébrile au cours du 1<sup>er</sup> cycle de chimiothérapie était significativement augmenté en cas d'infection récente (53). De même, une étude sur des adultes en cours de greffe de cellules souches hématopoïétiques montrait qu'une bactériémie ou une colonisation à une bactérie Gram négative résistante pré-greffe étaient significativement associées à un risque accru de bactériémie post-greffe par le même pathogène (54).

Cette association montre que le statut immunitaire avant RTX, mais surtout la capacité de ce système à répondre aux infections est importante pour déterminer quel sera le retentissement du RTX sur le système immunitaire. Une infection dans les

6mois précédant le traitement par RTX peut être interprétée comme un marqueur de réponse immunitaire inadéquate (24, 45).

Cette dysfonction immunitaire pré-RTX se retrouve dans notre étude dans les données immunitaires dans les 6 mois avant l'instauration du RTX : 49% des patients qui avaient un dosage disponible présentaient une hypogammaglobulinémie IgG, 42% une lymphopénie T-CD4, 25% une lymphopénie T-CD8 et 30% une lymphopénie B.

La dysfonction immunitaire pré-RTX se retrouve, par exemple, chez les patients atteints de lymphome qui ont une modification de leur régulation immunitaire avant l'initiation de tout traitement (55) : en effet, leur profil cytokinique au diagnostic conditionne les complications infectieuses, notamment fongiques (56). Chez les patients avec un syndrome néphrotique, il y a souvent une perte d'IgG par voie urinaire avant traitement provoquant une hypogammaglobulinémie pré-existante au RTX mais également une diminution des facteurs opsonisants et des facteurs B et D du complément pouvant favoriser les infections avant traitement (45). Chez les adultes avec une vascularite à ANCA, la lymphopénie B au début du traitement est corrélée à une diminution de l'immunocompétence du patient : les patients en rechute ont un nombre de LyB significativement plus bas avant traitement, ce qui est un facteur de risque d'infection sévère (79).

Cette dysfonction immunitaire peut aussi être attribuée à la maladie sous-jacente : en effet, les patients traités pour une maladie auto-immune sont plus à risque de déficit immunitaire et celui-ci peut être découvert avec l'utilisation de traitements immunosuppresseurs ou de corticoïdes avant l'injection de RTX (1, 25, 27, 34, 59, 60, 61).

De plus, le traitement par RTX diminue la capacité de l'immunité humorale à

répondre de façon adéquate non seulement à des nouveaux antigènes mais également à des antigènes déjà rencontrés par l'individu (27) ; les patients sous RTX ont en effet de moins bonnes réponses au rappel vaccinal (62). Chez les enfants greffés rénaux, le RTX augmente de 4,26 fois le risque de perte des anticorps vaccinaux présents avant la greffe (63). Cette réponse humorale inadéquate existe même en l'absence d'hypogammaglobulinémie associée (62), probablement en raison de la diminution des quantités de cellules B mémoires après traitement, d'un réapprovisionnement diminué de LyB à partir du pool de cellules B mémoires, pouvant entraîner ainsi une infection sévère même chez un patient ayant déjà rencontré l'antigène (27).

L'existence d'une infection sévère avant traitement par RTX peut donc être le reflet d'une dysfonction immunitaire et d'une réponse immunitaire humorale inadéquate qui va s'aggraver sous traitement par RTX ou être liée au portage de germes résistants ou virulents dans la flore respiratoire ou digestive, pouvant devenir à nouveau virulents dans le contexte de réponse immunitaire inadaptée sous RTX (27, 54). Elle est donc à considérer pour évaluer le risque infectieux sous RTX notamment en cas de jeune âge.

B. Evolution du taux d'immunoglobulines post-RTX, lien entre hypogammaglobulinémie et infection et supplémentation en Ig

Cette étude confirme l'apparition d'une hypogammaglobulinémie significative sous traitement par RTX pour les trois classes de gammaglobulines : les IgM (29% vs 75%,  $p < 0.01$ ), les IgA (6% vs 42%,  $p < 0,01$ ) et les IgG (37% vs 51%,  $p = 0,04$ ).

52% des patients avaient des données immunitaires disponibles avant l'initiation du traitement par RTX et 73% après l'instauration du RTX. L'hypogammaglobulinémie IgA post-RTX représentait un facteur de risque d'infection sous RTX en analyse univariée. Il y avait une tendance sans d'association significative entre l'hypogammaglobulinémie IgG post-RTX et la survenue d'infection sévère (51% vs 37%,  $p = 0,08$ ).

Sur les 52 patients qui disposaient de données immunitaires disponibles plus de 12 mois après la dernière injection de RTX, 17 (14%) présentaient une hypogammaglobulinémie IgG persistante. Soixante-et-onze patients (33,8%) étaient supplémentés en Ig.

1. Hypogammaglobulinémie

*a. Hypogammaglobulinémie IgM*

Un total de 77% ( $n = 117$ ) des patients développaient une hypogammaglobulinémie IgM après traitement, ce qui en fait l'immunoglobuline la plus fréquemment abaissée après RTX dans notre étude.

Dans les études sur population adulte recevant du RTX dans le cadre d'une maladie auto-immune, la fréquence de l'hypogammaglobulinémie IgM après RTX variait entre 10% (80) et 58% (81) et augmentait avec le nombre de doses (80).

Les IgM étaient la classe d'immunoglobuline la plus appauvrie comparativement aux IgG et IgA. Dans l'étude de cohorte rétrospective américaine Mc Atee et al. (1), parmi les enfants qui présentaient un taux d'immunoglobuline normal avant traitement, 41% présentaient une hypogammaglobulinémie IgM après traitement.

L'hypothèse principale pour expliquer l'atteinte préférentielle des IgM est que le RTX détruit préférentiellement les cellules B naïves péri-folliculaires (IgM+, IgD+, CD27-) et non commutées de la zone marginale splénique (IgM+, IgD+, CD27+), qui sont toutes deux des précurseurs directs des cellules productrices d'IgM (64, 65, 66). Reddy et al. (64) montrait une fréquence des cellules B non commutées (IgD+CD27+) significativement plus faible chez les patients ayant développé un faible taux d'IgM après le RTX.

#### *b. Hypogammaglobulinémie IgA*

L'IgA est l'immunoglobuline la moins souvent appauvrie après RTX (64, 80-83). 72 (47%) patients de l'étude présentaient une hypogammaglobulinémie IgA post-RTX. Dans l'étude de Labrosse et al. (24) sur 207 enfants recevant du RTX toutes indications confondues, 20% des patients présentaient une hypogammaglobulinémie IgA post-RTX.

#### *c. Hypogammaglobulinémie IgG*

Dans notre étude, 76 (50%) présentaient une hypogammaglobulinémie IgG après traitement par RTX. La littérature récente souligne l'apparition sous RTX d'une

hypogammaglobulinémie IgG ou son aggravation en cas d'hypogammaglobulinémie préexistante (14, 24, 32, 34, 71).

Dans les études menées chez l'adulte, la fréquence de l'hypogammaglobulinémie IgG variait entre 5% (80) et 66% (82) et reste controversée avec une fréquence plus importante chez les patients recevant du RTX pour une cause oncologique que chez les patients en recevant dans le cadre d'une maladie auto-immune (51, 64, 80, 81). L'étude de Barmettler et al. (51) montrait que 19,3% des adultes qui avaient des taux normaux d'IgG avant traitement développaient une hypogammaglobulinémie modérée à sévère post-traitement, et l'hypogammaglobulinémie préexistante au traitement s'aggravait dans les 18 mois (51). La fréquence de l'hypogammaglobulinémie IgG augmentait avec le nombre de doses de RTX (72).

Concernant les données disponibles sur l'hypogammaglobulinémie post-RTX dans les études pédiatriques toutes indications confondues, Labrosse R. et al. (24) retrouvaient également une augmentation significative d'hypogammaglobulinémie IgG avant et après RTX (28,7% vs 42,6%,  $p=0,01$ ). Dans l'étude de Mc Atee et al (1), parmi les patients qui présentaient un taux d'immunoglobuline normal avant traitement, 23% des patients présentaient une hypogammaglobulinémie IgG après RTX.

Concernant les données disponibles en pédiatrie dans des indications précises, une étude monocentrique rétrospective sur 63 enfants recevant du RTX dans le cadre d'une maladie auto-immune retrouvait 44% d'hypogammaglobulinémie IgG secondaire, ce taux variait en fonction de l'indication avec un taux plus important si l'indication était une maladie auto-immune du système nerveux central ou une vascularite à ANCA (26). Dans une étude sur des enfants avec un syndrome néphrotique, 30% des patients qui avaient avec un taux d'IgG normal avant RTX

présentaient une hypogammaglobulinémie IgG au décours (45). L'âge inférieur à 10ans pendant le traitement par RTX était un des principaux facteurs de risque d'hypogammaglobulinémie IgG (58). L'étude de Launspach et al. (50) comparant des patients ayant reçu du RTX dans les suites d'une greffe de cellules souches hématopoïétiques à des patients n'en ayant pas reçu montrait que le RTX retardait significativement la récupération des IgG : les patients qui avaient reçu du RTX avaient des taux significativement plus bas d'IgG un an après la greffe que ceux qui n'en avaient pas reçu et nécessitaient des durées de supplémentation en Ig significativement plus longues. Dans l'essai clinique INTER-B-NHL-Ritux 2010, les patients recevant du RTX en plus de la chimiothérapie présentaient significativement plus de d'hypogammaglobulinémie IgG un mois après la fin du traitement que ceux qui avaient reçu de la chimiothérapie seule (36).

Différentes hypothèses physiopathologiques sont disponibles pour expliquer l'atteinte préférentielle des IgM comparativement aux IgG et IgA. D'une part, l'hypogammaglobulinémie IgG post-RTX peut s'expliquer par une diminution des plasmocytes circulants secondaire à une diminution du renouvellement du pool de LyB mémoires (62). D'autre part, les IgA et IgG sont principalement produites par les plasmocytes à longue durée de vie CD20-négatifs (67) produits dans la voie des centres germinaux T-dépendants. Comme les plasmocytes ne présentent pas de CD20 en surface, ils conservent leur capacité à produire des anticorps même après un traitement au RTX. Enfin, une étude chez l'adulte montre que les cellules B des muqueuses, en particulier les plasmoblastes IgA+ sont auto-suffisants et ne nécessitent pas la participation des cellules B CD20+ du sang périphérique affectées par le RTX pour régénérer (68).

## 2. Lien entre hypogammaglobulinémie et infection

Dans notre étude, concernant les classes de gammaglobulines, seule l'hypogammaglobulinémie IgA post-RTX représentait un facteur de risque d'infection sous RTX en analyse univariée. De manière intéressante, il y avait une tendance sans association significative entre l'hypogammaglobulinémie IgG et la survenue d'infection sévère (51% vs 37%,  $p=0,08$ ).

Dans la littérature, les patients avec une hypogammaglobulinémie post RTX semblent aussi être plus à risque d'infection. Dans l'étude de Labrosse et al (24), l'hypogammaglobulinémie IgG post-RTX était un facteur de risque d'infection sévère post-RTX. Dans l'étude de Parmentier et al. (45), les patients avec une hypogammaglobulinémie IgG qui présentaient au moins une infection post-RTX étaient significativement plus jeunes (6,5 ans vs 10,3 ans) que ceux avec une hypogammaglobulinémie n'ayant pas présenté d'infection (45). De manière contradictoire, dans l'étude de Inoki et al. (77) sur des enfants recevant du RTX dans le cadre d'un syndrome néphrotique, les infections sous RTX n'étaient pas en lien avec une hypogammaglobulinémie IgG dans 42,8% des cas et l'incidence des infections était similaire chez les patients présentant une hypogammaglobulinémie IgG et ceux n'en présentant pas. Dans cette étude, chez les patients ayant présenté une hypogammaglobulinémie IgG persistante après RTX, les infections survenaient en majorité (6/8) en dehors des périodes d'hypogammaglobulinémie IgG (77).

Dans notre étude, les infections sévères survenaient particulièrement au cours des 10 premiers mois, période durant laquelle les taux d'hypogammaglobulinémie IgG étaient les plus importants. De plus, chez les 33 patients avec des données immunitaires disponibles, 20 patients (61%) présentaient chronologiquement une



hypogammaglobulinémie IgG avant la survenue de première infection sévère. Néanmoins, une des explications à l'absence d'association significative entre la survenue d'infection sévère et l'hypogammaglobulinémie IgG post-RTX peut être liée à la supplémentation en Ig de 71 patients (33,8%) dans les 2 mois suivant l'injection de RTX, pouvant corriger les taux d'IgG. L'hypogammaglobulinémie IgA, retrouvée comme facteur de risque significatif dans notre étude, pourrait alors rester un reflet de la dysfonction immunitaire post-RTX, favorisant les infections sévères après traitement.

Bien que l'IgM soit l'Ig la plus fréquemment abaissée dans notre étude, l'hypogammaglobulinémie IgM post-RTX n'était pas associée à un risque augmenté d'infections sévères en analyse univariée ( $p=0,26$ ), comme retrouvé dans d'autres études (24, 51, 71). Cependant, de manière intéressante, l'hypogammaglobulinémie IgM avant traitement était un facteur de risque d'infection sévère post RTX en analyse univariée.

### 3. Supplémentation en Ig

Soixante-et-onze patients (33,8%) de notre étude étaient supplémentés en Ig et ce pour une durée moyenne de 14,9 mois. La moitié des patients étaient supplémentés dans le cadre d'une hypogammaglobulinémie avérée, 17% en raison d'un risque d'infection, 17% en raison d'infections à répétition et 15% en raison de protocoles de service.

Une supplémentation en Ig est souvent introduite lors d'épisodes d'hypogammaglobulinémie en raison du risque infectieux sous-jacent mais sans recommandation claire chez l'enfant. Dans notre étude, la supplémentation en Ig diminuait significativement le taux d'hypogammaglobulinémie IgG (21/43 (49%) vs

6/43 (14%),  $p < 0,01$ ), ce qui peut expliquer l'absence d'association retrouvée entre hypogammaglobulinémie IgG post-RTX et survenue d'infection sévère. De plus, la supplémentation en Ig n'était pas un facteur protecteur d'infection sévère en analyse univariée (OR=1,03 [0,5 ; 1,8],  $p=0,9$ ).

Cette donnée correspond probablement à un biais de sélection car, en l'absence de recommandations pédiatriques disponibles, les médecins prenant en charge les patients de notre étude supplémentaient probablement en Ig ceux étant les plus à risque d'infection (greffe, hypogammaglobulinémie persistante, cancer). Cette tendance se remarque dans les catégories diagnostiques supplémentées : 21/28 (75%) des patients greffés recevaient une supplémentation. Cette hypothèse se confirme dans l'étude de Barmettler et al. (51) où les patients supplémentés en Ig après RTX étaient plus à risque de présenter une infection grave dans les 12 mois après l'instauration du RTX. L'étude de Mc Atee et al. (1) retrouvait ce même sur-risque d'infection chez les 63% des patients supplémentés en Ig.

De plus, un biais de classement est possible car dans notre étude un patient était considéré comme supplémenté en Ig s'il recevait une supplémentation pendant au moins un mois et ce peu importe la durée du traitement par RTX. Cependant, certains patients avaient des durées de traitement par RTX de plusieurs années avec uniquement un an de supplémentation et ceux-là pouvaient présenter des infections liées à l'hypogammaglobulinémie en dehors des phases de supplémentation.

Les premières recommandations concernant le suivi immunologique et la supplémentation en Ig des patients sous RTX apparaissaient en 2019 sous la forme d'une recommandation d'experts par une méthode Delphi (84). Les experts préconisaient un phénotypage lymphocytaire et un dosage des Ig avant l'initiation du RTX, et un suivi mensuel jusqu'à un an après arrêt du traitement ou la normalisation

des CD19 en raison du décalage avec la normalisation des Ig. Selon ces experts, l'indication d'une supplémentation en Ig peut être posée en fonction de la sévérité de l'hypogammaglobulinémie, des infections sévères persistantes, inhabituelles ou récurrentes et une mauvaise réponse à l'antibioprophylaxie. L'hypogammaglobulinémie asymptomatique peut ne pas être supplémentée. Aucune recommandation n'existe actuellement concernant le suivi et la supplémentation en Ig des enfants sous RTX. Cependant, ces recommandations semblent peu suivies et la supplémentation en Ig semble être centre-dépendant comme le montre une étude européenne comparant les pratiques de 49 centres prenant en charge des enfants pour un syndrome néphrotique idiopathique : 19/28 des centres supplémentaient les patients qui présentaient une hypolg pré-RTX, 30/49 proposaient une supplémentation en IgIV prophylactique pendant le traitement par RTX et seulement 19/35 supplémentaient les hypolg persistantes post-RTX (85).

#### 4. Hypogammaglobulinémie persistante : un reflet de la dysfonction immunitaire post-RTX

L'hypogammaglobulinémie persistante reflète la dysfonction immunitaire post-RTX. Dans notre étude, sur les 52 patients qui disposaient de données immunitaire 12 mois après la fin du traitement, 17 (32%) présentaient une hypogammaglobulinémie IgG persistante, ce qui reflète la dysfonction immunitaire post-RTX. Malheureusement, le lien entre hypogammaglobulinémie persistante et infection sévère n'a pas pu être établi en raison d'un nombre trop important de données manquantes.

Cette fréquence élevée d'hypogammaglobulinémie persistante (20 à 30% des patients) est observée dans d'autres études pédiatriques où les facteurs de risque

semblent être une hypogammaglobulinémie IgG et/ou IgA avant traitement et un âge jeune (1, 24, 25, 34, 45).

Plusieurs hypothèses physiopathologiques ont été avancées pour expliquer ce phénomène d'hypogammaglobulinémie persistante post-RTX : d'une part, l'arrêt de la différenciation des cellules B naïves en cellules B mémoires après traitement par RTX, d'autre part, l'augmentation de l'apoptose des cellules B même après l'arrêt du traitement et enfin, l'altération de l'homéostasie des lymphocytes T par le RTX (25, 86, 87). Marzollo et al. (57) montraient un nombre significativement plus bas de LyB totaux, de cellules B marginales IgD+CD27+ et de cellules B mémoires commutées IgD- CD27+ chez les patients qui présentaient une hypolg persistante après RTX. Il existerait donc un dérèglement de la maturation des cellules B post-RTX. Launspach et al. (50) retrouvait une hypogammaglobulinémie IgG persistante chez 38% des patients recevant une greffe de cellules souches hématopoïétiques. Ces patients avaient présenté une réponse significativement plus rapide au traitement par RTX ; les auteurs suggèrent, pour ces patients, une sensibilité accrue au RTX et les qualifient, de manière intéressante de « *Prolonged B-cell damage* ».

## C. Lymphopénie post-Rituximab

### 1. Lymphopénie B post-Rituximab

#### a. Durée de la déplétion B

De manière similaire à la littérature, 97% des patients de notre étude présentaient une déplétion B après au moins une injection (45, 72, 73). La durée moyenne de déplétion B totale était de  $26,6 \pm 21,4$  mois et la durée moyenne de déplétion B pour les patients ayant eu une cure unique était de  $10,8 \pm 7,6$  mois. Plus de la moitié (57%) des patients normalisaient leur taux de LyB CD19+ circulants un an post-RTX.

Dans les autres études, la cinétique de récupération de Ly B après la dernière injection de RTX durait entre 6 et 12 mois (1, 24, 34, 64, 73). Dans une étude sur 30 enfants traités dans le cadre de cytopénies auto-immunes, les LyB étaient déplétés à 1 mois de l'injection et la déplétion durait entre 6 et 12 mois après la dernière dose de RTX, il n'y avait pas de différence significative entre les patients ayant reçu un schéma à dose unique ou à dose répétées de RTX (21). L'indication jouait également sur la durée de la reconstitution B : les patients recevant du RTX pour une indication maligne avaient une déplétion B plus longue que ceux recevant le RTX pour une indication auto-immune (1, 27). Dans l'étude de Mc Atee et al. (1) le délai moyen de normalisation des LyB après une cure unique de RTX était de 9 mois, ce taux était significativement plus long chez les patients atteints de lupus (15,3 mois) que chez les autres patients (9 mois). Dans l'essai clinique INTER-B-NHL-Ritux 2010, les patients recevant du RTX en plus de la chimiothérapie présentaient significativement plus de lymphopénie B un mois après la fin du traitement que ceux qui avaient reçu de la chimiothérapie seule (36). De façon similaire, Launspach et al. (50) montrait que le RTX après une greffe

de cellules souches hématopoïétiques retardait significativement la récupération des Ly B. A l'inverse, une étude sur une population similaire montrait que la reconstitution immunitaire des cellules B était plus lente chez les patients recevant du RTX mais aucune différence significative n'était observée à 3 mois post-greffe (88).

Concernant la durée cumulative totale de déplétion B sous RTX, l'étude de Parmentier et al. (45) retrouvait une durée totale de 20 mois, et une étude sur 22 enfants traités par RTX dans le cadre d'un syndrome néphrotique idiopathique retrouvait une durée totale de 26 mois (74).

#### b. Lien entre déplétion B et infection

Dans notre étude, comme pour l'hypogammaglobulinémie IgG, la lymphopénie B était maximale au cours de la première année post-RTX, période durant laquelle survenait la majorité des infections sévères. De plus, le taux de patients avec lymphopénie B augmentait significativement après RTX. Enfin, parmi les 33 patients qui disposaient de données immunitaires disponibles avant la première infection sévère, 31 (94%) présentaient une lymphopénie B avant leur première infection sévère. Dans l'étude de Takao et al. (35) sur des enfants recevant du RTX dans le cadre d'un syndrome néphrotique, le taux d'infection pendant la lymphopénie B avec immunosuppresseurs associés (318 pour 1000 personnes-années) était supérieur au taux d'infection sans lymphopénie B avec immunosuppresseurs (76 pour 1000 personnes-années).

## 2. Lymphopénie T post-Rituximab et infection

Notre étude fournit des données rares sur l'impact du RTX sur l'immunité cellulaire. Bien que ce traitement soit dirigé spécifiquement contre les cellules B, nous avons observé une diminution significative des lymphocytes T-CD4 (38% vs 49%,  $p=0,03$ ) et T-CD8 (20% vs 31%,  $p=0,05$ ) avant et après RTX. De plus, nous avons observé une augmentation significative du risque d'infection en analyse univariée en cas de lymphopénie CD4 et/ou CD8 avant et après traitement par RTX. Il s'agit à notre connaissance de la première étude démontrant ces effets en pédiatrie.

L'étude de Stabler et al. (75) sur des adultes qui recevaient du RTX dans le cadre d'une maladie auto-immune a montré une tendance similaire : les patients qui avaient présenté des infections sévères avaient des taux de Ly CD4 significativement plus bas avant traitement que les patients qui n'avaient pas présenté d'infection sévère ; il n'y avait pas de différence significative retrouvée en ce qui concerne les Ly CD8.

En effet, grâce aux molécules B7/CD28, CD40/CD40 ligand et OX40 ligand/OX40 exprimées à la surface des cellules B et T, les lymphocytes B envoient des signaux de costimulation aux Ly T induisant l'activation des cellules Th1 et déterminant l'expansion primaire des Ly T-CD4 (28, 75-77). Une étude sur 30 patients adultes atteints de purpura thrombopénique immunologique a montré une normalisation des anomalies des Ly T telles que la normalisation du rapport Th1/Th2 et Tc1/Tc2 et l'expansion oligoclonale des lymphocytes T chez les patients traités par RTX (89). Dans une étude sur des adultes traités dans le cadre d'une sclérose en plaques, le taux de lymphocytes T dans le liquide céphalorachidien diminuait significativement sous RTX (90). Bhatia et al. (91) ont montré que chez les patients présentant un syndrome néphrotique le ratio Th17/Treg diminuait

significativement après injection de RTX et arrivait à un niveau similaire à des témoins, et que ce ratio réaugmentait en cas de rechute de la maladie.

#### D. Forces et limites

##### 1. Forces

Notre étude est l'une des premières à fournir des données sur les facteurs de risque d'infection sous RTX toutes indications confondues et en intégrant les données de suivi immunitaire. Le nombre de données recueillies était important, grâce à une collecte sur une période de dix ans dans un grand hôpital universitaire. De plus, bien que notre recueil soit rétrospectif, les données disponibles concernant le suivi immunitaire avant le traitement par RTX et dans l'année suivant la dernière injection de RTX, notamment les données de dosage des Ig et de la déplétion B étaient conséquentes (48% de la cohorte avant RTX et 81% de la cohorte après RTX avaient des données d'immunophénotypages lymphocytaires et 52% de la cohorte avant RTX et 72% après RTX avaient des dosages d'immunoglobulines). Ce suivi est plus conséquent que celui observé dans la littérature, par exemple, dans l'étude de Mc Atee et al. (1), où seuls 28% des patients avaient des données disponibles concernant les Ly et 76% concernant les Ig. Dans l'étude de Barmettler et al. (51), plus de 85% des patients n'avaient pas eu de dosage pondéral des Ig dans les 12 mois avant l'initiation du traitement et 87,5% des patients n'avaient pas eu de dosage pendant le suivi sous RTX. Ce suivi conséquent nous a permis une étude longitudinale de l'évolution des données immunitaires post-RTX et également une comparaison avant-après traitement sur un nombre conséquent de patients (n=92 pour les Ly et n=85 pour les Ig), ce qui correspond à un nombre de patients similaire à l'étude multicentrique de



Labrosse et al. (24). Grâce aux données recueillies avant la première injection de RTX, notre étude a montré, à notre connaissance pour la première fois dans une cohorte pédiatrique et avec une analyse de risque multivariée, un risque infectieux majoré de 4.16 fois en cas d'infection bactérienne dans les 6 mois avant l'initiation du RTX.

## 2. Limites

Notre étude présente plusieurs limites. Tout d'abord, le recueil rétrospectif des données a pu entraîner des biais systématiques de sélection et de classement. Ce recueil rétrospectif peut être responsable de données manquantes, par exemple, des données concernant les infections, notamment non sévères, ont pu échapper si ces infections n'étaient pas colligées dans les dossiers électroniques. Pour les patients suivis à la fois au CHU et dans des CH de proximité, les données concernant des infections non sévères ont pu être omises si la prise en charge était réalisée en dehors du CHU et non transmises.

Peu d'études ont fait le choix d'étudier les effets du RTX dans une population générale combinant de multiples indications. L'hétérogénéité des indications permet d'observer en pratique les effets de ce traitement sur des âges plus variés, mais également des terrains plus ou moins débilisés et des patients ayant une immunodépression acquise ou induite par les traitements associés au RTX plus hétérogènes. Pour pallier cette hétérogénéité, nous avons analysé secondairement les facteurs de risque d'infection des patients recevant du RTX en dehors de l'indication oncologique, indication pour laquelle le risque infectieux est majeur. Les patients ayant un déficit immunitaire pré- RTX étaient également exclus. De plus, l'hétérogénéité de cette cohorte, entraînant des sous-groupes de patients recevant du

RTX pour la même indication de plus faible effectif, a probablement compromis le fait de pouvoir montrer des différences significatives entre les sous-groupes.

Il existait dans notre cohorte un biais de prise en charge lié à la supplémentation systématique en Ig des patients à risque infectieux modéré et/ou ayant eu une supplémentation avant le début du traitement par RTX, ayant pu influencer les données concernant l'hypogammaglobulinémie IgG secondaire au RTX, le risque infectieux et l'incidence des infections sévères. Cependant, les données concernant l'aggravation de l'hypogammaglobulinémie IgG et la fréquence des infections étaient conformes à la littérature (1, 14, 24).

#### E. Perspectives

Le suivi immunitaire rapproché chez les enfants recevant du RTX semble essentiel pour détecter les patients les plus à risque d'infection ou de déficit immunitaire sous-jacent avec un dosage pondéral des immunoglobulines IgA, IgM et IgG et un immunophénotypage lymphocytaire B et T avant traitement et tous les mois post-traitement jusque normalisation de ceux-ci afin de réévaluer régulièrement le risque infectieux. Des études prospectives concernant le risque infectieux sous RTX, l'évolution du taux de Ly et des dosages des Ig après traitement, ainsi que des recommandations de prévention des infections par les sociétés savantes, notamment concernant les stratégies de supplémentation en Ig, sont nécessaires.

#### **IV. Conclusion**

Bien que peu étudié notamment chez l'enfant, notre étude montre que le risque infectieux sous RTX est réel, sévère et précoce quelle que soit l'indication posée, avec un taux d'incidence des infections sévères de 1.17 par patient et par an, surtout au cours de la première année post-RTX. Il paraît nécessaire de rester particulièrement vigilant avec les patients ayant présenté une infection bactérienne dans les 6 mois avant l'initiation du RTX, puisqu'il s'agit d'un des facteurs de risque prépondérants d'infection sévère dans notre étude avec la chimiothérapie, reflet de la dysfonction immunitaire pré-RTX. Les patients sous RTX développent ou aggravent une hypogammaglobulinémie et une lymphopénie sous traitement, aggravant une dysfonction immunitaire préexistante, et augmentant le risque d'infection sévère sous RTX pour l'hypogammaglobulinémie IgA et la lymphopénie CD4/CD8. Il est donc nécessaire d'évaluer et de prendre des précautions concernant le risque infectieux sous RTX pour chaque patient, et de monitorer régulièrement les Ly et les Ig, marqueurs de la réponse immunitaire inadéquate.

## Références

1. McAtee CL, Lubega J, Underbrink K, Curry K, Msaouel P, Barrow M, et al. Association of Rituximab Use With Adverse Events in Children, Adolescents, and Young Adults. *JAMA Netw Open*. 2021 Feb 1;4(2):e2036321.
2. Karmacharya P, Poudel DR, Pathak R, Donato AA, Ghimire S, Giri S, et al. Rituximab-induced serum sickness: A systematic review. *Semin Arthritis Rheum*. 2015 Dec;45(3):334-40.
3. K. Bigaut, N. Collongues. Intérêt du Rituximab dans les SEO progressives. *Pratique Neurologique*. 2020 Feb. Volume 11, Issue 1, Pages 1-9.
4. Engel ER, Walter JE. Rituximab and eculizumab when treating nonmalignant hematologic disorders: infection risk, immunization recommendations, and antimicrobial prophylaxis needs. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2020 Dec 4;2020(1):312–8.
5. [https://www.chu-toulouse.fr/IMG/pdf/le\\_rituximab\\_mabthera\\_c\\_.pdf](https://www.chu-toulouse.fr/IMG/pdf/le_rituximab_mabthera_c_.pdf)
6. Edwards JC, Szczepanski L, Szechinski J, Filipowicz-Sosnowska A, Emery P, Close DR et al. Efficacy of B-cell-targeted therapy with rituximab in patients with rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*. 2004 Jun 17;350(25):2572-81.
7. Leandro MJ, Cooper N, Cambridge G, Ehrenstein MR, Edwards JC. Bone marrow B-lineage cells in patients with rheumatoid arthritis following rituximab therapy. *Rheumatology (Oxford)*. 2007 Jan;46(1):29-36
8. Teng YK, Levarht EW, Hashemi M, Bajema IM, Toes RE, Huizinga TW, et al. Immunohistochemical analysis as a means to predict responsiveness to rituximab treatment. *Arthritis Rheum*. 2007, 56: 3909-3918. 10.1002/art.22967.

9. Nakou M, Katsikas G, Sidiropoulos P, Bertias G, Papadimitraki E, Raptopoulou A, et al. Rituximab therapy reduces activated B cells in both the peripheral blood and bone marrow of patients with rheumatoid arthritis: depletion of memory B cells correlates with clinical response. *Arthritis Res Ther.* 2009;11(4):R131.
10. Reff ME, Carner K, Chambers KS, Chinn PC, Leonard JE, Raab R, et al. Depletion of B cells in vivo by a chimeric mouse human monoclonal antibody to CD20. *Blood.* 1994 Jan 15;83(2):435-45.
11. Boumans MJ, Tak PP. Rituximab treatment in rheumatoid arthritis: how does it work? *Arthritis Res Ther.* 2009;11(6):134.
12. RIXATHON et TRUXIMA : prise en charge étendue en pédiatrie dans plusieurs indications. VIDAL. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/actualites/27128-rixathon-et-truxima-prise-en-charge-etendue-en-pediatrie-dans-plusieurs-indications.html>
13. Jansson AF, Sengler C, Kuemmerle-Deschner J, Gruhn B, Kranz AB, Lehmann H, et al. B cell depletion for autoimmune diseases in paediatric patients. *Clin Rheumatol.* 2011 Jan;30(1):87-97.
14. Kavcic M, Fisher BT, Seif AE, Li Y, Huang YS, Walker D, et al. Leveraging Administrative Data to Monitor Rituximab Use in 2875 Patients at 42 Freestanding Children's Hospitals across the United States. *J Pediatr.* juin 2013;162(6):1252-1258.e1
15. Hawker K, O'Connor P, Freedman MS, Calabresi PA, Antel J, Simon J, et al. OLYMPUS trial group. Rituximab in patients with primary progressive multiple sclerosis: results of a randomized double-blind placebo-controlled multicenter trial. *Ann Neurol.* 2009 Oct;66(4):460-71.
16. <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/rituximab-18205.html#com>

17. Paul F, Cartron G. Infusion-related reactions to rituximab: frequency, mechanisms and predictors. *Expert Rev Clin Immunol*. 2019 Apr;15(4):383-389.
18. Dale RC, Brilot F, Duffy LV, Twilt M, Waldman AT, Narula S, et al. Utility and safety of rituximab in pediatric autoimmune and inflammatory CNS disease. *Neurology*. 2014;83(2):142-150.
19. Kearsley-Fleet L, Sampath S, McCann LJ, Baildam E, Beresford MW, Davies R, et al. Use and effectiveness of rituximab in children and young people with juvenile idiopathic arthritis in a cohort study in the United Kingdom. *Rheumatology (Oxford)*. 2019;58(2):331-335.
20. Villarreal-González R, E de Lira-Quezada C, N González-Díaz S, L Carrasco-Díaz L, González-Llano O. Rituximab desensitization in pediatric acute lymphoblastic leukemia with severe anaphylaxis. *J Oncol Pharm Pract*. 2021 Apr;27(3):747-750.
21. Rao A, Kelly M, Musselman M, Ramadas J, Wilson D, Grossman W, et al. Safety, efficacy, and immune reconstitution after rituximab therapy in pediatric patients with chronic or refractory hematologic autoimmune cytopenias. *Pediatr Blood Cancer*. 2008 Apr;50(4):822-5.
22. Kumánovics A, Sadighi Akha AA. Flow cytometry for B-cell subset analysis in immunodeficiencies. *J Immunol Methods*. 2022 Oct;509:113327.
23. Rehnberg M, Amu S, Tarkowski A, Bokarewa MI, Brisslert M. Short- and long-term effects of anti-CD20 treatment on B cell ontogeny in bone marrow of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2009, 11: R123-10.1186/ar2789.
24. Labrosse R, Barmettler S, Dervalvi B, Blincoe A, Cros G, Lacombe-Barrios J, et al. Rituximab-induced hypogammaglobulinemia and infection risk in pediatric patients. *J Allergy Clin Immunol*. août 2021;148(2):523-532.e8.

25. Ottaviano G, Sgrulletti M, Moschese V. Secondary rituximab-associated versus primary immunodeficiencies: The enigmatic border. *Eur J Immunol.* oct 2022;52(10):1572-80.
26. Khojah AM, Miller ML, Klein-Gitelman MS, Curran ML, Hans V, Pachman LM, et al. Rituximab-associated Hypogammaglobulinemia in pediatric patients with autoimmune diseases. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2019 Aug 28;17(1):61.
27. Christou EAA, Giardino G, Worth A, Ladomenou F. Risk factors predisposing to the development of hypogammaglobulinemia and infections post-Rituximab. *Int Rev Immunol.* 2017 Nov 2;36(6):352–9.
28. Stasi R. Rituximab in autoimmune hematologic diseases: not just a matter of B cells. *Semin Hematol.* 2010 Apr;47(2):170-9. doi: 10.1053/j.seminhematol.2010.01.010. PMID: 20350664.
29. Thurlings RM, Vos K, Wijbrandts CA, Zwinderman AH, Gerlag DM, Tak PP. Synovial tissue response to rituximab: mechanism of action and identification of biomarkers of response. *Ann Rheum Dis.* 2008 Jul;67(7):917-25.
30. Sfrikakis PP, Boletis JN, Lionaki S, Vigklis V, Fragiadaki KG, Iniotaki A, et al. Remission of proliferative lupus nephritis following B cell depletion therapy is preceded by down-regulation of the T cell costimulatory molecule CD40 ligand: an open-label trial. *Arthritis Rheum.* 2005 Feb;52(2):501-13.
31. Leandro MJ, Cambridge G, Ehrenstein MR, Edwards JC. Reconstitution of peripheral blood B cells after depletion with rituximab in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006 Feb;54(2):613-20.
32. Stabler S, Giovannelli J, Launay D, Cotteau-Leroy A, Heusele M, Lefèvre G, et al. Serious Infectious Events and Immunoglobulin Replacement Therapy in Patients With Autoimmune Disease Receiving Rituximab: A Retrospective Cohort Study. *Clin Infect Dis.* 1 mars 2021;72(5):727-37.

33. Heusele M, Clerson P, Guery B, Lambert M, Launay D, Lefevre G, et al. Risk factors for severe bacterial infections in patients with systemic autoimmune diseases receiving rituximab. *Clin Rheumatol*. 2014 Jun;33(6):799–805.
34. Worch J, Makarova O, Burkhardt B. Immunreconstitution and Infectious Complications After Rituximab Treatment in Children and Adolescents: What Do We Know and What Can We Learn from Adults? *Cancers*. mars 2015;7(1):305-28.
35. Takao H, Nishi K, Funaki T, Inoki Y, Osaka K, Nada T, et al. Changes in Patterns of Infection Associated with Pediatric Idiopathic Nephrotic Syndrome: A Single-Center Experience in Japan. *J Pediatr*. 2023 Mar;254:11-16.e1.
36. Alexander S, Aupérin A, Bomken S, Csóka M, Kazanowska B, Chiang AK, et al. *Lancet Haematol*. Effect of rituximab on immune status in children with mature B-cells non Hodgkin lymphoma : a prespecified secondary analysis of the Inter-B-NHL Ritux 2010 trial 2023 Jun;10(6):e445-e457.
37. Liang Y, Zhang L, Gao J, Hu D, Ai Y. Rituximab for children with immune thrombocytopenia: a systematic review. *PLoS One*. 2012;7(5):e36698.
38. Saleh K, Michot JM, Camara-Clayette V, Vassetsky Y, Ribrag V. Burkitt and Burkitt-Like Lymphomas: a Systematic Review. *Curr Oncol Rep*. 2020 Mar 6;22(4):33.
39. Ansari S, Tashvighi M, Darbandi B, Salimi AB, Golpaygani M. Rituximab for child with chronic relapsing autoimmune hemolytic anemia. *Pediatr Hematol Oncol*. 2011 Mar;28(2):164-6.
40. Damato V, Evoli A, Iorio R. Efficacy and Safety of Rituximab Therapy in Neuromyelitis Optica Spectrum Disorders: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Neurol*. 2016 Nov 1;73(11):1342-1348.



41. Jellouli M, Charfi R, Maalej B, Mahfoud A, Trabelsi S, Gargah T. Rituximab in The Management of Pediatric Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome: A Systematic Review. *J Pediatr*. 2018 Jun;197:191-197.e1.
42. Bertrand Y, Baleyrier F. Diagnostic d'un déficit immunitaire primitif de l'enfant. *Revue Francophone des Laboratoires*. juill 2010;2010(424):53-8.
43. Comans-Bitter WM, De Groot R, Van den Beemd R, Neijens HJ, Hop WC, Groeneveld K, et al. Immunophenotyping of blood lymphocytes in childhood. Reference values for lymphocyte subpopulations. *J Pediatr*. 1997 Mar;130(3):388-93.
44. Minard-Colin V, Aupérin A, Pillon M, Burke GAA, Barkauskas DA, Wheatley K, et al. Rituximab for High-Risk, Mature B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma in Children. *N Engl J Med*. 2020 Jun 4;382(23):2207-2219.
45. Parmentier C, Delbet JD, Decramer S, Boyer O, Hogan J, Ulinski T. Immunoglobulin serum levels in rituximab-treated patients with steroid-dependent nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2020 Mar;35(3):455-462. doi: 10.1007/s00467-019-04398-1. Epub 2019 Nov 8.
46. Mariette X, Gottenberg JE, Ravaud P, Combe B. Registries in rheumatoid arthritis and autoimmune diseases: data from the French registries. *Rheumatology (Oxford)*. 2011 Jan;50(1):222-9.
47. Mahmoud I, Jellouli M, Boukhris I, Charfi R, Tekaya AB, Saidane O, et al. Efficacy and Safety of Rituximab in the Management of Pediatric Systemic Lupus Erythematosus: A Systematic Review. *The Journal of Pediatrics*. 2017 Aug 1;187:213-219.e2.
48. Chiou FK, Beath SV, Patel M, Gupte GL. Hypogammaglobulinemia and bacterial infections following pediatric post-transplant lymphoproliferative disorder in the rituximab era. *Pediatr Transplant*. 2019 Sep;23(6):e13519.

49. Dale RC, Brilot F, Duffy LV, Twilt M, Waldman AT, Narula S, et al. Utility and safety of rituximab in pediatric autoimmune and inflammatory CNS disease. *Neurology*. 2014 Jul 8;83(2):142-50.
50. Launspach M, Temel D, Ohlendorf E, Zirngibl F, Materne B, Oevermann L, et al. Rituximab therapy after pediatric hematopoietic stem cell transplantation can cause prolonged B-cell impairment and increases the risk for infections - a retrospective matched cohort study. *Haematologica*. 2023 Jan 1;108(1):267-272.
51. Barmettler S, Ong MS, Farmer JR, Choi H, Walter J. Association of Immunoglobulin Levels, Infectious Risk, and Mortality With Rituximab and Hypogammaglobulinemia. *JAMA Netw Open*. 2018 Nov 2;1(7):e184169.
52. Ying Y, Li RD, Ai JW, Zhu YM, Zhou X, et al. Infection within 2 weeks before liver transplantation closely related to prognosis of posttransplant infection: A single-center retrospective observational study in China. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2020 Aug;19(4):358-364.
53. Pettengell R, Bosly A, Szucs TD, Jackisch C, Leonard R, Paridaens R, et al. Multivariate analysis of febrile neutropenia occurrence in patients with non-Hodgkin lymphoma: data from the INC-EU Prospective Observational European Neutropenia Study. *Br J Haematol*. 2009 Mar;144(5):677-85.
54. Girmenia C, Bertaina A, Piciocchi A, Perruccio K, Algarotti A, Busca A, et al. Incidence, Risk Factors and Outcome of Pre-engraftment Gram-Negative Bacteremia After Allogeneic and Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation: An Italian Prospective Multicenter Survey. *Clin Infect Dis*. 2017 Nov 13;65(11):1884-1896.

55. Mellgren K, Hedegaard CJ, Schmiegelow K, Müller K. Plasma cytokine profiles at diagnosis in pediatric patients with non-hodgkin lymphoma. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2012 May;34(4):271–5.
56. Ceesay MM, Kordasti S, Rufaie E, Lea N, Smith M, Wade J, et al. Baseline cytokine profiling identifies novel risk factors for invasive fungal disease among haematology patients undergoing intensive chemotherapy or haematopoietic stem cell transplantation. *J Infect.* 2016 Sep;73(3):280–8.
57. Marzollo A, Serena T, Mainardi C, Calore E, Pillon M, et al. Hypogammaglobulinemia in Children After Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Rituximab Treatment: Relevance of B Cell Subsets. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2023 Jan 1;45(1):e145-e149.
58. Sinha A, Mathew G, Arushi A, Govindarajan S, Ghanapriya K, Grewal N, et al. Sequential rituximab therapy sustains remission of nephrotic syndrome but carries high risk of adverse effects. *Nephrol Dial Transplant.* 2023 Mar 31;38(4):939-949.
59. Salles G, Barrett M, Foà R, Maurer J, O'Brien S, Valente N, et al. Rituximab in B-Cell Hematologic Malignancies: A Review of 20 Years of Clinical Experience. *Adv Ther.* 2017;34(10):2232–73.
60. Kaplan, B. and Bonagura, V. R. Secondary hypogammaglobulinemia: an increasingly recognized complication of treatment with immunomodulators and after solid organ transplantation. *Immunol. Allergy Clin. North Am.* 2019. 39: 31–47.
61. Jamee M, Moniri S, Zaki-Dizaji M, Olbrich P, Yazdani R, Jadidi-Niaragh F, et al. Clinical, Immunological, and Genetic Features in Patients with Activated PI3K $\delta$  Syndrome (APDS): a Systematic Review. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2020 Dec;59(3):323-333.

62. Van der Kolk LE, Baars JW, Prins MH, van Oers MH. Rituximab treatment results in impaired secondary humoral immune responsiveness. *Blood*. 2002 Sep 15;100(6):2257-9.
63. Höcker B, Aguilar M, Schnitzler P, Pape L, Bald M, König J, et al. Vaccination titres pre- and post-transplant in paediatric renal transplant recipients and the impact of immunosuppressive therapy. *Pediatr Nephrol*. 2018 May;33(5):897-910.
64. Reddy V, Martinez L, Isenberg DA, Leandro MJ, Cambridge G. Pragmatic Treatment of Patients With Systemic Lupus Erythematosus With Rituximab: Long-Term Effects on Serum Immunoglobulins. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2017 Jun;69(6):857-866.
65. Kridin K, Ahmed AR. Post-rituximab immunoglobulin M (IgM) hypogammaglobulinemia. *Autoimmun Rev*. 2020 Mar;19(3):102466.
66. Appelgren D, Eriksson P, Ernerudh J, Segelmark M. Marginal-Zone B-Cells Are Main Producers of IgM in Humans, and Are Reduced in Patients With Autoimmune Vasculitis. *Front Immunol*. 2018 Oct 2;9:2242.
67. Manz RA, Thiel A, Radbruch A. Lifetime of plasma cells in the bone marrow. *Nature*. 1997 Jul 10;388(6638):133-4.
68. Mei HE, Frölich D, Giesecke C, Loddenkemper C, Reiter K, Schmidt S et al. Steady-state generation of mucosal IgA<sup>+</sup> plasmablasts is not abrogated by B-cell depletion therapy with rituximab. *Blood*. 2010 Dec 9;116(24):5181-90.
69. Hamilos DL, Young RM, Peter JB, Agopian MS, Iklé DN, Barka N. Hypogammaglobulinemia in asthmatic patients. *Ann Allergy*. 1992 Jun;68(6):472-81.
70. Podestà MA, Mescia F, Ricchiuto A, Smith R, Tedesco M, Cassia MA, et al. Predictors of hypogammaglobulinemia in ANCA-associated vasculitis after a

rituximab-based induction: a multicentre study. *Rheumatology (Oxford)*. 2023 Aug 1;62(8):2850-2854.

71. Gottenberg JE, Ravaud P, Bardin T, Cacoub P, Cantagrel A, Combe B, et al. Autoimmunity and Rituximab registry and French Society of Rheumatology. Risk factors for severe infections in patients with rheumatoid arthritis treated with rituximab in the autoimmunity and rituximab registry. *Arthritis Rheum*. 2010 Sep;62(9):2625-32.
72. Casulo C, Maragulia J, Zelenetz AD. Incidence of hypogammaglobulinemia in patients receiving rituximab and the use of intravenous immunoglobulin for recurrent infections. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2013 Apr;13(2):106-11.
73. Quartier P, Brethon B, Philippet P, Landman-Parker J, Le Deist F, Fischer A. Treatment of childhood autoimmune haemolytic anaemia with rituximab. *Lancet*. 2001 Nov 3;358(9292):1511-3.
74. Delbet JD, Leclerc G, Ulinski T. Idiopathic nephrotic syndrome and rituximab: may we predict circulating B lymphocytes recovery? *Pediatr Nephrol*. 2019 Mar;34(3):529-532.
75. Stabler S, Giovannelli J, Launay D, Cotteau-Leroy A, Heusele M, Lefevre G, et al. Serious infectious events and immunoglobulin replacement therapy in patients with autoimmune disease receiving Rituximab : a retrospective cohort study. *Clin Infect Dis*. 2021 Mar 1;72(5):727-737.
76. Linton PJ, Harbertson J, Bradley LM. A critical role for B cells in the development of memory CD4 cells. *J Immunol*. 2000 Nov 15;165(10):5558-65.
77. Inoki Y, Nishi K, Sato M, Ogura M, Kamei K. The association between hypogammaglobulinemia severity and infection risk in rituximab-treated patients with childhood-onset idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2023 Feb;38(2):451-460.

78. Fedhila F, Ahmed SB, Jbebli E, Mezghani F, Haddad S, Rhayem S, et al. Chemotherapy-induced febrile neutropenia in a Tunisian Department of Pediatric Oncology. *Pan Afr Med J.* 2022 May 12;42:34.
79. Odler B, Riedl R, Gauckler P, Shin JI, Leierer J, Merkel PA, et al ; RAVE-ITN Research Group. Risk factors for serious infections in ANCA-associated vasculitis. *Ann Rheum Dis.* 2023 May;82(5):681-687.
80. Keystone E, Fleischmann R, Emery P, Furst DE, Van Vollenhoven R, Bathon J, et al. Safety and efficacy of additional courses of rituximab in patients with active rheumatoid arthritis: an open-label extension analysis. *Arthritis Rheum.* 2007 Dec;56(12):3896-908.
81. Roberts DM, Jones RB, Smith RM, Alberici F, Kumaratne DS, Burns S, et al. Rituximab-associated hypogammaglobulinemia: incidence, predictors and outcomes in patients with multi-system autoimmune disease. *J Autoimmun.* 2015 Feb;57:60-5.
82. Shah S, Jaggi K, Greenberg K, Geetha D. Immunoglobulin levels and infection risk with rituximab induction for anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Clin Kidney J.* 2017 Aug;10(4):470-474.
83. Roll P, Palanichamy A, Kneitz C, Dorner T, Tony HP. Regeneration of B cell subsets after transient B cell depletion using anti-CD20 antibodies in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006 Aug;54(8):2377-86.
84. Wijetilleka S, Jayne DR, Mukhtyar C, Ala A, Bright PD, Chinoy H, et al. Recommendations for the management of secondary hypogammaglobulinaemia due to B cell targeted therapies in autoimmune rheumatic diseases. *Rheumatology (Oxford).* 2019 May 1;58(5):889–96.
85. Zurowska A, Drozynska-Duklas M, Topaloglu R, Bouts A, Boyer O, Shenoy M, et al ; ESPN Glomerulonephritis Working Group. Rituximab-associated hypogammaglobulinemia in children with idiopathic nephrotic syndrome: results of an ESPN survey. *Pediatr Nephrol.* 2023 Sep;38(9):3035-3042.

86. Nishio M, Fujimoto K, Yamamoto S, Endo T, Sakai T, Obara M et al. Hypogammaglobulinemia with a selective delayed recovery in memory B cells and an impaired isotype expression after rituximab administration as an adjuvant to autologous stem cell transplantation for non-Hodgkin lymphoma. *Eur J Haematol.* 2006 Sep;77(3):226-32.
87. Irie E, Shiota Y, Suzuki C, Tajima Y, Ishizawa K, Kameoka J, et al. Severe hypogammaglobulinemia persisting for 6 years after treatment with rituximab combined chemotherapy due to arrest of B lymphocyte differentiation together with alteration of T lymphocyte homeostasis. *Int. J. Hematol.* 2010. 91: 501–508.
88. Ruan Y, Chen L, Luo T, Xie D, Cao W, Liu X, et al. Applying Rituximab during the conditioning regimen prevents ebstein-barr virus infection following allogenic hematopoietic stem cell transplant in a children's cohort : a retrospective case-control study. *Infect Dis Ther.* 2023 Jul 20.
89. Stasi R, Del Poeta G, Stipa E, Evangelista ML, Trawinska MM, Cooper N, et al. Response to B-cell depleting therapy with rituximab reverts the abnormalities of T-cell subsets in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood*, 110 (2007), pp. 2924-2930
90. Cross AH, Stark JL, Lauber J, Ramsbottom MJ, Lyons JA. Rituximab reduces B cells and T cells in cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients. *J Neuroimmunol.* 2006 Nov;180(1-2):63-70
91. Bhatia D, Sinha A, Hari P, Sopory S, Saini S, Puraswani M, et al. Rituximab modulates T- and B-lymphocyte subsets and urinary CD80 excretion in patients with steroid-dependent nephrotic syndrome. *Pediatr Res.* 2018 Oct;84(4):520–6.

ANNEXE 1.

**Supplementary material 1.** Risk factors for multiple severe post-rituximab infection in univariate analysis excluding patients with pre-RTX immune deficiency

	All category			Excluding Oncology patients		
	OR	IC	p	OR	IC	p
<b>Before RTX treatment</b>						
Male sex	0.9	[0.6 ; 1.6]	0.78	0.7	[0.3 ; 1.5]	0.36
Diagnostic category			<0.01			<0.01
Vaccination status up to date	0.7	[0.4 ; 1.3]	1.3	0.7	[0.3 ; 1.5]	0.39
Asthma	1.4	[0.5 ; 3.7]	0.4	1	[0.3 ; 3.6]	0.97
Digestive comorbidity	1.7	[0.6 ; 4.6]	0.2	3.2	[1.1 ; 9.2]	0.03
CD4 lymphopenia	1.9	[0.7 ; 4.7]	0.17	1.6	[0.5 ; 4.4]	0.35
CD8 lymphopenia	0.9	[0.3 ; 2.6]	0.8	0.8	[0.2 ; 2.8]	0.78
CD19 lymphopenia	1.5	[0.5 ; 4.3]	0.46	1.3	[0.4 ; 3.9]	0.63
HypolgG	1.4	[0.6 ; 3.7]	0.44	1.4	[0.5 ; 3.6]	0.53
HypolgM	3.9	[1.4 ; 10.3]	<0.01	3.3	[1.2 ; 9.1]	0.02
Immunosuppressive medication	0.8	[0.5 ; 1.5]	0.59	0.8	[0.3 ; 1.8]	0.63
Cortisteroids	0.7	[0.3 ; 1.3]	0.24	0.9	[0.3 ; 2.5]	0.87
Bacterial infection	2.1	[1.1 ; 4.1]	0.02	4.5	[2 ; 9.1]	0.01
Viral infection	1	[0.4 ; 2.2]	0.9	2.2	[0.9 ; 5.3]	0.07
Age at 1st rituximab, mean (SD)	1	[0.9 ; 1.1]	0.37	0.9	[0.8 ; 1.1]	0.72
Weight at diagnosis, mean (SD)	1	[1 ; 1.1]	0.7	1	[0.9 ; 1.2]	0.12
Age at diagnosis, mean (SD)	1.1	[1 ; 1.2]	0.04	1	[0.9 ; 1.1]	0.72
<b>After RTX treatment</b>						
Immunosuppressive medication	0.4	[0.2 ; 0.8]	<0.01	2.1	[0.8 ; 5.4]	0.13
Cortisteroids	1.9	[0.9 ; 4.2]	0.09	1.5	[0.6 ; 4.1]	0.38
Chemotherapy	15.2	[7.4 ; 31.3]	<0.01	7.4	[3 ; 18.2]	<0.01
Antibiotic prophylaxis	6.5	[3 ; 14]	<0.01	3.6	[1.5 ; 8.6]	<0.01
Anti-fungal prophylaxis	4.9	[2.2 ; 11.1]	<0.01	3.4	[1.3 ; 9.4]	0.01
Ig supplementation	0.9	[0.5 ; 1.9]	0.9	2.4	[1.1 ; 5.1]	0.02



## ANNEXE 2.

## Fiche de recueil des données

**RECUEIL DONNEES ETUDE RITUXIMAB 2010-2020  
CHRU LILLE**

<b>DONNEES ANAMNESTIQUES</b>		
N° patient		
Nom		
Prénom		
Date de naissance	__ / __ / _____	
Sexe	<input type="checkbox"/> Masculin	<input type="checkbox"/> Féminin
Poids (kg)	.....	

<b>DIAGNOSTIC</b>			
Diagnostic (en toutes lettres)			
Date du début de la maladie	__ / __ / _____		
Catégorie diagnostique	<input type="checkbox"/> Hémato - onco (hors greffe)	<input type="checkbox"/> Hémato non maligne	<input type="checkbox"/> Maladie autoimmune
	<input type="checkbox"/> Neuro	<input type="checkbox"/> Rhumato	<input checked="" type="checkbox"/> Dermato
	<input type="checkbox"/> Néphro	<input type="checkbox"/> Post-greffe	
Comorbidités (autre que par la maladie initiale)	<input type="checkbox"/> Asthme	<input type="checkbox"/> Atteinte cardiaque	<input type="checkbox"/> Autre atteinte respiratoire
	<input type="checkbox"/> Atteinte digestive	<input type="checkbox"/> Atteinte neurologique	<input type="checkbox"/> Inhalation chronique
Déficit immunitaire			
Si oui, type			

<b>PROFIL IMMUNITAIRE AVANT RITUXIMAB</b>	
PNN à la dernière NFS avant RTX	
<b>Phénotypage lymphocytaire</b>	
Taux de CD4 en mm3 et %	
Taux de CD8 en mm3 et %	
<b>Dosage pondéral des Ig</b>	
IgG	
IgA	
IgM	
Si sous-classes, noter	
<b>Statut vaccinal</b>	
DTPCoqHib	Nb doses :
PCV13	Nb doses :

VHB	Nb doses :
MenC	Nb doses :
MenB	Nb doses :
ROR	Nb doses :
Grippe	A jour :
Sérologies vaccinales	DTP :
	Haemophilus :
	Pneumocoque :

<b>DANS LES 6 MOIS AVANT LA PREMIERE DOSE DE RITUXIMAB</b>		
<b>Traitement immunosuppresseur</b>		
<b>Traitement IS</b>	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Type	Ciclosporine <input type="checkbox"/>	Methotrexate <input type="checkbox"/>
	Azathioprine (Imurel) <input type="checkbox"/>	MMF (Cellcept) <input type="checkbox"/>
	Tacrolimus <input type="checkbox"/>	Everolimus <input type="checkbox"/>
<b>Chimiothérapie</b>	oui <input type="checkbox"/>	Précisez : .....
<b>Corticothérapie</b>		
Type (molécule)		
Dose/j moyenne dans les 6 derniers mois		
<b>Infection</b>		
<b>Bactérienne</b>	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Si oui,		
Date		
Type		
Traitement		
Evolution	<input type="checkbox"/> Favorable	<input type="checkbox"/> Défavorable
Commentaires :		
<b>Virale (dernière infection)</b>	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Si oui,		
Date		
Type		
Traitement		
Evolution	<input type="checkbox"/> Favorable	<input type="checkbox"/> Défavorable
Commentaires :		
<b>Fongique</b>	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Si oui,		
Date		
Type		
Traitement		
Evolution	<input type="checkbox"/> Favorable	<input type="checkbox"/> Défavorable

<b>DOSES DE RITUXIMAB</b>				
<b>NUMERO DE CURE</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
Dates d'injection				
Doses en mg				
Poids du patient				
<b>NUMERO DE CURE</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>
Dates d'injection				
Doses en mg				
Poids du patient				
<b>NUMERO DE CURE</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>
Dates d'injection				
Doses en mg				
Poids du patient				
<b>NUMERO DE CURE</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>
Dates d'injection				
Doses en mg				
Poids du patient				

<b>Traitement immunosuppresseur associé</b>		
<b>Traitement IS</b>	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Type	Ciclosporine <input type="checkbox"/>	Methotrexate <input type="checkbox"/>
	Azathioprine (Imurel) <input type="checkbox"/>	MMF (Cellcept) <input type="checkbox"/>
	Tacrolimus <input type="checkbox"/>	Everolimus <input type="checkbox"/>
<b>Corticothérapie</b>		
Type (molécule)		
Dose/j moyenne		
<b>Chimiothérapie</b>		
Type		

<b>Prophylaxie</b>		
Antibiotique	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Type molécule, dose		
Antiviral	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Type molécule, dose		
Antifongique	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Type molécule, dose		

<b>BILANS IMMUNITAIRES PENDANT LES CURES</b>					
<b>Phénotypage Lymphocytaire</b>					
Date :	Date :	Date :	Date :	Date :	Date :
CD19 :	CD19 :	CD19 :	CD19 :	CD19 :	CD19 :
CD4 :	CD4 :	CD4 :	CD4 :	CD4 :	CD4 :
CD8 :	CD8 :	CD8 :	CD8 :	CD8 :	CD8 :
<b>Neutropénie (&lt;1500/mm3)</b>					
	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non			
Date début neutropénie					
Date sortie neutropénie					
Nadir PNN (mm3)					
<b>Dosage pondéral des Ig</b>					
Date :	Date :	Date :	Date :	Date :	Date :
IgG :	IgG :	IgG :	IgG :	IgG :	IgG :
IgA :	IgA :	IgA :	IgA :	IgA :	IgA :
IgM :	IgM	IgM	IgM	IgM	IgM

<b>Sérologies vaccinales pendant suivi</b>	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Si oui, résultats :	DTP :	
	Haemophilus :	
	Pneumocoque :	

**STATUT IMMUNITAIRE A DISTANCE DES INJECTIONS**

<b>1-6 MOIS</b>				<b>6-12 MOIS</b>			
<b>Phénotypage Lymphocytaire</b>				<b>Phénotypage Lymphocytaire</b>			
Date :	Date :	Date :	Date :	Date :	Date :	Date :	Date :
CD19 :	CD19 :	CD19 :	CD19 :	CD19 :	CD19 :	CD19 :	CD19 :
CD4 :	CD4 :	CD4 :	CD4 :	CD4 :	CD4 :	CD4 :	CD4 :
CD8 :	CD8 :	CD8 :	CD8 :	CD8 :	CD8 :	CD8 :	CD8 :
<b>Neutropénie (&lt;1500/mm3)</b>				<b>Neutropénie (&lt;1500/mm3)</b>			
<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non			<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non		
Date début neutropénie				Date début neutropénie			
Date sortie neutropénie				Date sortie neutropénie			
Nadir PNN (mm3)				Nadir PNN (mm3)			
<b>Dosage pondéral des Ig</b>				<b>Dosage pondéral des Ig</b>			
Date :	Date :	Date :	Date :	Date :	Date :	Date :	Date :
IgA :	IgA :	IgA :	IgA :	IgA :	IgA :	IgA :	IgA :
IgM :	IgM :	IgM :	IgM :	IgM :	IgM :	IgM :	IgM :
IgM :	IgM :	IgM :	IgM :	IgM :	IgM :	IgM :	IgM :

12-18 MOIS				18-24 MOIS			
<b>Phénotypage Lymphocytaire</b>				<b>Phénotypage Lymphocytaire</b>			
Date :	Date :	Date :	Date :	Date :	Date :	Date :	Date :
CD19 :	CD19 :	CD19 :	CD19 :	CD19 :	CD19 :	CD19 :	CD19 :
CD4 :	CD4 :	CD4 :	CD4 :	CD4 :	CD4 :	CD4 :	CD4 :
CD8 :	CD8 :	CD8 :	CD8 :	CD8 :	CD8 :	CD8 :	CD8 :
<b>Neutropénie (&lt;1500/mm3)</b>				<b>Neutropénie (&lt;1500/mm3)</b>			
<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non			<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non		
Date début neutropénie				Date début neutropénie			
Date sortie neutropénie				Date sortie neutropénie			
Si oui, nadir PNN (mm3)				Si oui, nadir PNN (mm3)			
<b>Dosage pondéral des Ig</b>				<b>Dosage pondéral des Ig</b>			
Date :	Date :	Date :	Date :	Date :	Date :	Date :	Date :
IgG :	IgG :	IgG :	IgG :	IgG :	IgG :	IgG :	IgG :
IgA :	IgA :	IgA :	IgA :	IgA :	IgA :	IgA :	IgA :
IgM :	IgM :	IgM :	IgM :	IgM :	IgM :	IgM :	IgM :

**INFECTIONS POST-RITUXIMAB**

<b>N°1</b>			
Date			
Diagnostic			
Microorganisme	<input type="checkbox"/> Bactérie	<input type="checkbox"/> Virus	<input type="checkbox"/> Champignon
Nom			
Localisation			
Traitement étiologique			
Evolution	<input type="checkbox"/> Favorable	<input type="checkbox"/> Défavorable	
Hospitalisation	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Réanimation ou USC	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Chirurgie	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Décès	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Commentaires :			

<b>HypoIg avant 1<sup>ère</sup> infectiion sévère</b>	IgG: <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
	IgA : <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
	IgM : <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
<b>Lymphopénie avant 1<sup>ère</sup> infectiion sévère</b>	LyB: <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
	CD4: <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
	CD8: <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non

<b>N°2</b>			
Date			
Diagnostic			
Microorganisme	<input type="checkbox"/> Bactérie	<input type="checkbox"/> Virus	<input type="checkbox"/> Champignon
Nom			
Localisation			
Traitement étiologique			
Evolution	<input type="checkbox"/> Favorable	<input type="checkbox"/> Défavorable	
Hospitalisation	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Réanimation ou USC	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Chirurgie	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Décès	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Commentaires :			

<b>N°3</b>			
Date			
Diagnostic			
Microorganisme	<input type="checkbox"/> Bactérie	<input type="checkbox"/> Virus	<input type="checkbox"/> Champignon
Nom			
Localisation			
Traitement étiologique			
Evolution	<input type="checkbox"/> Favorable	<input type="checkbox"/> Défavorable	
Hospitalisation	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Réanimation ou USC	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Chirurgie	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Décès	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Commentaires :			

<b>N°4</b>			
Date			
Diagnostic			
Microorganisme	<input type="checkbox"/> Bactérie	<input type="checkbox"/> Virus	<input type="checkbox"/> Champignon
Nom			
Localisation			
Traitement étiologique			
Evolution	<input type="checkbox"/> Favorable	<input type="checkbox"/> Défavorable	
Hospitalisation	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Réanimation ou USC	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Chirurgie	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Décès	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Commentaires :			

<b>N°5</b>			
Date			
Diagnostic			
Microorganisme	<input type="checkbox"/> Bactérie	<input type="checkbox"/> Virus	<input type="checkbox"/> Champignon
Nom			
Localisation			
Traitement étiologique			
Evolution	<input type="checkbox"/> Favorable	<input type="checkbox"/> Défavorable	
Hospitalisation	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Réanimation ou USC	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Chirurgie	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Décès	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Commentaires :			



<b>N°6</b>			
Date			
Diagnostic			
Microorganisme	<input type="checkbox"/> Bactérie	<input type="checkbox"/> Virus	<input type="checkbox"/> Champignon
Nom			
Localisation			
Traitement étiologique			
Evolution	<input type="checkbox"/> Favorable	<input type="checkbox"/> Défavorable	
Hospitalisation	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Réanimation ou USC	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Chirurgie	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Décès	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Commentaires :			

<b>N°7</b>			
Date			
Diagnostic			
Microorganisme	<input type="checkbox"/> Bactérie	<input type="checkbox"/> Virus	<input type="checkbox"/> Champignon
Nom			
Localisation			
Traitement étiologique			
Evolution	<input type="checkbox"/> Favorable	<input type="checkbox"/> Défavorable	
Hospitalisation	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Réanimation ou USC	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Chirurgie	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Décès	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Commentaires :			

<b>N°8</b>			
Date			
Diagnostic			
Microorganisme	<input type="checkbox"/> Bactérie	<input type="checkbox"/> Virus	<input type="checkbox"/> Champignon
Nom			
Localisation			
Traitement étiologique			
Evolution	<input type="checkbox"/> Favorable	<input type="checkbox"/> Défavorable	
Hospitalisation	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Réanimation ou USC	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Chirurgie	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Décès	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Commentaires :			

<b>N°9</b>			
Date			
Diagnostic			
Microorganisme	<input type="checkbox"/> Bactérie	<input type="checkbox"/> Virus	<input type="checkbox"/> Champignon
Nom			
Localisation			
Traitement étiologique			
Evolution	<input type="checkbox"/> Favorable	<input type="checkbox"/> Défavorable	
Hospitalisation	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Réanimation ou USC	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Chirurgie	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Décès	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Commentaires :			

<b>N°10</b>			
Date			
Diagnostic			
Microorganisme	<input type="checkbox"/> Bactérie	<input type="checkbox"/> Virus	<input type="checkbox"/> Champignon
Nom			
Localisation			
Traitement étiologique			
Evolution	<input type="checkbox"/> Favorable	<input type="checkbox"/> Défavorable	
Hospitalisation	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Réanimation ou USC	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Chirurgie	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Décès	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non	
Commentaires :			

<b>Supplémentation Ig</b>			
Supplémentation	<input type="checkbox"/> Oui		<input type="checkbox"/> Non
Date début			
Dose			
Dosage pondéral avant Ig	Date :		
	IgG :		
	IgA :		
	IgM :		
Dosage pondéral pendant Ig	Date :		
	IgG :		
	IgA :		
	IgM :		
Date fin			
Cause supplémentation	<input type="checkbox"/> Hypogammaglobulinémie	<input type="checkbox"/> Terrain à risque	<input type="checkbox"/> Infections à répétition
	<input type="checkbox"/> Protocole du service		
Cause arrêt supplémentation	<input type="checkbox"/> Sortie de risque	<input type="checkbox"/> Effet indésirable	<input type="checkbox"/> Arrêt RTX
	<input type="checkbox"/> Décès		

**AUTEURE : Nom : LATOUCHE**

**Prénom : Marie**

**Date de soutenance : 1<sup>er</sup> Décembre 2023**

**Titre de la thèse : Facteurs de risque d'infection sévère et statut immunitaire des enfants traités par Rituximab : une étude de cohorte rétrospective au CHU de Lille**

**Thèse - Médecine - Lille 2023**

**Cadre de classement : Pédiatrie**

**DES + FST/option : Pédiatrie**

**Mots-clés : Rituximab, enfant, infections, hypogammaglobulinémie**

**Résumé :**

Introduction : Le Rituximab (RTX) est un anticorps monoclonal anti-CD20 largement utilisé en pédiatrie, qui induit une déplétion des lymphocytes (Ly) B et une hypogammaglobulinémie, dont les conséquences infectieuses sont peu étudiées. L'incidence des infections sévères (IS) et leurs facteurs de risque en population générale restent à définir. L'objectif principal de cette étude était d'évaluer les facteurs de risque d'IS toutes indications confondues et d'évaluer l'évolution des données immunitaires sous RTX et leur association avec l'IS.

Matériel et méthodes : Une étude de cohorte rétrospective a été conduite entre 2010 et 2020 au CHU de Lille incluant tous les enfants qui recevaient au moins une dose de RTX et qui avaient un suivi post-RTX de 2 ans. Les facteurs de risque cliniques, immunitaires et liés aux traitements associés étaient étudiés en analyse multivariée, ainsi que l'évolution de l'hypogammaglobulinémie IgA/G/M et la lymphopénie TCD4/TCD8 pré- et post-RTX.

Résultats : Cette cohorte incluait 210 patients d'âge moyen de  $9,9 \pm 4,9$  ans (56,2% garçons). Un total de 49,5% des patients présentait 310 IS, avec un taux d'incidence à 1 an post-RTX de 1,17 par patient et par an. Les facteurs de risque d'IS en analyse multivariée étaient l'existence d'une infection bactérienne dans les 6 mois avant RTX (OR 4,9 [2,2;10,7],  $p < 0,01$ ) et une chimiothérapie associée au RTX (OR 5,6 [1,4;37,4],  $p < 0,01$ ). Les fréquences de l'hypogammaglobulinémie IgA (+36%,  $p < 0,01$ ), IgM (+46%,  $p < 0,01$ ) et IgG (+13%,  $p = 0,04$ ) augmentaient significativement après RTX ainsi que celles de la lymphopénie T-CD4 (+11%,  $p = 0,03$ ) et T-CD8 (+11%,  $p = 0,05$ ). Cette atteinte immunitaire post-RTX, notamment l'hypogammaglobulinémie IgA et les lymphopénies T-CD4 et T-CD8 dans les 12 mois post-RTX, était associée à la survenue d'IS ( $p < 0,01$ ).

Conclusion : Le risque infectieux sous RTX est réel, sévère et précoce quelle que soit l'indication posée. La dysfonction immunitaire s'aggrave sous RTX avec une augmentation de l'hypogammaglobulinémie toutes classes et de la lymphopénie T. Il est donc nécessaire d'évaluer et de prendre des précautions concernant le risque infectieux sous RTX pour chaque patient, notamment en cas d'infection bactérienne avant traitement et de lymphopénie T après RTX, marqueurs de réponse immunitaire inadéquate.

**Composition du Jury :**

**Président : Pr François DUBOS**

**Assesseurs : Dr Wadih ABOU CHAHLA, Dr Charlotte SAMAILLE**

**Directeur de thèse : Dr Yasemin KARACA**