



Ecology and evolution of acute infectiious diseases : the case of influenza

Sébastien Ballesteros

► To cite this version:

Sébastien Ballesteros. Ecology and evolution of acute infectiious diseases : the case of influenza. Health. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2009. English. NNT : 2009PA066338 . tel-00813188

HAL Id: tel-00813188

<https://theses.hal.science/tel-00813188>

Submitted on 15 Apr 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Thèse de doctorat de l'université Pierre et Marie Curie

Ecologie et Evolution des maladies infectieuses aiguës : le cas de la grippe

Ecole doctorale Diversité du vivant
Spécialité Ecologie Evolution

présenté par
Sébastien Ballesteros

pour obtenir le grade de
**DOCTEUR de l'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE
CURIE**

soutenue le 18 décembre 2009 devant le jury composé de :

M. van Baalen Minus, co-Directeur de thèse
M. Cazelles Bernard, Directeur de thèse
M. Fraser Christophe, Examineur
Mme. Pontier Dominique, Rapporteur
M. Thomas Guy, Président du Jury
Mme. Vergu Elisabeta, Examineur
Mme. Viboud Cécile, Rapporteur

Université Pierre & Marie Curie - Paris 6

Tél. Secrétariat : 01 42 34 68 35

Bureau d'accueil, inscription des

Fax : 01 42 34 68 40

doctorants et base de données

Tél. pour les étudiants de A à EL : 01 42 34 69 54

Esc G, 2ème étage

Tél. pour les étudiants de EM à MON : 01 42 34 68 41

15 rue de l'école de médecine

Tél. pour les étudiants de MOO à Z : 01 42 34 68 51

75270-PARIS CEDEX 06

E-mail : scolarite.doctorat@upmc.fr

Ecologie et Evolution des maladies infectieuses
aiguës : le cas de la grippe

Sébastien Ballesteros

(history) is itself a Western invention whose central theme is the rejection of habitat. It formulates experience outside of nature and tends to reduce place to location... It seeks causality in the conscious, spiritual, ambitious character of men and memorializes them in writing.

PAUL SHEPARD

Résumé

Nous nous intéressons principalement au devenir de la variabilité antigénique, générée au niveau intra-hôte, à l'échelle d'une population ou d'un ensemble de populations. Nous cherchons à comprendre comment la diversité virale et les profils d'immunité croisée des hôtes s'auto-organisent au long de l'évolution et comment cette organisation affecte la dynamique épidémique. Nous prenons l'exemple de la grippe A humaine qui apparaît comme le candidat idéal du fait de la quantité importante de données épidémiologiques et virales disponibles. Les phylogénies de l'antigène principal de la grippe révèlent une structure particulière avec un tronc très peu ramifié révélant le remplacement successif des différents variants antigéniques dans le temps. Trois hypothèses principales permettent de rendre compte de cette diversité antigénique bien plus réduite qu'attendu : (i) l'infection par une souche induit une période temporaire d'immunité totale, générant un mécanisme de densité-dépendance directe régulant le nombre de souches ; (ii) le nombre de phénotypes possibles est limité, les virus ré-explorant sans cesse le même nombre fini de types antigéniques ; (iii) l'évolution de l'antigène principal de la grippe est ponctuée, les grands échappements ponctuels à l'immunité générant des balayages sélectifs. Cette dernière hypothèse, révélant l'importance des dynamiques épidémiologiques transitoires, est aujourd'hui largement dominante. Elle permet aussi de rendre compte de l'importante variabilité des épidémies de grippe de la zone tempérée, de larges échappements à l'immunité pouvant induire de plus grandes épidémies. Nous commençons par introduire un modèle très simple permettant de mieux cerner les mécanismes impliqués dans les simulations complexes ayant mené à l'hypothèse (iii). Cette première étude révèle qu'une partie des résultats des simulations ayant conduit à la validation de cette l'hypothèse repose sur l'emploi d'un formalisme particulier visant à réduire la complexité du modèle utilisé. Nous montrons que ce formalisme, d'usage courant pour décrire des modèles multi-souches, induit de manière implicite un processus immunologique irréaliste dans le cas de la grippe. Nous montrons ensuite que les séries temporelles d'incidences grippales, marquées par des épidémies régulières mais de taille fortement variable ne peuvent pas fournir une preuve du caractère éventuellement ponctué de l'évolution antigénique de la grippe, un modèle parcimonieux prenant en compte une évolution antigénique purement graduelle étant à même de les reproduire qualitativement et quantitativement. Ce dernier modèle se révèle être capable de produire des dynamiques régulières avec amplitude

chaotique pour les valeurs de paramètres considérées réalistes pour la grippe et également pour ceux que nous inférons depuis deux séries temporelles par une approche de maximum de vraisemblance par filtrage particulaire itératif. Le caractère chaotique de ces dynamiques marque une limite fondamentale dans notre capacité à pouvoir prédire la taille des futures épidémies de grippe et ce, indépendamment de la contingence évolutive. Nous développons alors un formalisme suffisamment simple pour pouvoir être confronté aux données et tester les différentes hypothèses permettant de rendre compte de la phylogénétique de la grippe. Cette dernière étude révèle l'importance d'une clarification des processus immunologiques se déroulant au niveau intra-hôte, du rôle de l'hétérogénéité spatiale locale, ainsi que des conséquences fonctionnelles des mutations affectant les propriétés antigéniques des virus. Pris dans l'ensemble, notre travail révèle la nécessité d'un cadre unifié permettant d'appréhender de façon globale les interactions complexes et multi-échelles entre processus immunologiques, épidémiologiques et évolutifs.

Mots clés : écologie ; évolution ; épidémiologie ; grippe ; modèles multi-souches ; système immunitaire ; système dynamique ; dynamique chaotique ; phylodynamique ; filtrage particulaire

Table des matières

1	Introduction	9
1.1	Origine des principales maladies infectieuses humaines : les transitions épidémiologiques	9
1.1.1	Première transition : la révolution néolithique	9
1.1.2	Seconde et troisième transition : contact entre les civilisations et décimations trans-océaniques	11
1.1.3	Quatrième transition : le monde moderne à travers l'exemple de la grippe	12
1.2	Évolution des maladies infectieuses à travers différentes échelles spatio-temporelles	18
1.2.1	Différentes trajectoires évolutives	18
1.2.2	Contraintes écologiques	18
1.2.3	Prise en compte de la dynamique intra-hôte	21
1.2.4	Prise en compte de la variation antigénique	23
1.2.5	Devenir des variants antigéniques à l'échelle de la population d'hôtes	27
1.3	Un cas d'école : la grippe	30
1.3.1	L'évolution comme processus écologique	31
1.3.2	L'âge d'or de la génétique	33
1.3.3	Les modèles multi souches	35
1.3.4	Les clusters antigéniques	42
1.3.5	Une évolution antigénique graduelle ou ponctuelle ?	50
1.3.6	Dynamique source-puits et apport des analyses à l'échelle génomique	53
1.3.7	Recyclage antigénique	55
1.4	Objectif de la thèse	59

2	Influenza A gradual and epochal evolution : insights from simple models	63
2.1	Introduction	64
2.2	Methods	67
2.2.1	Different assumptions for the modelling of partial cross-immunity for co-circulating antigenic clusters; deterministic framework	67
2.2.2	Stochastic models	73
2.2.3	Parameter values	73
2.3	Results	74
2.3.1	Invasion condition of the mutant cluster	74
2.3.2	Invasion and extinction	76
2.3.3	External re-introductions	80
2.3.4	Re-invasion time-scales	82
2.4	Discussion	85
2.4.1	Is the <i>SBRI</i> model particularly appropriate?	85
2.4.2	Toward a minimal theory for influenza	87
2.5	Acknowledgments	92
3	Chaotic but regular recurrent influenza epidemics : from theory to observation	94
3.1	Introduction	95
3.2	Theory	97
3.2.1	A minimal model for influenza A	97
3.2.2	UPCA dynamics in influenza epidemics	100
3.3	Corroborations from observations	102
3.4	Robustness	104
3.5	Discussion	106
4	The transition from invasion to persistence for influenza antigenic units	111
4.1	Introduction	112
4.2	A general framework for co-circulating cross-reactive IAU subject to gradual antigenic drift	115
4.2.1	A history-based model with two levels of immunity (<i>SIRX</i>)	116
4.2.2	Invasion condition for the 2-IAU <i>SIRX</i> model	117
4.3	Transient dynamics of the <i>SIRX</i> model	120

4.3.1	Endemic equilibrium of the 1-IAU <i>SIRX</i> model	120
4.3.2	Invasion-replacement dynamics with the 2-IAU <i>SIRX</i> model	120
4.3.3	Metapopulation dynamics and seasonality	124
4.3.4	Functional constraints and evolutionary trade-off between immune escape and transmission	129
4.4	Temporary period of IAU-transcending immunity	129
4.4.1	Biological hypothesis	129
4.4.2	Extension of the simple <i>SIRX</i> model	133
4.4.3	Invasion threshold for the <i>SIRX</i> $Q_{1/12}$ model	134
4.4.4	Transient dynamics	134
4.4.5	Metapopulation dynamics	135
4.5	Discussion	137
4.5.1	The <i>SIRX</i> framework for drifting co-circulating IAUs .	137
4.5.2	Noisy gradual antigenic drift or punctuated immune escape	140
5	Discussion	143
5.1	Résumé des principaux résultats	144
5.2	Perspectives	147
A	Supporting Information : Influenza A gradual and epochal evolution : insights from simple models	153
A.1	Reaction scheme for the <i>SBRI</i> model	153
A.2	Critical community size for influenza	155
A.3	Complementary results for the theoretical parameters set . . .	157
A.4	A model for within cluster antigenic drift	161
A.5	Functional constraints	164
B	Supporting Information : Chaotic but regular recurrent influenza epidemics : from theory to observation	166
B.1	Models	167
B.1.1	A minimal model for two subtypes of influenza A interacting via a short period of full cross-immunity . . .	167
B.1.2	Stochastic metapopulation model with age structure . .	168
B.1.3	Numerical Methods	169
B.2	Parameter inference	170
B.2.1	Methods	170

B.2.2	Results for Ile de France data	170
B.2.3	Results for Israel data	173
B.3	Additional figures	173
B.4	Periods bifurcations	179
C	Supporting Information : The transition from invasion to persistence for influenza antigenic units	182
C.1	Justification of the <i>SIRX</i> model	183
C.1.1	History based models	183
C.1.2	Status based model	187
C.1.3	Comparison of status based and history based framework : effect of cross-immune boosting	191
C.2	Reinfection limits	193
C.3	Additional figures	194
C.3.1	Transient dynamics : determinist models	194
C.3.2	Effect of functional constraints	198
C.3.3	Metapopulation dynamics : stochastic models	199
D	Reinfection as a potential phenomenon for influenza pandemics : Tristan da Cunha 1971 epidemic as a case study	205
D.1	Introduction	205
D.2	Hypothesis Test	207
D.3	Results	209
D.4	Discussion	212
D.5	Materials and Methods	215
D.5.1	Data	215
D.5.2	Models	217
D.5.3	Simulation and model selection	218

Chapitre 1

Introduction

Cette thèse porte très largement sur la grippe. Cependant, étant donné le nombre considérable d'excellentes synthèses sur ce sujet par exemple (Webster *et al.* (1992); Earn *et al.* (2002); Cox & Subbarao (2000); Nelson & Holmes (2007)) nous avons préféré resituer la grippe dans le contexte globale des maladies infectieuses humaines, en cherchant à comprendre comment facteurs écologiques et évolutifs ont pu façonner la grippe humaine. Nous avons néanmoins essayé d'introduire progressivement dans le texte les notions clés associées à la grippe, mais le lecteur souhaitant une approche plus structurée sur ce seul sujet gagnera à consulter les synthèses précédemment citées.

1.1 Origine des principales maladies infectieuses humaines : les transitions épidémiologiques

1.1.1 Première transition : la révolution néolithique

La révolution néolithique il y a environ 11 000 ans a constitué un tournant majeur dans l'histoire de l'humanité. Le changement d'un mode de vie essentiellement nomade de type "chasseur-cueilleur" marqué par de petites tailles de population à un mode de vie sédentaire centré autour de la pratique agricole et la domestication animale et végétale a constitué sans doute le bouleversement le plus conséquent que notre espèce ait traversé. Les débuts de l'agriculture ont dû être particulièrement éprouvants pour les premières

sociétés agricoles. Les études paléopathologiques comparant les squelettes des sociétés pré et post agricoles révèlent en effet que les premiers agriculteurs étaient plus petits et avaient une espérance de vie considérablement réduite par rapport aux chasseurs cueilleurs avoisinants. Les premiers agriculteurs étaient généralement moins bien nourris et plus exposés aux maladies infectieuses (McMichael, 2004).

L'exposition accrue aux maladies infectieuses résulte de plusieurs facteurs. La sédentarisation a par exemple confronté davantage les communautés humaines à leurs propres déchets favorisant un contact accru avec de nombreux parasites et la prolifération d'insectes et de rongeurs. Cependant le facteur majeur semble avoir été la domestication animale et les contacts considérablement plus fréquents entre humains et animaux domestiques (Diamond, 2002). Ces contacts accrus ont grandement favorisé la probabilité que des pathogènes adaptés aux animaux franchissent la barrière d'espèces (Antia *et al.*, 2003) et s'introduisent dans la nouvelle niche écologique offerte par une population humaine grandissante. Le développement des premières villes marquées par de fortes densités de populations humaines a constitué le facteur associé conduisant à l'établissement durable de ces nouveaux agents infectieux (Armelagos *et al.*, 2005). Les études sur la rougeole sont particulièrement illustratrices à ce sujet. La rougeole comme l'essentiel des maladies infectieuses aiguës provoque une infection relativement courte de l'ordre de grandeur de la semaine résultant en une épidémie explosive. Du fait de la déplétion du stock de susceptibles, la rougeole ne peut se maintenir dans les petites communautés que si elle est réintroduite après que de nouveaux individus immunologiquement naïfs aient vu le jour. Les îles Faroe d'une population de 25000 habitants ont fourni un exemple saisissant de ce phénomène donnant lieu à des dynamiques critiques suivant des lois puissance (Rhodes & Anderson, 1996; Rhodes *et al.*, 1997). Cependant, comme le démontre Bartlett (1957, 1960) à partir d'une taille de communauté critique (CCS) (estimée de l'ordre de 250 000 - 500 000 individus pour la rougeole), le renouvellement de susceptibles, du fait des naissances et des morts, devient suffisant pour maintenir à l'état endémique un agent infectieux provoquant une maladie aiguë. Grenfell *et al.* (2001) montrent par exemple comment les grands centres de population du royaume unis réensemencent les villes de tailles inférieures à la CCS, permettant ainsi le maintien de la rougeole.

Des tailles de populations humaines de 250 000 - 500 000 habitant n'existaient pas sur Terre avant l'émergence des villes et des civilisations agricoles (Diamond, 1999). Black (1975) a par exemple montré que les populations

amérindiennes isolées ayant gardé le mode de vie chasseur cueilleur n'étaient pas soumises à ces maladies aiguës. Ces communautés de l'ordre de grandeur de 300 personnes sont en effet trop réduites pour permettre le maintien des maladies aiguës. Elles étaient par contre sujettes à des maladies chroniques, restant longtemps chez les hôtes ou bien réactivables telle la varicelle.

Si la croissance marquée de la population humaine a offert de nouvelles possibilités aux maladies infectieuses préexistantes, la domestication animale et végétale et la présence grandissante de grands troupeaux et peuplements végétaux cultivés a aussi fourni de nouvelles niches écologiques à de nombreux organismes. Mira *et al.* (2006) montrent par exemple que la révolution néolithique a été accompagnée par une explosion du nombre de séquences d'insertion dans les génomes bactériens associés aux larges communautés humaines et agricoles. Ces séquences d'insertion sont supposées avoir participé au processus de réduction génomique allant de pair avec une spécialisation accrue aux nouvelles niches écologiques fournies par la domestication.

1.1.2 Seconde et troisième transition : contact entre les civilisations et décimations trans-océaniques

L'origine des principales maladies humaines aiguës, les “crowd diseases”, est donc intimement liée à l'essor des civilisations agricoles. Étant données les inégalités géographiques du potentiel de domestication, ces maladies ont donc été longtemps associées aux grands foyers de domestications animales situés essentiellement dans l'Ancien Monde notamment en Eurasie (par exemple, 13 des 14 principales espèces de mammifères domestiques sont originaires d'Eurasie) (Diamond, 2002). Wolfe *et al.* (2007) montrent ainsi que les régions tropicales ont plus souvent fourni des maladies infectieuses chroniques, à plus longues périodes d'infections. Les principales maladies infectieuses humaines venant de la zone tropicale proviennent aussi en majorité de l'Ancien Monde. Wolfe *et al.* (2007) relient ce fait remarquable à l'importance qu'ont joué les primates dans l'émergence des maladies infectieuses humaines (avec une contribution d'environ 20 % des principales maladies infectieuses humaines). L'importance des primates s'explique par leur proximité génétique avec l'homme favorisant le saut de barrière d'espèce. La différence entre Ancien Monde et Nouveau Monde tropical se comprend alors du fait que la distance génétique entre les humains et les singes du Nouveau Monde est presque le double de celle séparant les humains des singes de l'Ancien Monde

et plusieurs fois supérieure à celle séparant humains et grands singes de l’Ancien Monde.

Ainsi, si la seconde transition épidémiologique a constitué un échange de maladies infectieuses au sein de l’Ancien Monde, la troisième transition et le contact entre Ancien et Nouveau Monde a été plutôt un processus de dissémination des nouvelles maladies dans des populations jusqu’alors naïves. Plus que les conquistadors, l’arrivée de la variole, de la rougeole et de la grippe suivies un siècle plus tard de la malaria eurent raison de 90% de la population native du nouveau monde (McMichael, 2001). L’esclavagisme a été une composante importante de cette introduction de maladies dans le Nouveau Monde. Par exemple si l’origine de la dengue se trouve dans les forêts d’Afrique ou d’Asie, elle fût décrite pour la première fois à Philadelphie en 1789 suite à l’import d’esclaves infectés et du vecteur en Amérique (Holmes, 2008). De même, la fièvre jaune accompagna les esclaves d’Afrique vers l’Amérique (Bryant *et al.*, 2007).

1.1.3 Quatrième transition : le monde moderne à travers l’exemple de la grippe

Dans une étude récente menée à l’échelle planétaire, Jones *et al.* (2008) ont rigoureusement démontré un accroissement statistiquement significatif du nombre d’événements de maladies infectieuses émergentes (corrigé de l’augmentation du taux de report) entre 1940 et 2004 avec un pic dans les années 1980 lors de la pandémie du SIDA. Ces maladies infectieuses émergentes (EID) sont dûes à l’apparition de nouvelles maladies chez l’homme (*e.g* VIH, SRAS), à l’apparition de formes résistantes de pathogènes (*e.g* *Mycobacterium tuberculosis* multirésistants, en raison de sa résistance à au moins deux des principaux antituberculeux, résistance de *Plasmodium falciparum* à l’antipaludique le plus utilisé, la chloroquine) ou bien enfin à l’augmentation d’incidence de maladies jusqu’alors peu prévalentes (*e.g* maladie de Lyme). Jones *et al.* (2008) révèlent en particulier la part prépondérante et le nombre croissant des EID dûes à des zoonoses (60.3% des 335 EID reportées) dont la majorité (71.8%) trouvent leur origine chez les animaux sauvages. Jones *et al.* (2008) proposent une carte des “hotspots” d’EID correspondant pour les zoonoses, aux régions avec des changements démographiques récents et rapides, une production animale en intensification ou récemment intensifiée et où la biodiversité est élevée. Comme le rappellent ces auteurs en conclu-

sion de leur article, la conservation des zones riches en biodiversité permet entre autre d'y réduire les activités anthropiques et par la même de diminuer la probabilité d'émergence de futures zoonoses.

Il est en réalité possible de trouver une cause écologique directe pour pratiquement toutes les maladies émergentes humaines modernes (Schrage & Wiener, 1995; Morse, 1995). En particulier on peut citer comme facteurs invoqués, les changements de pratiques agricoles et d'usage des sols tels l'intensification agricole et la déforestation, l'explosion des capacités de transports et des flux de passagers, l'urbanisation grandissante et l'essor des mégalo-poles, l'accroissement grandissant des inégalités sociales et de la densité de population, le collapse des systèmes de santé publiques et l'utilisation à grande échelle de médicaments favorisant l'apparition de résistances (voir Daszak *et al.* (2000); Morens *et al.* (2004); Daszak *et al.* (2004); Woolhouse *et al.* (2005); Despommier *et al.* (2006) pour des synthèses). Si certains de ces facteurs existent depuis très longtemps, la complexité du monde actuel rend leurs actions plus effectives que jamais (Morens *et al.*, 2008).

Nous nous limiterons ici à l'exemple de la grippe dont la pandémie actuelle (Team *et al.*, 2009) illustre plus que jamais l'actualité. La grippe humaine est provoquée par trois types antigéniques de virus appartenant à la famille des Orthomyxoviridae, les virus grippaux A, B, C par ordre de dangerosité décroissante pour notre espèce.

La grippe de type A est elle même divisée en différents sous-types déterminés par les deux antigènes de surface majeure : l'hémagglutinine (HA) et la neuraminidase (NA). Ces virus sont dispersés dans tout le monde animal (oiseaux terrestres et marins, chevaux, porcs, mammifères marins) mais sont originaires des oiseaux sauvages aquatiques et notamment des canards sauvages qui constituent leurs réservoirs naturels (Webster *et al.*, 1992). On a identifié chez eux la totalité des 16 HA et 9 NA connus dont 103 des 144 combinaisons possibles (Dugan *et al.*, 2008). Les virus aviaires sont en outre différenciés selon leur pathogénicité envers les poulets. Les souches causant des épidémies sévères et de hauts taux de mortalité sont qualifiés de virus aviaires hautement pathogènes (HPAI) tandis que ceux causant des épidémies plus faibles chez les volailles domestiques sont classifiés de virus aviaires faiblement pathogènes (LPAI) (Olsen *et al.*, 2006).

Les pandémies grippales humaines proviennent du passage de virus aviaires complet ou seulement de certains gènes d'origine aviaire et/ou porcin chez l'homme (Zimmer & Burke, 2009). Ce processus est facilité par la nature fragmentée du génome de la grippe comprenant 8 brins d'ARN

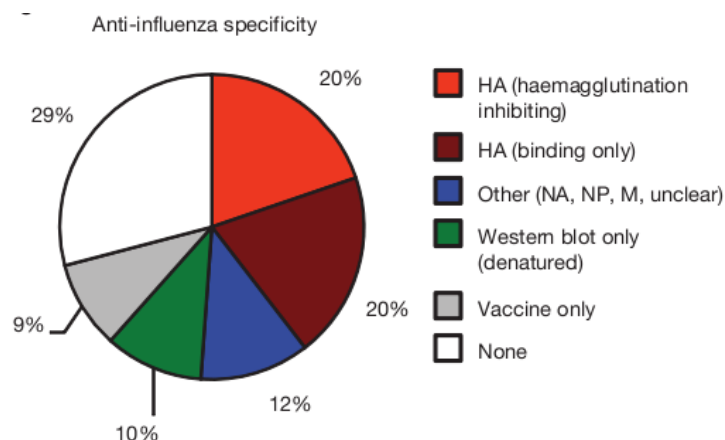


FIG. 1.1: Spécificité des anticorps produits après vaccination de volontaires avec un vaccin contre la grippe saisonnière (reproduit d'après Wrammert *et al.* (2008)). On constate en particulier que 60% des anticorps réactifs à la grippe sont dirigés contre HA.

monocaténaire de polarité négative. La figure 1.2 récapitule l'histoire des pandémies récentes depuis 1918 mettant en avant l'histoire génétique intriquée se déroulant chez les hommes et les porcs depuis la grippe espagnole. Cette grippe, datée de 1918 est responsable d'environ 4 fois plus de morts que la première guerre mondiale et marque l'entrée dans la population humaine de H1N1. Il est maintenant reconnu que cette grippe est passée directement des oiseaux à l'homme très probablement en raison des circonstances exceptionnelles associées à la première guerre mondiale. En particulier, Oxford *et al.* (2005) suggèrent que son origine pourrait remonter à 1916 au sein du camp militaire britannique d'Étaples dans le nord de la France. Ce camp militaire ayant connu des épidémies similaires à celle de 1918 présente en effet une conjonction de facteurs remarquables avec plus de 100 000 soldats, sans cesse renouvelés par l'arrivée quotidienne jour et nuit de trains déversant des soldats blessés provenant des champs de bataille de la Somme ; un logis surpeuplé fait de tentes et de baraquements temporaires en bois, idéal pour la propagation d'une maladie respiratoire ; l'existence d'une importante porcherie et la proximité de nombreux élevages et marchés de poulets, canards oies et chevaux, le tout dans un milieu hostile lourdement contaminé par la présence de 24 gaz (dont certains mutagènes et irritants des voies respira-

toires) créés par les combats. Le déclenchement final aurait été le retour des millions de soldats partout à travers le monde à l'automne 1918. De manière quasiment simultanée un virus relativement similaire a fait son apparition chez le porc en Amérique du Nord causant de nombreuses épidémies dans les élevages (Zimmer & Burke, 2009). Depuis se déroule une histoire génétique complexe, marquée par l'intrusion de nouveaux gènes d'origine aviaire chez les hommes (H2N2 en 1957 et H3N2 en 1968) et les cochons (H1N1 porcine européen en 1979) (Morens *et al.*, 2009). Cette introduction de gènes se fait par réassortiment, nécessitant la coinfection par deux types distincts de virus. Les réassortiments entre différents sous-types peuvent être facilités par le porc, qui constitue un hôte privilégié, sensible à la fois aux virus aviaires et humains (Webster *et al.*, 1992).

Ce mécanisme s'est répété récemment avec un triple réassortiment (figure 1.2) ayant donné naissance à une nouvelle souche de H1N1 pandémique apparue initialement dans la ville mexicaine de La Gloria à la mi Février 2009 (Fraser *et al.*, 2009). On peut remarquer que cette région de l'état de Veracruz correspond à un des hotspot d'EID de Jones *et al.* (2008). D'une manière préoccupante, cette souche, maintenant répandue à travers le monde, a été caractérisée comme étant plus virulente que la grippe H1N1 saisonnière chez 3 modèles animaux (souris, furet et singes) (Itoh *et al.*, 2009).

Les contacts répétés entre les hommes et les oiseaux aquatiques sauvages, les volailles domestiques et les porcs (eux même en contact avec les oiseaux aquatiques sauvages) sont donc la cause ultime de l'apparition de nouvelles souches pandémiques chez l'homme. Ainsi, Day *et al.* (2006) montrent que si les pandémies des 250 dernières années ont eu lieu majoritairement via les réassortiments chez l'homme, alors des milliers d'infections humaines par des virus aviaires doivent avoir lieu chaque année. Ces auteurs montrent aussi que s'il existe une diversité génétique importante chez les virus aviaires, la multiplication des contacts entre hommes et animaux est le facteur ayant le plus d'impact sur l'augmentation de la probabilité d'apparition d'une pandémie dans la population humaine. Dans le contexte de la quatrième transition épidémiologique décrite dans cette partie, ces résultats sont particulièrement inquiétants car jamais les contacts entre humains et animaux porteurs de la grippe n'ont été aussi élevés (Kapan *et al.*, 2006; Leibler *et al.*, 2009).

L'augmentation sans précédent des productions animales avicoles et porcines, en particulier dans des régions fortement peuplées et riches en avifaune sauvage, est une cause directe de cette augmentation en jouant le rôle d'un pont entre oiseaux sauvages réservoirs et populations humaines mais aussi

en ayant un impact direct sur l'évolution des pathogènes. Ces deux points sont particulièrement bien illustrés par l'épidémie de grippe aviaire H5N1 initialement reconnue à Hong Kong en 1997 et caractérisée par son exceptionnel virulence (de Jong *et al.*, 2006). La transition de virus LPAI à HPAI (pouvant être provoquée par une seule mutation ponctuelle de HA) est en effet largement favorisée par les conditions régnant dans les élevages industriels à production intensive. Ces derniers sont en particulier caractérisés par de très fortes densités d'animaux confinés et souvent immunodéprimés où le renouvellement des susceptibles est de plus en plus rapide dû d'une part à l'abattage de plus en plus précoce permis par la sélection d'animaux à croissance rapide et d'autre part aux nombreux échanges entre les fermes favorisant une dissémination rapide avant que l'épidémie ne s'éteigne localement (Leibler *et al.*, 2009). Chen & Holmes (2006) révèle ainsi que les taux de substitution et les pressions de sélection (mesurées par le ratio de substitutions non synonymes sur synonymes) sont plus élevés chez les espèces domestiques que chez l'ensemble des oiseaux sauvages.

A terme, seule une approche d'écologie de la santé (Daszak *et al.*, 2004; Wilcox & Colwell, 2005; Kapan *et al.*, 2006) permettra de gérer globalement les risques de pandémies hautement virulentes grippales. Kilpatrick *et al.* (2006) ont par exemple montré comment la diffusion de l'épizootie de grippe aviaire H5N1 avait été le fait d'une synergie entre les mouvements d'oiseaux migrateurs et le commerce international de volailles et d'oiseaux sauvages. La diminution des contacts entre oiseaux migrateurs venant nicher dans les zones agricoles et volailles domestiques se fera par exemple de façon durable en restaurant les zones humides, habitat naturel des oiseaux migrateurs aquatiques, ayant été essentiellement détruites suite à l'extension des zones agricoles irriguées (Lemly *et al.*, 2000). Une approche d'écologie de la santé à la grippe aviaire est d'autant plus souhaitable que la situation actuelle a des répercussions à de multiples échelles. Jeffries *et al.* (2004) ont par exemple montré que l'intensification de l'agriculture a fourni un apport alimentaire aux Anatidae (cygnes, oies, canards) qui a permis une croissance géométrique de leur population. Ces grands nombres d'oiseaux ont drastiquement affecté les marais côtiers de l'Arctique (où ils se reproduisent) affectant négativement différents groupes d'organismes.

1.2 Évolution des maladies infectieuses à travers différentes échelles spatio-temporelles

Nous avons vu que l'accroissement des tailles de populations humaines et de leurs plantes et animaux domestiques suite à la révolution néolithique a induit un changement de pression de sélection majeur et permis l'émergence de nouvelles formes d'agents infectieux.

1.2.1 Différentes trajectoires évolutives

Suite à ces changements écologiques et évolutifs majeurs, nous vivons donc en présence de trois grands types de maladies :

- Des maladies aiguës très contagieuses et fortement immunisantes : l'âge de première infection est typiquement bas (Anderson & May, 1992) et la protection acquise reste efficace à vie. Ce type de maladies constitue l'essentiel des maladies infectieuses infantiles.
- Des maladies aiguës un peu moins transmissibles, résultant en un âge de première infection plus élevé et des réinfections tout au long de la vie. La grippe est l'exemple typique de cette catégorie.
- Des maladies chroniques, largement moins transmissibles en moyenne, et marquées par des durées d'infections considérablement plus longues. Les maladies sexuellement transmissibles (dont le VIH) sont l'archétype de cette dernière catégorie.

1.2.2 Contraintes écologiques

Relativement peu d'études se sont intéressées aux trajectoires évolutives pouvant mener aux maladies aiguës. Pourtant, ce cas est emblématique de la révolution néolithique et il existe des exemples bien documentés. Le genre bactérien *Bordetella* est particulièrement illustratif avec 2 espèces, *Bordetella pertussis* et *Bordetella parapertussis* responsable de la coqueluche, une maladie infantile aiguë humaine, ayant évolué indépendamment à partir de *Bordetella bronchiseptica*, qui infecte une large variété de mammifères sauvages et domestiques généralement sous la forme d'une infection chronique et largement avirulente (Bjørnstad & Harvill, 2005).

Le modèle déterministe *SIR* constitue un bon point de départ pour l'étude de l'évolution des maladies infectieuses (Dieckmann *et al.*, 2002). Par exemple, l'équation (1.1) décrit un système où 2 souches, référencées 1 et 2, sont en compétition directe pour une même population d'hôtes susceptibles (*S*).

$$\begin{aligned}\dot{S} &= B - \beta_1 S I_1 - \beta_2 S I_2 - \mu R \\ \dot{I}_1 &= \beta_1 S I_1 - \nu_1 I_1 - \alpha_1 I_1 - \mu I_1 \\ \dot{I}_2 &= \beta_2 S I_2 - \nu_2 I_2 - \alpha_2 I_2 - \mu I_2 \\ \dot{R} &= \nu_1 I_1 - \nu_2 I_2 - \mu R\end{aligned}\tag{1.1}$$

Dans ce système, I_1 et I_2 représentent la densité d'individus infectés et infectieux pour les souches 1 et 2, R , la densité d'individus guéris et immunisés. La population est soumise à des naissances (B) et des morts selon un taux μ . Les autres paramètres décrivent le taux de guérison, ν , qui détermine le temps d'infection ($1/\nu$), le taux de transmission, β , et la virulence de l'agent infectieux, α , mesuré comme l'extra mortalité qu'il induit.

On peut montrer que sous ce système, l'agent infectieux ayant le plus grand taux de reproduction de base (R_0 défini comme le nombre d'infections secondaires provoquées par un individu infecté placé dans une population totalement susceptible $R_0 = \frac{\beta}{\mu + \nu + \alpha}$) l'emporte et exclut compétitivement l'autre souche.

Le modèle *SIR* déterministe prédit ainsi une évolution maximisant le R_0 et donc une évolution vers un taux de guérison et une virulence les plus petits possibles, menant vers des maladies chroniques avirulentes.

van Ballegooijen & Boerlijst (2004) ont été parmi les premiers à proposer un mécanisme capable d'expliquer une évolution vers des maladies aiguës. Ces auteurs ont considéré comme base de leur étude un modèle *SIRS* sous la forme d'un automate cellulaire. Ce modèle permet un retour des individus immunisés (R) vers l'état susceptible S (suite à une immunité décroissante ou une évolution antigénique de l'agent infectieux) et tient compte de la structuration spatiale de la population d'hôtes (sur une grille en deux dimensions). Dans ce contexte spatial van Ballegooijen & Boerlijst (2004) montrent qu'un compromis évolutif linéaire entre taux de guérison et taux de transmission émerge. Le système évolue de lui même vers une valeur de R_0 puis cette valeur restant constante, la durée d'infection diminue. Cette sélection pour

des maladies aiguës s’explique par le fait que les agents infectieux à courte durée d’infection induisent des vagues épidémiques plus fréquentes. L’auto-organisation spatiale du système conduit donc, en l’absence de contraintes physiologiques, à une sélection pour la fréquence des épidémies.

Read & Keeling (2007) ont montré que l’évolution vers des maladies aiguës pouvait aussi avoir lieu en considérant le modèle *SIR* de l’équation (1.1) (et donc sous l’hypothèse de la loi d’action de masse où la population est parfaitement mélangée) où différentes souches sont en compétition directe pour la même ressource, mais en tenant compte de la stochasticité démographique. En imposant un R_0 constant, et donc en imposant un compromis évolutif linéaire entre transmission et taux de guérison, Read & Keeling (2007) révèlent l’existence d’une instabilité évolutive à partir de laquelle deux trajectoires évolutives sont possibles, l’une menant vers des maladies aiguës et l’autre vers de longues durées d’infections. Au coeur de ce mécanisme se trouve un compromis évolutif à deux échelles temporelles entre capacité d’invasion et capacité à persister (Keeling, 2000). A R_0 identique, les agents infectieux évoluant vers de courtes durées d’infection génèrent des épidémies plus rapides mais avec un risque d’extinction post-épidémique considérablement accru. En considérant que les agents infectieux peuvent être réintroduits, Read & Keeling (2007) ont observé deux régimes distincts : dans le cas où le système évolue vers des agents infectieux à courte durée d’infection, on observe de rapides épidémies explosives résultant en de fréquentes extinctions. Pendant ces périodes d’extinction, le stock de susceptibles se renouvelle grâce au processus démographique et la présence de réintroduction peut générer de nouvelles épidémies. Lorsque différentes souches sont réintroduites, les souches capables d’infecter rapidement le plus grand nombre d’hôtes sont avantagées, et ainsi, on observe une sélection vers des souches de plus en plus aiguës. Une conséquence de cette dynamique de type “boom and bust” est l’apparition d’une covariance fortement négative entre le nombre de susceptibles et d’infectés, ce qui, comme montré par Keeling (2000) a le même effet que de diminuer le R_0 . A l’inverse, dans le régime où les agents infectieux évoluent vers de longues durées d’infections, le nombre de susceptibles et d’infectés est beaucoup plus proche de celui correspondant à l’équilibre déterministe et il y a donc une covariance négligeable entre les individus susceptibles et infectés. Les souches plus rapides n’ont donc pas d’avantages particuliers, et, comme la covariance entre susceptible et infecté est faible, les souches à longue durée d’infection ne souffrent pas d’une diminution du R_0 et sont donc sélectionnées.

Au vu de ces résultats, il est intéressant de remarquer que la plupart des maladies infectieuses infantiles humaines sont caractérisées par des paramètres se situant dans une région de forte résonance stochastique (généralisant des dynamiques oscillantes), elle-même située à la frontière d’une région où les réintroductions externes sont nécessaires pour permettre leur persistance (Alonso *et al.*, 2007a).

1.2.3 Prise en compte de la dynamique intra-hôte

Read & Keeling (2006) et King *et al.* (2009) ont permis une avancée majeure dans notre compréhension de l’émergence des maladies infectieuses aiguës en prenant en compte les pressions de sélections induites par la dynamique intra-hôte, alors que les études précédentes ne s’intéressaient qu’au niveau épidémiologique.

Read & Keeling (2006) et King *et al.* (2009) ont en effet utilisé des modèles de dynamiques intra-hôte (voir Alizon & van Baalen (2008) pour une revue complète) afin de faire émerger à partir d’une base mécaniste, les liens pouvant avoir lieu entre les différents paramètres d’intérêt épidémiologique. A titre d’exemple, King *et al.* (2009) modélisent la dynamique intra-hôte de l’interaction de la populations de pathogènes (P) avec le système immunitaire (X) en utilisant l’équation (1.2).

$$\begin{aligned}\dot{P} &= rP - kXP \\ \dot{X} &= \alpha - dX + \gamma kXP\end{aligned}\tag{1.2}$$

Le pathogène est entièrement défini par son taux de réplication r et la durée d’infection est alors une conséquence de la dynamique intra-hôte. En particulier, une propriété générale des modèles utilisés par Read & Keeling (2006) et King *et al.* (2009) est que de petites valeurs de r provoquent des infections durant longtemps, tandis que des valeurs plus élevées provoquent des infections courtes. Dans tous les cas, la charge de pathogènes cumulée augmente avec r .

Pour passer à la dynamique inter-individus et donc au niveau épidémiologique, il reste à établir une fonction (fonction de transmission) reliant le taux de transmission du pathogène aux variables du modèle intra-hôte. L’hypothèse la plus souvent retenue est une fonction linéaire telle que $\beta = qP(t)$, mais d’autres fonctions, prenant par exemple en compte un délai

avant la possibilité d'infection ou bien une saturation au bout d'un niveau de charge parasitaire donné, sont possibles et sûrement plus réalistes.

Étant donné que la charge de pathogènes cumulée augmente avec r , King *et al.* (2009) montrent que lorsque l'on utilise une fonction de transmission linéaire, les pathogènes ayant les taux de réplication r les plus élevés sont ceux ayant les durées d'infections les plus courtes et le R_0 le plus élevé. La sélection naturelle favorise donc des agents infectieux à durées d'infection de plus en plus courtes. Or, comme nous avons vu précédemment, une durée d'infection courte résulte en des dynamiques fortement oscillantes entraînant un risque d'extinction élevé. L'évolution tend donc à pousser les pathogènes à la frontière de leur propre extinction (Rand *et al.*, 1995). La limite ultime de cette évolution vers de courtes durées d'infections est donc, *in fine*, la taille de population, des populations de grandes tailles permettant de soutenir des pathogènes toujours plus aiguës (et transmissibles). La situation est différente lorsque l'on considère des fonctions de transmission non linéaires car il peut alors exister une limite à l'accroissement de r . Dans le cas de fonctions de transmission avec délais, cette limitation provient du fait que, passé un certain seuil, le pathogène est éliminé de l'hôte avant que la transmission n'ait pu avoir lieu. Pour les fonctions de transmission saturante, passé un certain point, l'augmentation de charge parasitaire n'a plus d'effet sur la transmission mais diminue le temps d'infection, pénalisant ainsi les pathogènes à r trop élevé. Dans ces derniers cas, lorsque la population d'hôtes est suffisamment grande, la dynamique épidémiologique cesse de contraindre l'évolution du taux de guérison et les traits d'histoire de vie deviennent uniquement déterminés au niveau intra hôte. Dans ce contexte (ne considérant pas l'extinction des agents infectieux, et donc le compromis évolutif entre invasion et persistance), Alizon (2008) montre que les pressions de sélection au niveau intra-hôte seul, peuvent suffire à fixer un taux de guérison évolutivement stable.

Read & Keeling (2006) montrent en outre que la prise en compte de réseaux de contact plus réalistes que la loi d'action de masse peuvent modifier cette dynamique évolutive de façon complexe avec possibilité d'équilibres évolutifs multiples. Malgré cette complexité, d'une manière générale, des réseaux fortement clusterisés (aptés à décrire les réseaux sociaux humains et donc adaptés pour des pathogènes se transmettant par voie aérienne) tendent à sélectionner des pathogènes à fort taux de réplication r (et donc à courte durée d'infection) malgré le risque d'extinction plus élevé. Des réseaux plus globaux (mieux à même de décrire les maladies sexuellement transmis-

sible) tendent par contre à sélectionner des maladies à stratégie plus prudente avec des taux de réplication considérablement plus bas et par conséquent des durées d'infection plus longues.

L'intégration des différentes échelles où s'exercent les pressions de sélection façonnant les traits d'histoire de vie des agents infectieux permet donc de rendre compte d'une partie des trajectoires évolutives ayant conduit aux maladies infectieuses humaines majeures. En particulier, nous avons vu l'importance du compromis évolutif entre invasion et persistance avec le fait que de grande taille de populations puissent mener à des maladies plus aiguës et transmissibles.

1.2.4 Prise en compte de la variation antigénique

Cependant, la théorie présentée précédemment ne permet pas de rendre compte des larges différences existant entre nos 2 grandes catégories de maladies aiguës représentées par exemple par la grippe et la rougeole. Grippe A humaine et Rougeole constituent un contraste saisissant. La rougeole semble peu propice à varier antigéniquement tandis que la grippe varie sans cesse. Par exemple, les premiers vaccins contre la rougeole déployés dans les années 1960 restent efficaces de nos jours et les variants antigéniques d'aujourd'hui restent très proches de ceux de la souche Edmonston isolé en 1954 (Rota & Bellini, 2003). Pour la grippe A H3N2 humaine, la situation est toute différente : entre 1972 et 2001, le vaccin a été mis à jours 19 fois (Hay *et al.*, 2001) soit en moyenne tous les 1.53 ans.

Cette différence est d'autant plus remarquable que ces deux maladies sont provoquées par des virus à ARN caractérisés par un fort taux de mutation dû à l'absence de mécanismes de correction chez les ARN-polymérase, de très grandes tailles de population (le nombre de particules virales dans un organisme peut être aussi élevé que 10^{12}), et des temps de génération très courts (1 particule infectieuse peut produire en moyenne 100 000 copies en 10 heures), des facteurs à priori favorables à une forte variation antigénique (Moya *et al.*, 2004) (mais voir Belshaw *et al.* (2008); Duffy *et al.* (2008) pour des limitations).

Frank & Bush (2007) ont été parmi les premiers à proposer un élément d'explication entre ces 2 catégories d'agents infectieux (R_0 élevé et peu voir pas de variation antigénique contre R_0 plus faible et beaucoup de variation antigénique) en évoquant l'existence d'un compromis évolutif entre le taux de reproduction et la mutabilité antigénique. A la base du raisonnement de

Frank & Bush (2007), se trouve un modèle avec structure d'âge implicite. Si des pathogènes se spécialisent sur des hôtes immunologiquement naïfs, (et donc plutôt jeunes), la sélection naturelle va, par le biais de la compétition directe pour les individus immunologiquement naïfs (comme nous l'avons vu eq. (1.1)), favoriser l'évolution vers de grands R_0 . Cependant, Frank & Bush (2007) montrent que le fait de pouvoir s'attaquer aux adultes (et donc généralement aux hôtes déjà immunisés) en augmentant la mutabilité antigénique et donc la possibilité de réinfections, induit un avantage pouvant contrebalancer le fort coût présumé de la mutabilité antigénique sur le taux de reproduction de base. Ainsi, selon Frank & Bush (2007) les maladies infectieuses infantiles auraient été façonnées par la sélection naturelle de manière à avoir de forts R_0 au prix de la perte de leur flexibilité et mutabilité antigénique. Par contraste, les maladies se diffusant préférentiellement chez les adultes dans une population entièrement naïve auraient été façonnées pour garder une mutabilité antigénique au prix d'un R_0 plus faible que celui atteignable dans un régime où la sélection naturelle maximise celui-ci.

Lange & Ferguson (2009) ont repris l'idée d'un compromis évolutif entre taux de reproduction et mutabilité antigénique et lui ont fourni une base mécaniste au niveau intra-hôte. Au coeur du modèle intra-hôte de Lange & Ferguson (2009) se trouve la possibilité d'apparition de variants antigéniques échappant en partie à la réponse immunitaire de l'hôte. L'apparition de variants antigéniques constitue un changement majeur par rapport aux approches précédentes car cela fait apparaître un nouveau mécanisme jouant sur la durée d'infection de l'hôte (si l'agent infectieux échappe sans cesse à la réponse immunitaire, l'hôte reste infecté). Le pathogène est donc désormais défini par deux paramètres : son taux de réplication intra-hôte et le taux de mutabilité antigénique.

De manière plus détaillée, le modèle intra-hôte de Lange & Ferguson (2009) prend en compte la compétition pour une même ressource des pathogènes ainsi que l'existence de réponses immunitaires spécifiques à chaque variant mais pouvant agir sur les variants antigéniques proches (immunité croisée). Lange & Ferguson (2009) montrent que la forme dont sont implémentés ces deux facteurs semble peu importante mais qu'ils constituent le niveau de complexité minimum pour pouvoir rendre compte d'un compromis évolutif entre taux de reproduction et mutabilité antigénique.

Ce modèle est ensuite mis à l'échelle épidémiologique par une fonction de transmission non linéaire de la charge de pathogènes totale P ayant la forme $\beta(t) = q(1 - \exp(-\frac{P}{P_T}))$. Cette fonction introduit un seuil critique P_T

en dessous duquel la charge de pathogène P a relativement peu d'impact sur le taux de transmission. Elle est donc relativement similaire à la fonction de transmission avec délai introduite par King *et al.* (2009).

Le modèle épidémiologique en lui même est un modèle de réseau de contact dynamique, construit à la périphérie d'un individu infecté et caractérisé par deux paramètres : le taux de renouvellement des voisins de l'individu infecté et un indice d'agrégation. Il est important de noter que ce modèle épidémiologique considère un nombre infini d'hôtes et néglige donc toutes les contraintes écologiques liées à un nombre fini d'individus.

Au sein de ce modèle, Lange & Ferguson (2009) réussissent à prédire l'existence des 3 grandes catégories de pathogènes que nous avons évoquées. Une première grande différenciation est induite par l'existence du paramètre P_T , définissant le seuil à partir duquel la charge de pathogènes a un impact sur le taux de transmission. Si on laisse ce paramètre évoluer, clairement il tend vers 0 et dans ce cas, on n'obtient que des pathogènes caractérisés par une forte variabilité antigénique, des R_0 relativement faibles et une longue durée d'infection, un domaine représentatif des maladies sexuellement transmissible. Cependant, en contraignant P_T à une valeur plus élevée, on obtient une transition de phase, et on sélectionne des pathogènes ayant des R_0 plus élevés et une variabilité antigénique plus faible bien que toujours élevée, et une courte durée d'infection moyenne. Ces caractéristiques correspondent bien aux maladies de type grippe. Lange & Ferguson (2009) interprètent P_T comme la quantité de pathogènes nécessaires pour pouvoir réaliser un contact infectieux. Ils relient la contrainte sur P_T à l'existence des différents modes de transmission présents dans la nature. Un pathogène transmis par contact intime nécessite des valeurs de P_T plus faible qu'un pathogène transmis par voie aérienne. Cette première différenciation est relativement peu sensible aux paramètres épidémiologiques. Notons que P_T et le taux de réplication intra hôte (r) sont directement corrélés, de grandes valeurs de P_T étant associées à de grandes valeurs de r .

L'apparition de pathogènes ayant les caractéristiques des maladies infectieuses infantiles est par contre fortement liée aux paramètres épidémiologiques. En effet, des pathogènes à niveau de variation antigénique nulle, à courte durée d'infection mais avec une période latente et de forts R_0 sont sélectionnés au dépens de pathogènes de type grippe (et donc toujours soumis à la contrainte de forte valeur de P_T) lorsque les taux de contact sont élevés et le réseau de contact relativement clusterisé avec un faible taux de renouvellement des voisins. Le compromis évolutif entre taux de reproduc-

tion et mutabilité antigénique est au coeur de cette dernière transition. Ce compromis se matérialise du fait de l'existence de l'immunité croisée faisant que les pathogènes ne produisant pas de variants antigéniques sont ceux qui maximisent la charge de pathogènes lors du premier pic de pathogène intra-hôte (voir Lange & Ferguson (2009) : méthodes pour une démonstration mathématiques). Ces pathogènes sont donc les plus à même d'avoir une très forte transmissibilité ponctuelle et donc une capacité d'invasion accrue au sein d'un environnement fortement clustérisé. Le niveau inter hôte sélectionne aussi des temps de latence du même ordre de grandeur que la durée infectieuse de façon à minimiser les chevauchements temporels des infections et à maximiser la vitesse de propagation de l'agent infectieux au sein du réseau. Notons que l'avantage conféré par la période latente conduit à des taux de réplication intra-hôte (r) plus faibles que pour les maladies de type grippe (bien que toujours élevés du fait que les maladies de type rougeole apparaissent pour une contrainte imposant des valeurs de P_T forte)

La théorie présentée par Lange & Ferguson (2009) est à notre connaissance une des premières approches intégratrices visant à rendre compte des principales catégories de maladies infectieuses humaines. D'autres auteurs invoquent par ailleurs l'importance des contraintes structurelles liées au support de l'information génétique. Ainsi, comme l'illustre Holmes (2008), la séparation entre virus à ARN et virus à ADN reflète en grande partie la division entre des virus sautant fréquemment d'espèces en espèces et générant des maladies de type aiguë et des virus générant des maladies plus chroniques et transmises verticalement entre espèces durant de longues périodes évolutives. Cependant, l'approche de Lange & Ferguson (2009) permet de rendre compte des différences considérables existant au sein même des virus à ARN (grippe, rougeole et VIH en sont les 3 exemples emblématiques). Un point faible principal de cette étude (mais c'est aussi ce qui la rend tractable analytiquement) et de ne pas prendre en compte le devenir de la variation antigénique à l'échelle de la population. Cette variation antigénique peut par exemple contrecarrer l'immunité des populations et par là même repousser les contraintes écologiques (notamment les extinctions en favorisant la persistance).

1.2.5 Devenir des variants antigéniques à l'échelle de la population d'hôtes

Nous avons vu que la prise en compte de l'apparition de variants antigéniques apparaît être cruciale pour rendre compte de trois grands types de maladies infectieuses humaines. L'étude de la phylogénie des gènes codant les principaux antigènes de ces maladies permet d'appréhender comment cette variation antigénique s'organise à l'échelle de la population (Grenfell *et al.*, 2004; Holmes & Grenfell, 2009). Ces auteurs ont donné le nom de phylodynamique à l'étude des interactions entre les variations génétiques des agents pathogènes, leurs phylogénies et la dynamique de ces pathogènes à l'échelle de la population.

Dans le cas des maladies infectieuses infantiles, cette diversité antigénique n'existe tout simplement pas. Comme la réponse immunitaire est également efficace contre toutes les souches, elle n'engendre pas de pressions de sélection. La phylogénie de la rougeole est ainsi majoritairement déterminée par des processus spatiaux (figure 1.7). Nous avons vu que cette absence de variation antigénique était fortement liée à la sélection pour des épidémies explosives où le potentiel de colonisation était le mieux exprimé, la taille de la population et le risque d'extinction mettant une borne ultime à ce processus. Cette caractéristique se retrouve lorsque l'on examine la dynamique de la population de ces maladies. L'exemple de la rougeole est emblématique avec des dynamiques cycliques complexes émergeant du fait qu'à chaque épidémie le stock de susceptibles est fortement déplété (figure 1.7). Le renouvellement des susceptibles est assuré par les processus démographiques et s'opère sur une échelle de temps beaucoup plus lente que le temps d'infection. Ce renouvellement amène finalement assez de susceptibles pour permettre une autre épidémie reconduisant à la dépletion marqué du stock. La dynamique épidémiologique est donc fortement influencée par la démographie, les transitions démographiques ayant un impact majeur sur les patrons de cyclicité (Earn *et al.*, 2000; Bauch & Earn, 2003; Alonso *et al.*, 2007a).

Dans le cas des maladies à forte variabilité antigénique la situation est fortement influencée par la durée d'infection.

Dans le cas du VIH, au niveau intra-hôte, l'évolution virale apparaît être gouvernée par une forte sélection venant du système immunitaire que ce soit par les anticorps ou les lymphocytes T cytotoxiques. L'arbre phylogénétique du gène enveloppe (fortement immunogène) est ainsi caractérisé par un tronc peu ramifié constitué de la succession des variants antigéniques ayant réussi

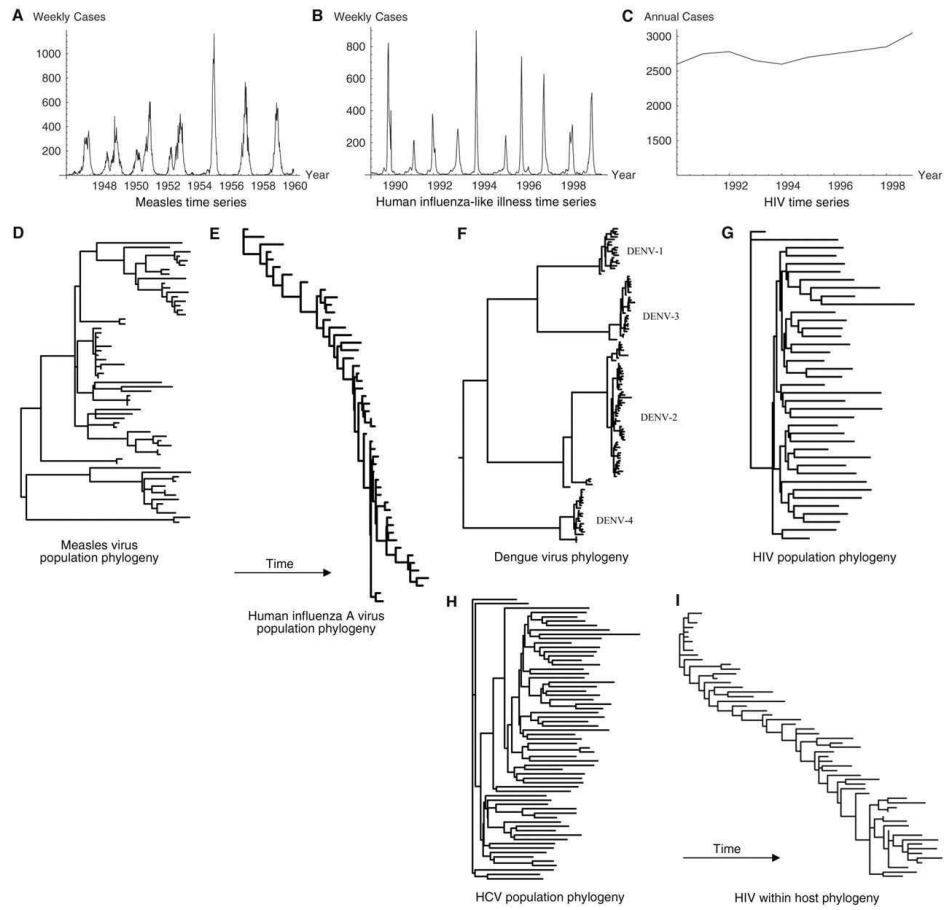


FIG. 1.3: Phylodynamique de maladies aiguës et chroniques (reproduit d'après Grenfell *et al.* (2004)).

à échapper aux réponses immunitaires (Rambaut *et al.*, 2004). Par contraste, à l'échelle de la population (inter-individuel), la phylogénie du même gène ne présente pas de structure particulière. Rambaut *et al.* (2004) expliquent cette différence majeure comme provenant de différents facteurs : en premier lieu, les goulots d'étranglements (bottleneck) associés à la transmission réduisent fortement la diversité antigénique transmise. Cet effet est particulièrement exacerbé par le fait que le VIH se transmet principalement par voie sexuelle avec une variation considérable de la fréquence de changements de partenaires sexuels. Ainsi des souches avec des mutations favorables peuvent par le jeu du hasard se retrouver chez des individus ayant un faible nombre de partenaires et donc ne plus se diffuser dans la population. Enfin, certaines mutations avantageuses telles celles conférant un échappement à l'action des lymphocytes T cytotoxiques peuvent n'intervenir que tardivement dans la maladie à une période où la plupart des individus ont déjà transmis le virus. Au niveau épidémiologique, la longue durée de l'infection se traduit par des dynamiques beaucoup plus simples que pour les maladies aiguës (figure 1.7). Une situation relativement comparable a lieu pour le virus de l'hépatite C (VHC figure 1.7).

La situation est différente pour les maladies aiguës à forte variabilité antigénique. Par exemple, pour la grippe A humaine, la phylogénie de HA à l'échelle de la population rappelle fortement celle que l'on observe pour le VIH au niveau intra-hôte. L'arbre phylogénétique est fortement structuré dans le temps et caractérisée par une faible diversité virale à chaque instant, une seule branche survivant à chaque point de branchement (figure 1.7). Comme nous le verrons en détail par la suite, cette phylogénie résulte d'une forte pression de sélection à l'échelle de la population, le tronc étant constitué de la succession des variants antigéniques ayant échappé à l'immunité de la population. Au niveau épidémiologique (voir figure 1.7), on retrouve une dynamique complexe tout comme dans le cas de la rougeole mais la rapidité de la dérive antigénique devient le facteur dominant du renouvellement de susceptibles, les variations des taux de naissance ayant peu d'impact (Grenfell communication personnelle). L'échelle de la population et l'immunité de la population a donc un impact majeur dans la structuration de la diversité antigénique.

Ce constat se retrouve dans le cas de la dengue où 4 sérotypes pouvant interagir immunologiquement sont présents (figure 1.7). Un processus immunologique particulier : la facilitation de l'infection virale par les anticorps (antibody dependent enhancement , ADE), a été postulé comme cause

à la distance identique séparant ces quatre sérotypes dans les phylogénies des gènes de l'enveloppe. L'ADE provient de l'observation faite que dans les pays où circulent plusieurs sérotypes viraux, les présentations graves de la dengue avec complication hémorragique sont très souvent associées à une deuxième infection. La présence d'anticorps spécifiques à un sérotype donné faciliterait l'infection par un autre. Dans ce contexte, le développement de la dengue hémorragique chez les nourrissons d'environ 6 mois, serait dû aux anticorps anti-virus de la dengue transférés de la mère à son enfant. Ainsi, la distance phylogénétique entre les quatre sérotypes serait élevée pour minimiser l'immunité croisée mais pas trop conséquente pour stimuler l'ADE. Cette hypothèse a été validée par le modèle de Kawaguchi *et al.* (2003) (voir aussi Adams & Boots (2006)). Au niveau épidémiologique, l'ADE induit une alternance des différents sérotypes dans des dynamiques complexes et possiblement chaotiques, en accord avec les séries temporelles disponibles pour la Thaïlande et le Vietnam (Ferguson *et al.*, 1999; Cummings *et al.*, 2005; Recker *et al.*, 2009). Cependant l'ADE reste controversée, et il a aussi été montré que les dynamiques épidémiologiques pouvaient aussi être reproduites avec des modèles sans ADE considérant uniquement de la protection croisée entre les sérotypes (Wearing & Rohani, 2006; Adams *et al.*, 2006; Aguiar & Stollenwerk, 2007). Enfin, on ne peut pas exclure que la distance entre les sérotypes observée dans la phylogénie des gènes de l'enveloppe résulte d'introductions indépendantes de la dengue depuis des populations de singes vers l'homme ayant eu lieu initialement dans différentes localités suivies d'une période ultérieure de brassages des sérotypes différenciés (Holmes & Twiddy, 2003).

Dans cette thèse, nous nous intéresserons aux modèles permettant de suivre la dynamique de souches partiellement réactives immunologiquement. Nous nous focaliserons sur l'échelle de la population en visant à mieux appréhender la boucle de rétroaction eco-évolutive se déroulant entre l'évolution antigénique virale, l'immunité de la population et la dynamique épidémiologique en prenant l'exemple de la grippe.

1.3 Un cas d'école : la grippe

La grippe représente un cas d'école idéal tant il existe des différences prononcées entre grippe aviaire et grippe humaine de type A,B ou C (figure 1.4).

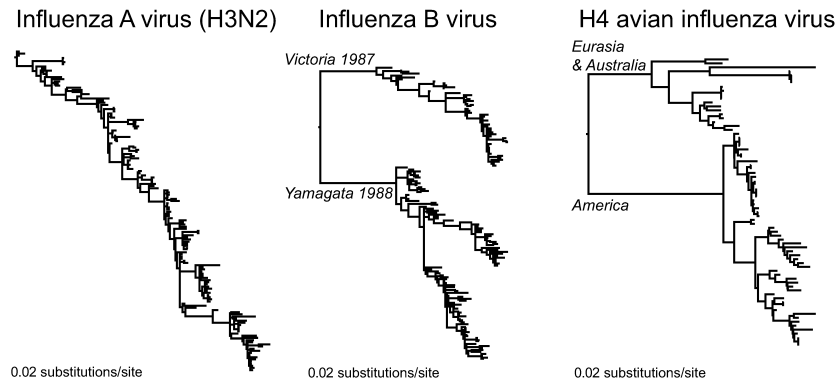


FIG. 1.4: Phylogénies de HA de la grippe A/H3N2 humaine, B, et H4 aviaire (reproduit d'après Holmes & Grenfell (2009))

Nous avons déjà évoqué la structure remarquable de la phylogénie de HA1 de la grippe A humaine fortement influencée par la dérive antigénique. La grippe B, présente un patron différent avec 2 lignées (Yamagata et Victoria) co-existant depuis les années 1970 (Hay *et al.*, 2001) avec de nombreux réassortiments entre ces lignées (Lin *et al.*, 2004). La situation est encore plus contrastée chez les oiseaux où, au lieu d'observer comme chez la grippe A humaine des changements successifs au sein d'un sous-type, les virus aviaires se présentent sous la forme d'association temporaire de 8 fragments d'ARN constamment re-échantillonnés via de très nombreux réassortiments parmi un réservoir de fragments d'ARN largement équivalent sur le plan fonctionnel (Dugan *et al.*, 2008).

Dans cette partie, nous nous intéresserons aux processus à même d'expliquer la dérive antigénique propre à la grippe A humaine.

1.3.1 L'évolution comme processus écologique

La prépondérance des mécanismes évolutifs pour expliquer la récurrence de la grippe a été formalisée pour la première fois par Pease (1987). Pease (1987) s'appuie sur les données de Gill & Murphy (1977) qui avaient suivi un groupe de 312 volontaires de 1969 à 1976. Ce suivi révèle que la probabilité d'être infecté par la souche de 1975 (pendant l'épidémie de 1976) augmente linéairement en fonction de la date de la dernière infection répertoriée des volontaires (figure 1.5). Deux hypothèses peuvent expliquer ce résultat :

- soit l'immunité développée par les volontaires diminue au cours du temps
- soit la population virale évolue, échappant à l'immunité des volontaires.

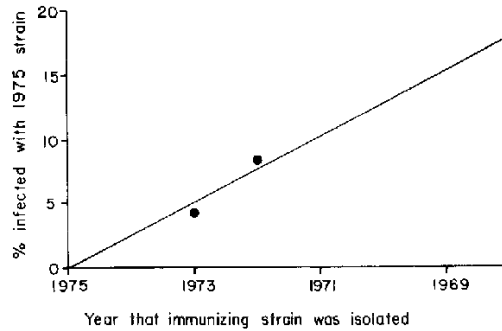


FIG. 1.5: Données de Gill & Murphy (1977) (reproduit d'après Pease (1987))

L'expérience de Potter *et al.* (1977) permet de trancher entre ces hypothèses. Potter *et al.* (1977) ont en effet immunisé des volontaires avec différents vaccins dérivés de quatre souches de grippe A/H3N2 isolées en 1968, 1972, 1973 et 1974. Après 4 semaines, un temps suffisamment court pour invalider l'hypothèse de la perte d'immunité, ces volontaires ont été infectés par une souche virale de 1974. Les résultats de cette expérience, présentés figure 1.6 montrent aussi une augmentation linéaire de la probabilité de réinfection au fur et à mesure que le temps séparant les souches immunisantes et le virus utilisé pour l'infection augmente. Cela confirme l'hypothèse de l'augmentation du risque de réinfection du fait de l'échappement des virus à l'immunité préexistante.

Ce résultat permet à Pease (1987) de proposer un nouveau modèle pour les maladies récurrentes à évolution antigénique rapide. Contrairement au paradigme classique des maladies infectieuses infantiles où le renouvellement des susceptibles se fait par les naissances, dans le cas de la grippe ce renouvellement de susceptibles se fait par la perte d'immunité des hôtes du fait de l'évolution virale. Pease (1987) modélise alors l'évolution antigénique implicitement par un changement de la susceptibilité des hôtes au cours du temps, en accord avec les données disponibles à l'époque.

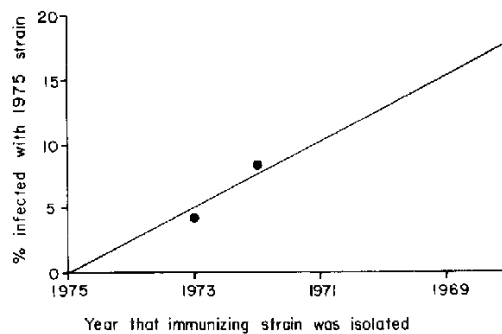


FIG. 1.6: Données de Potter *et al.* (1977) (reproduit d'après Pease (1987))

1.3.2 L'âge d'or de la génétique

La révolution de la génétique des années 90 a permis l'acquisition d'un nombre impressionnant de nouvelles données et une avancée majeure dans la compréhension de l'évolution de la grippe A humaine. Les années 90 ont donc vu les premières publications par Fitch *et al.* (1991) et Fitch *et al.* (1997) de l'analyse phylogénétique des séquences du gène HA1 (la région la plus immunogène de l'hémagglutinine). Fitch *et al.* (1997) utilisent ainsi 254 séquences de HA1 obtenues de 1984 à 1996. Comme nous l'avons indiqué précédemment, cette étude a révélé une diversité génétique relativement réduite à chaque instant avec un arbre caractérisé par un tronc marqué comprenant de très courtes branches. Fitch *et al.* (1997) ont ainsi montré que la durée moyenne de survie des branches n'était que de 1.42 ans avec une durée de 4.8 ans pour la branche la plus longue. Le nombre de substitutions de nucléotides donnant lieu à des remplacements est 2.2 fois plus élevé dans les branches que sur le tronc. Ce résultat peut s'expliquer de différentes façons. On peut supposer que cet excès de mutations dans les branches correspond à des mutations délétères (largement majoritaires parmi les mutations) non encore purgées par la sélection naturelle, et donc qui ne se retrouveront pas dans le tronc ultérieurement. Cette hypothèse est intéressante, cependant en raison des biais induits par le processus d'échantillonnage et d'obtention des séquences, elle ne peut être validée (nous verrons plus tard comment les modèles multi-souches peuvent éclairer cette question). En effet 8% des remplacements d'acides aminés observés sur HA1 peuvent être attribués à des mutations liées à l'adaptation du virus aux oeufs embryonnés utilisés

pour les cultiver (Bush *et al.*, 2000). Tout comme les mutations délétères, les mutations produites par les oeufs ne se retrouveront pas dans le tronc ultérieurement et peuvent donc ainsi rendre compte de cette différence. Un second biais à même de rendre compte de cette différence vient du fait que les données sont fortement biaisées en faveur de variations antigéniques car l'essentiel des séquences sont obtenues uniquement après un premier tri visant à reconnaître les souches virales les plus divergentes d'un point de vue antigénique dans le but de déterminer les futures compositions vaccinales dans le cadre du programme de surveillance globale de la grippe mis en place par l'OMS depuis 1952 (Bush *et al.*, 2000). L'étude de Fitch *et al.* (1997) a aussi été le point de départ d'une meilleure compréhension des processus sélectifs opérant sur l'antigène principal de la grippe. La flexibilité de HA1 a été mise en évidence en révélant que le nombre de substitutions de nucléotides donnant lieu à des remplacement d'acides aminés était distribué aléatoirement sur la position des codons (alors que généralement on observe plus de substitutions conduisant à des remplacements sur la première que sur la seconde position, les substitutions étant plus conservatrices si elles ont lieu sur la première position des codons). Fitch *et al.* (1997) et Bush *et al.* (1999) ont aussi mis en évidence, en prenant garde de ne pas retenir de faux positifs, 18 sites où le ratio de substitutions non synonymes sur synonymes était supérieur à 1, indiquant de la sélection positive.

Bush *et al.* (1999) ont cherché à comprendre dans quelle mesure les codons sélectionnés positivement précédemment identifiés pouvaient permettre de prédire l'évolution de la grippe A. Ces auteurs ont montré que les lignées comportant le plus de mutations au niveau des 18 sites soumis à la sélection positive étaient pour 9 saisons sur 11 de 1986 à 1997 les lignées donnant naissance aux futures lignées fructueuses engendrant le tronc de l'arbre. D'une manière remarquable, si ces 18 codons sont associés à la région de reconnaissance des anticorps, les codons de ces mêmes zones non soumis à la sélection positive n'ont pas le même pouvoir prédictif, leur utilisation ne permettant d'identifier les lignées fructueuses que dans 3 sur 11 saisons.

L'accès à un nombre toujours grandissant de génomes complets séquencés, accompagnés d'une augmentation conjointe de la puissance de calcul nécessaire à leur analyse (Holmes, 2007), ont depuis permis de nouvelles avancées dans ce domaine. Nous les détaillerons dans les parties 1.3.4, 1.3.6 et 1.3.5 après avoir présenté les apports des modèles mathématiques théoriques.

1.3.3 Les modèles multi souches

Du coté théorique, après les travaux de Pease (1987), de nombreuses études ont cherché à modéliser explicitement les différentes souches pour se rapprocher des analyses phylogénétiques.

L'approche la plus intuitive consiste peut-être à regrouper les hôtes selon leurs histoires d'infections (approche *HB* pour "History based") comme introduit par Andreasen *et al.* (1997). Ainsi, connaissant l'histoire d'infection de chaque hôte, on peut établir des hypothèses concernant l'effet du répertoire immunitaire acquis, face à une infection par une nouvelle souche. Deux grandes catégories d'hypothèses non mutuellement exclusives peuvent être faites. On peut supposer :

- que l'immunité acquise suite aux infections précédentes confère une réduction de susceptibilité, limitant le risque de devenir infectieux ;
- ou bien, que la protection partielle conférée par les infections précédentes se traduit par une moindre infectiosité suite à l'infection par la nouvelle souche (le risque d'infection étant le même que pour un hôte totalement naïf).

Il est alors naturel de supposer que la réduction de susceptibilité (*RS*) ou d'infectiosité (*RI*) est d'autant plus grande que les souches nous ayant immunisé et allant nous infecter diffèrent antigéniquement (immunité croisée). Lorsqu'un hôte immunisé par plusieurs souches rencontre une souche n'appartenant pas à son répertoire immunitaire, deux formulations sont principalement utilisées pour décrire la protection partielle (Gomes *et al.*, 2002) :

- l'une suppose que l'immunité croisée agit de façon multiplicative, des anticorps de tout le répertoire immunitaire de l'hôte étant produits et leur action combinée étant supérieure à celle de chacun d'eux pris individuellement ;
- et l'autre, que la protection partielle la plus forte détermine l'immunité croisée. Dans ce dernier cas, uniquement les anticorps du répertoire immunitaire de l'hôte les plus proches de la souche rencontrée sont produits.

Le principal obstacle à cette approche vient du fait de l'explosion du nombre de variables d'états avec l'augmentation du nombre de souches. Ainsi, pour une population comprenant K souches, il y a $\sum_k \binom{K}{k} = 2^K$ histoires d'infections possibles. Comme le montre la figure 1.7, passé $K = 30$, ce nombre dépasse le milliard. On ne peut donc pas espérer suivre la dynamique d'un grand nombre de souches avec une telle approche, et, très rapidement,

une approche individu-centrée devient plus tractable.

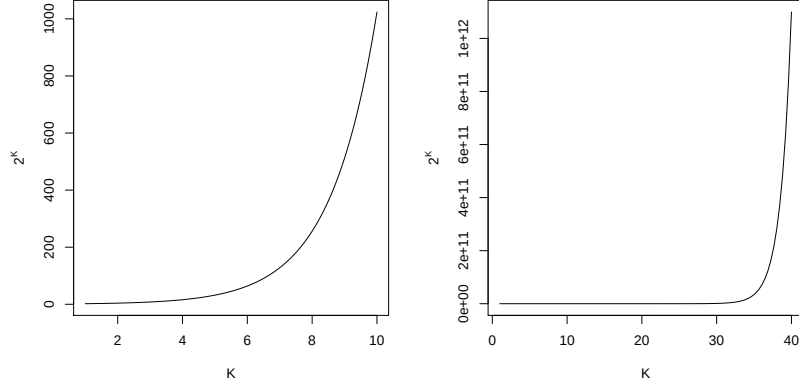


FIG. 1.7: Augmentation du nombre de variables d'états en fonction du nombre de souches (K)

L'étude de la dynamique de système comprenant un petit nombre de souches permet néanmoins de révéler des résultats intéressants comme nous le montrerons par la suite (partie 1.3.7).

Une autre approche des modèles multi-souches a été proposée par Gog & Swinton (2002). Au lieu de suivre l'histoire infectieuse de la population, ces auteurs ont proposé de suivre le statut immunologique des hôtes en faisant l'hypothèse d'immunité croisée polarisée (approche *SB* pour "status based"). Cette hypothèse suppose que le statut immunologique est déterminé au moment de l'infection et résulte immédiatement en l'acquisition d'une protection totale ou pas (immunité polarisée) pour les souches antigéniquement voisines de la souche infectante, selon des probabilités fonction de la distance antigénique entre les souches. Considérons l'hypothèse *RS* dans un cas où il n'existe que 2 souches immunologiquement réactives (1 et 2) pour mieux percevoir cette différence :

- Dans l'approche *HB*, l'infection par la souche 1 confère une protection partielle aux hôtes infectés (R_1). Cette protection ne s'applique que lors de la rencontre avec la souche 2 antigéniquement proche et se matérialise par une probabilité réduite (σ) de devenir infecté par la souche 2. Si l'individu R_1 n'est pas infecté par la souche 2 lors de cette rencontre, il pourra l'être lors d'une rencontre ultérieure toujours avec

la même probabilité réduite (σ).

- Dans l’approche *SB* le statut immunologique de notre hôte est déterminé au moment de l’infection par la souche 1. Selon une probabilité σ' , cet hôte acquiert une protection totale pour les souches 1 et 2 (devenant R_{12}). Dans le cas complémentaire (probabilité $1 - \sigma'$) il n’acquiert l’immunité que pour la souche 1 (devenant R_1) et reste donc totalement susceptible à la souche 2.

Les modèles *SB* supposent aussi que l’immunité croisée agit de façon multiplicative. En particulier, on suppose que les événements d’acquisition d’immunité pour une souche n lors d’une infection par une souche k (de probabilité σ'_{kn}) sont indépendants. On peut ainsi calculer la probabilité $C(M, N, k)$ qu’un individu ayant un statut immunologique M acquiert un statut N , $M \subseteq N$, suite à une infection par une souche k :

$$C(M, N, k) = \begin{cases} \prod_{n \in N \setminus M} \sigma'_{kn} \prod_{n \notin N} (1 - \sigma'_{kn}) & \text{si } k \notin M \text{ et } M \subset N \\ 0 & \text{sinon.} \end{cases}$$

où $N \setminus M$ dénote l’ensemble dont les éléments sont ceux de N qui n’appartiennent pas à M .

Une propriété remarquable de l’approche *SB* a été mise en avant par Gog & Grenfell (2002). Combiné à l’hypothèse *RI* (et on autorisant la coinfection), le formalisme basé sur le statut des hôtes permet de réduire considérablement le nombre d’équations du système multi-souches, en décrivant un système de K souches avec exactement $2K$ équations.

Gog & Grenfell (2002) ont pu alors étudier comment différentes souches immunologiquement réactives s’organisaient face à l’immunité développée par une population d’hôtes. Ces auteurs ont considéré que les souches évoluaient dans un espace unidimensionnel (une simple ligne). Les souches pouvaient ainsi muter et donner naissance à des souches filles voisines situées de part et d’autre de la souche originelle. Un lien direct avec cet espace de souches permet de modéliser l’immunité croisée, supposée décroître exponentiellement au fur et à mesure que la distance entre les souches augmentent. Dans ce contexte, Gog & Grenfell (2002) révèlent que le système s’organise différemment selon la durée de la période infectieuse des hôtes. Dans le cas des maladies plutôt chroniques, différents clusters de souches coexistent dans le temps, tandis que, pour des maladies à courte période d’infection, des clusters de souches émergent et se remplacent successivement au cours du temps. Ce dernier résultat n’est pas sans rappeler les arbres phylogénétiques de HA1 précédemment décrits. Ainsi, le système s’auto-organise, sous l’effet de l’im-

munité de la population en groupe de souches aux propriétés antigéniques voisines. Gog & Grenfell (2002) montrent en particulier que leur modèle est en accord avec l'hypothèse que les courtes branches latérales s'échappant du tronc de l'arbre phylogénétique de HA1 pourraient être dues à des souches ayant accumulé des mutations délétères, que nous avons énoncé lors de la description des travaux de Fitch *et al.* (1997). Pour ce faire, ils utilisent un espace de souches bidimensionnel (un plan) où la nouvelle dimension est associée à des mutations donnant lieu à des virus moins transmissibles. Ils montrent alors que des virus intrinsèquement moins transmissibles peuvent se maintenir un court moment derrière les souches dominantes dont la progression engendre le tronc d'un arbre. Le modèle de Gog & Grenfell (2002) est donc remarquable d'autant plus que l'aggrégation des souches en clusters antigéniques sera montré empiriquement (Plotkin *et al.*, 2002; Smith *et al.*, 2004). Cependant une des limitations de ces résultats est l'emploi d'un espace antigénique de très faible dimension et donc très contraint.

Girvan *et al.* (2002) se sont intéressés à cette question en regardant les conséquences de la dimensionalité de l'espace antigénique sur le système multi-souches. Ces auteurs ont utilisé un modèle élégant modélisant les séquences virales par des chaînes binaires. Dans ce contexte, un espace antigénique de faible dimension peut être simulé en supposant par exemple qu'à chaque mutation (représentée par le changement d'un bit de 0 à 1) seul le bit le plus à gauche est muté. Cela donne une évolution de la sorte :

```
000000000000000000
100000000000000000
110000000000000000
111000000000000000
```

La distance antigénique est ensuite considérée en tenant compte du nombre de différences entre les chaînes binaires présentes dans le répertoire immunitaire de l'hôte et la souche infectante. Si la plus petite de ces différences est supérieure à un seuil, l'hôte peut être infecté, sinon, il est protégé. Girvan *et al.* (2002) montrent que cet espace antigénique contraint conduit à une diversité virale limitée et produit des infections récurrentes en accord avec ce que l'on observe pour la grippe.

La situation est par contre très différente lorsque l'on considère un espace antigénique de grande dimension, obtenu par exemple en laissant varier librement la position du bit mutant comme dans la séquence ci-dessous :

```

000000000000000000
000000000100000000
000010000000000000
000000000100100000

```

Dans ce cas, le nombre de souches ne cesse d'augmenter au cours du temps, en désaccord avec les données phylogénétiques. Le modèle de Girvan *et al.* (2002) incite donc à rechercher quels sont les facteurs qui peuvent réduire le grand nombre de souches obtenu avec des modèles considérant un espace antigénique réaliste de grande dimension.

Ferguson *et al.* (2003) s'attaquent à cette question dans un article remarquable où ils considèrent un modèle individus centré, simulant une population de 12 millions d'individus distribuée dans 20 patchs géographiques où la transmission varie en opposition de phase dans l'hémisphère Nord et Sud. Les souches sont caractérisées par l'hémagglutinine et modélisées par 4 épitopes contenant chacun 3 codons. Ce système peut générer $4 \cdot 10^{15}$ souches. L'immunité croisée varie en fonction d'une distance antigénique d définie en fonction du nombre de codons de la souche infectieuse n'ayant pas d'acides aminés en commun avec ceux contenus dans le répertoire immunitaire de l'hôte. Ferguson *et al.* (2003) suppose que l'immunité croisée plafonne à une valeur élevée tant que d est inférieur à 2 acides aminés puis qu'elle décroît linéairement jusqu'à une valeur minimale.

Ces auteurs montrent d'abord que comme pour le modèle de Girvan *et al.* (2002), le système précédemment décrit conduit à une explosion de la diversité de souches et une prévalence excessive. Ce résultat est en particulier robuste à l'inclusion de contraintes fonctionnelles. Cette explosion de diversité virale se comprend assez bien étant donné que l'immunité croisée décroît avec la distance antigénique. Ainsi, lorsque la diversité antigénique augmente, la prévalence augmente aussi et cela renforce la production d'autres variants. Ferguson *et al.* (2003) postulent alors l'existence d'un processus de densité dépendance agissant à l'échelle de temps de l'apparition des souches pour expliquer la réduction de la diversité virale. Ces auteurs suggèrent que ce processus pourrait être le fait d'une période temporaire de courte durée d'immunité totale (protégeant contre toutes les souches et tous les sous-types de grippe) due à l'action des lymphocyte T cytotoxique (CD8 +T) dirigée contre les protéines internes du virus fortement conservées. L'importance de cette composante de la réponse immunitaire avait été soulignée par ailleurs par Webster *et al.* (1992) comme un des facteurs pouvant expliquer le remplacement

des sous-types grippaux lors des précédentes pandémies dans un contexte où l'immunité croisée entre les sous-types est présumée être faible. Les lymphocytes CD8 +T sont considérés importants pour la guérison d'une infection grippale mais ne sont généralement pas suffisants pour protéger contre les réinfections ultérieures en l'absence d'anticorps. En effet, leur quantité diminue trop rapidement après la première infection pour rester effective et le temps nécessaire à leur rappel est trop élevé pour empêcher l'établissement d'un nouveau virus (Grebe *et al.*, 2008).

Ferguson *et al.* (2003) montrent que l'inclusion de cette période temporaire d'immunité totale (les auteurs la prennent égale à 6 mois) suffit à réduire la diversité virale, et permet d'obtenir des phylogénies identiques à celles obtenues pour HA de H3N2. Ils montrent en outre que la réduction du taux de mutation et de l'intensité de l'immunité croisée permet d'obtenir des phylogénies avec plusieurs lignées co-circulantes, comme c'est le cas pour la grippe B et dans une moindre mesure H1N1, la valeur de R_0 n'ayant que peu d'influence. Les auteurs confirment les prédictions de Webster *et al.* (1992) et montrent que la période d'immunité croisée est cruciale pour obtenir des remplacements de sous-types lors des pandémies. Ils parviennent aussi à reproduire le cas de la réintroduction de H1N1 en 1977 qui mène à la coexistence avec H3N2.

Le modèle de Ferguson *et al.* (2003) est séduisant sous bien des aspects, cependant sa complexité rend son étude difficile. En particulier, il est difficile de bien caractériser les chaînes causales menant aux dynamiques observées. Tria *et al.* (2005) ont donc proposé de regarder quels sont les facteurs minimaux pouvant expliquer les résultats de Ferguson *et al.* (2003). Pour ce faire ils ont considéré un modèle proche de celui de Girvan *et al.* (2002) et négligé tous les processus spatiaux inclus dans le modèle de Ferguson *et al.* (2003). Tria *et al.* (2005) partent d'un modèle de base ne comportant que de l'immunité croisée et montrent que la présence additionnelle de la seule période d'immunité temporaire totale ne suffit pas à réduire la diversité virale. Pour retrouver un nombre de souches réduit, cette période de protection totale doit être accompagnée d'une forme d'hétérogénéité. Tria *et al.* (2005) l'incluent en supposant que les mutants ont des taux de transmission variables tirés dans une loi Gamma. Ils supposent que cette hétérogénéité est aussi présente dans le modèle de Ferguson *et al.* (2003) par l'intermédiaire de la dynamique spatiale.

Cependant, une différence importante existe dans la façon dont Ferguson *et al.* (2003) et Tria *et al.* (2005) ont modélisé la période temporaire d'immu-

nit  croisée. Tria *et al.* (2005) ont simplement supposé qu’une fois guéris, les hôtes restaient un temps défini “invincible”, tandis que Ferguson *et al.* (2003) ont considéré en plus que toutes les expositions ne donnant pas lieu à une infection étaient suivies d’un “boosting” de la période d’invincibilité (alors étendue de sa durée moyenne) sans mise à jour du répertoire immunitaire. Les auteurs justifient ce processus par l’existence du péché antigénique originel (Francis (1953), de St Groth & Webster (1966a), de St Groth & Webster (1966b) ou Kim *et al.* (2009) pour une synthèse récente) qui établit que lors d’infections séquentielles, la réponse immunitaire cible préférentiellement les antigènes de la souche rencontrés initialement plutôt que les antigènes mutés de nouvelles souches antigeniquement proches, permettant à ces nouveaux virus d’échapper en grande partie à la réponse immunitaire. Notons que le péché antigénique originel justifie le fait de ne pas mettre à jour le répertoire immunitaire des expositions à des souches antigeniquement proche ne donnant pas lieu à des infections mais il ne justifie pas nécessairement de “booster” la période d’invincibilité des hôtes rencontrant des souches pour lesquelles ils sont déjà immunisés et ne redeviennent pas infectieux. Ce “boosting” additionnel est reporté comme une contrainte densité dépendante importante réduisant la diversité virale, l’incidence et les taux de fixation dans les annexes de leur papier et nous supposons que cette différence majeure peut être à l’origine des résultats rapportés par Tria *et al.* (2005).

Minayev & Ferguson (2009a,b) ont proposé un modèle analytique cherchant à se rapprocher du modèle de Ferguson *et al.* (2003). Ils ont donc mis de côté l’approche *SB* impliquant une immunité croisée multiplicative et ont privilégié le formalisme *HB*. Leur modèle est basé sur celui de Gupta *et al.* (1998) qui ont montré qu’en décrivant les souches par un système génétique de L loci comprenant A allèles, on pouvait obtenir un système dont le nombre d’équations augmente linéairement avec le nombre de souches (donné par A^L)   condition :

- d’utiliser des variables d’ tats se recoupant,
- de permettre la coinfection,
- et de considérer une forme spéciale de l’hypothèse de réduction d’infectiosité décrite ci-dessous.

Dans le modèle de Gupta *et al.* (1998), les hôtes partiellement protégés sont tous totalement susceptibles à une souche immunologiquement réactive, mais suite à l’infection, seulement une partie des hôtes infectés deviennent infectieux, la partie complémentaire acquérant une immunité pour la souche rencontrée sans devenir infectieux. Dans sa version originale, ce modèle ne

prévoyait qu'un seul niveau d'immunité croisée selon que les souches aient un allèle en commun ou pas. Minayev & Ferguson (2009a) ont généralisé ce modèle pour prendre en compte différents niveaux d'immunité croisée (en supposant que la protection croisée soit définie par le nombre d'allèles en commun des souches) tout en gardant un nombre d'équations augmentant linéairement avec le nombre de souches. Ce modèle, sans doute le plus tractable dans les approches *HB* comporte au final "seulement" $A^L(L + 1)$ équations.

Minayev & Ferguson (2009a,b) confirment alors l'explosion de la diversité virale en l'absence de période d'immunité totale temporaire. Ces auteurs veulent ensuite étudier l'effet de la période d'invincibilité (en l'introduisant tout comme Ferguson *et al.* (2003) et donc en considérant un "boosting" de la période d'invincibilité sans mise à jour du répertoire immunitaire suite aux expositions ne donnant pas lieu à des infections). Leurs résultats sont dans ce cas à prendre avec précaution car les équations introduisant la période d'invincibilité temporaire sont inconsistantes. Brièvement, l'équation (4.2) de Minayev & Ferguson (2009a) (respectivement équation (2.6) dans (Minayev & Ferguson, 2009b)) stipule que les infections peuvent provenir d'une souche déjà présente dans le répertoire immunitaire et que dans ce cas, les hôtes ne deviennent pas infectieux mais développent une invincibilité de 6 mois. Cependant, les auteurs précisent aussi que l'équation (2.1) des 2 papiers reste identique ce qui est en contradiction avec l'équation (4.2) (respectivement (2.6)) étant donné le fait que l'équation (2.1) implique que les hôtes ne peuvent pas être infectés ou développer une immunité totale temporaire s'ils sont exposés à des souches déjà présentes dans leur répertoire immunitaire. Il faudrait donc revisiter les parties de ces papiers impliquant la période d'immunité totale temporaire avant d'en tirer des conclusions.

1.3.4 Les clusters antigéniques

Du côté des données, Plotkin *et al.* (2002) ont utilisé une approche complémentaire à la reconstruction phylogénétique en regardant s'il existait une unité naturelle d'agrégation des différentes souches. Plotkin *et al.* (2002) ont ainsi montré que l'on pouvait regrouper différentes souches en clusters en considérant par exemple comme critère de regroupement le nombre d'acides aminés différents (distance de Hamming). Les clusters, définis à partir de 560 séquences du gène codant pour la région HA1 de l'HA de H3N2 échantillonné entre 1968 et 2000, apparaissent se succéder au cour

du temps et se remplacent tous les 2-5 ans, rappelant les résultats obtenus par Gog & Grenfell (2002). Ces clusters, définis uniquement à partir de la séquence d'acides aminés, se trouvent être en plus de bons prédicteurs de la propriété antigénique des virus sous-jacents. En particulier, en utilisant la souche la plus récente du cluster dominant d'une saison de grippe donnée, Plotkin *et al.* (2002) obtiennent des recommandations vaccinales identiques à celles de l'OMS, basées sur la caractérisation des propriétés antigéniques des souches, pour 9 des 16 saisons considérées. Ces auteurs révèlent des relations intéressantes entre la variation des acides aminés au cours du temps pour les 5 épitopes majeurs de HA1 aussi bien au sein qu'entre les clusters. Il apparaît en particulier, que chaque changement de cluster est principalement le résultat d'une forte variation au sein d'un épitope, lui-même différent de l'épitope le plus variable lors du précédent changement de cluster. Enfin, une forte corrélation est reportée entre la variation d'acides aminés intra cluster et la distance selon la métrique de Hamming entre les différents clusters. Tout se passe donc comme si les changements entre clusters n'étaient possibles que lorsque la sélection naturelle a suffisamment de variabilité au sein d'un cluster pour s'exprimer.

La mise en avant des clusters comme unité de base sur laquelle fonder un raisonnement évolutif par Plotkin *et al.* (2002) a été largement confirmée et précisée par les travaux de Smith *et al.* (2004). Smith *et al.* (2004) se sont intéressés au lien qu'il y avait entre génotype et phénotype (en particulier la propriété antigénique). L'inférence des propriétés antigéniques des HA des différentes souches est réalisée par le test d'inhibition de l'hémagglutination (HI) (Miller & Stanley, 1944). Ce test repose sur la capacité de l'HA des virus grippaux à agglutiner des globules rouges et à la capacité de sérum animaux produits par réaction aux différents virus grippaux à inhiber cette agglutination (plus ou moins bien en fonction de la distance antigénique séparant les virus). Cette technique est utilisée de manière standard par l'OMS pour établir les compositions vaccinales. En particulier, il est considéré qu'une dilution de facteur 4 du sérum lors du test HI impose de mettre à jour le vaccin. Utilisant une approche multivariée, Smith *et al.* (2004) ont pu révéler les relations antigéniques de 273 isolats (dont 94 proviennent de Hollande, les autres du reste du monde) prélevés entre 1968 et 2003 soumis à des test HI croisés. Ces auteurs montrent ainsi que s'il existe une correspondance remarquable entre l'évolution génétique et antigénique des virus, des différences significatives existent. Si l'évolution génétique du virus est largement graduelle, l'évolution antigénique est elle ponctuée. Les différentes

souches s'organisent en clusters présentant des propriétés antigéniques semblables, et les clusters restent dominant entre 1 et 8 saisons avec une moyenne 3.3 ans (± 1.9) avant d'être remplacés. En particulier, l'évolution antigénique s'opère principalement dans un espace à 2 dimensions dans lequel les clusters s'organisent chronologiquement selon un axe majoritaire accompagné de variations "en zigzag" dans l'autre dimension (figure 1.8). Les transitions de clusters sont le fait d'un nombre variable de changements d'acides aminés. Le changement d'un seul acide aminé peut suffire à précipiter un changement de cluster. C'est par exemple le cas de la mutation N145K liée à la transition du cluster SI87 à BE89 et BE92 à WU95. Les changements d'acides aminés corrélés aux changements de clusters antigéniques correspondent à l'étude des codons sous sélection positive par Bush *et al.* (1999) uniquement pour la période 1985-1997 correspondant aux séquences de cette dernière étude. L'absence de correspondance pour les autres périodes temporelles va de pair avec l'hypothèse d'un changement des sites sélectionnés au cours du temps déjà révélé par Plotkin *et al.* (2002) et posant des limites à la possibilité de prédire l'évolution de HA1 comme l'avait laissé entrevoir l'étude de Bush *et al.* (1999).

Blackburne *et al.* (2008) se sont intéressés à cette question en comparant différents modèles d'évolution moléculaire d'une complexité croissante pouvant être sélectionnés par AIC ou ratio de vraisemblance. En utilisant les mêmes données que Smith *et al.* (2004) (254 séquences isolées de 1968 à 2003) ces auteurs montrent que le modèle le plus adapté pour rendre compte des données comporte un ensemble de matrices de substitutions différentes pour différentes régions de la protéine et où le taux de substitution peut changer au cours du temps, correspondant à un changement de pressions de sélection. Blackburne *et al.* (2008) valident ainsi l'hypothèse que les sites de HA1 soumis à la sélection positive varient au cours du temps, rendant la distinction entre site antigénique et non antigénique plus subtile et labile que précédemment considérée. En particulier, ces auteurs montrent que beaucoup de changements de pressions de sélection ont lieu au niveau de sites non directement associés au changement d'acides aminés menant à des transitions de clusters antigéniques. Ces mutations peuvent être impliquées dans le maintien de la fonctionnalité de HA (potentiellement mise à mal par les autres changements ayant conduit à des modifications des propriétés antigéniques), ou bien encore, peuvent assurer la stabilité thermodynamique de la macromolécule.

Du côté théorique, Koelle *et al.* (2006) ont montré que le caractère

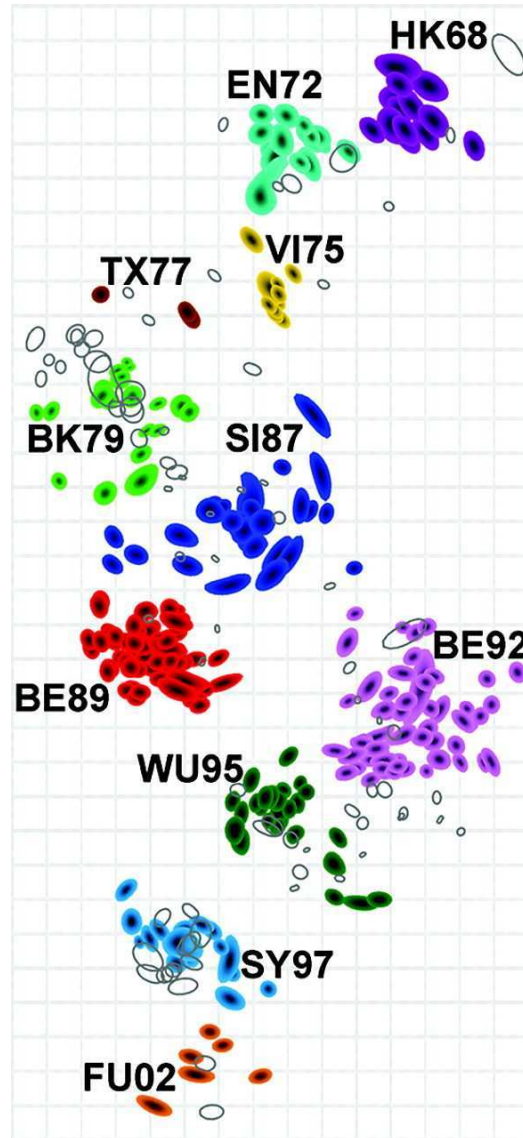


FIG. 1.8: Cartographie antigénique des virus A/H3N2 isolé de 1968 à 2003. (reproduit d'après Smith *et al.* (2004)).

ponctué de l'évolution antigénique de HA de la grippe A/H3N2 se révélait être primordiale dans la détermination de la phylodynamique du virus. Influencés par le papier de Smith *et al.* (2004), Koelle *et al.* (2006) se sont en particulier intéressés au lien qu'il existe entre génotype et phénotype de HA. Là où les approches précédentes avaient considéré un lien linéaire entre séquence génétique et propriété antigénique, Koelle *et al.* (2006) ont modélisé ce lien explicitement par un modèle de réseau neutre pour protéine appliqué à HA. Schématiquement ce modèle suppose l'existence de périodes où la structure de l'antigène varie peu, dû au fait que les mutations sont principalement des mutations neutres ou quasi neutres (peu d'influence sur la structure tridimensionnelle de la protéine), tandis que ponctuellement, de rares mutations peuvent précipiter un changement de structure tridimensionnelle de l'antigène (et donc grandement changer les propriétés antigéniques). Ce modèle prend en compte les interactions complexes entre les différents acides aminés des épitopes et accorde une importance au contexte dans lequel chaque mutation apparaît. La considération d'un lien non linéaire et dégénéré entre génotype et phénotype permet une interprétation aisée des clusters antigéniques mis en évidence par Smith *et al.* (2004). En particulier, il permet de rendre compte du fait que certaines transitions de clusters sont le fait d'une seule mutation (apparaissant dans un contexte particulier) tandis que certains clusters gardent une même propriété antigénique tout en arborant une grande variété de souches (par exemple 2 souches du cluster HK68 diffèrent de 19 acides aminés). Le modèle de réseau neutre pour HA est aussi consistant avec la mise en évidence par Plotkin *et al.* (2002) d'un lien entre l'accumulation de diversité d'acides aminés au sein d'un cluster et le changement de cluster.

Au niveau épidémiologique, Koelle *et al.* (2006) modélise alors la dynamique des clusters antigéniques du sous-type H3N2 en se focalisant sur le niveau du phénotype. Par souci de simplicité, Koelle *et al.* (2006) utilisent le modèle de Gog & Grenfell (2002) (approche *SB* et hypothèse *RI*) et rajoutent un terme de forçage saisonnier pour s'intéresser aux régions tempérées d'où proviennent l'essentiel des données. Les auteurs sont obligés de prendre en compte une structure spatiale implicite faisant intervenir une forte immigration pour compenser les extinctions observées pendant la période inter-épidémique. Partant de cette base, Koelle *et al.* (2006) montrent que leur modèle permet d'obtenir des dynamiques très proches de celles observées dans les zones tempérées. En particulier, le modèle prédit une augmentation de la diversité virale jusqu'à ce qu'un nouveau cluster antigénique appa-

raisse et que, du fait de son échappement à l'immunité de la population, il soit suffisamment avantage pour remplacer le cluster précédent dans un balayage sélectif. Ainsi, la diversité virale reste limitée dans le temps, et le modèle reproduit la succession de clusters antigéniques observés. Au niveau épidémiologique, les transitions de cluster s'accompagnent généralement d'une épidémie plus marquée, souvent suivie d'une période réfractaire (faible épidémie de H3N2) la saison suivante. Koelle *et al.* (2006) remarquent que cette tendance est présente dans les données des USA avec une période réfractaire observée pour 6 des 7 changements de clusters postérieurs à HK68. D'une manière remarquable, dans 6 de ces 7 périodes réfractaires potentielles, H1N1 ou la grippe B domine.

Le modèle de Koelle *et al.* (2006) illustre donc que la prise en compte de l'évolution ponctuée de HA et donc l'échappement ponctué à l'immunité de la population par la grippe suffit à rendre compte des principales caractéristiques de H3N2. En particulier, la présence d'une période d'immunité totale temporaire n'est pas nécessaire pour expliquer la diversité génétique réduite observée dans les phylogénies. Par ailleurs, Koelle *et al.* (2006) rapportent que des valeurs de R_0 plus faibles que celles utilisées pour leurs simulations de H3N2 ($R_0 = 5$) induisent des dynamiques durant lesquelles des clusters antigéniques coexistent et les phylogénies présentent plus de branchements, en accord avec ce que l'on observe pour H1N1 et la grippe B.

Indépendamment des réseaux neutres, le modèle de Koelle *et al.* (2006) met en évidence l'importance potentielle des balayages sélectifs et des dynamiques transitoires comme éléments clefs pour comprendre la phylodynamique de la grippe. Cette idée maîtresse peut donc aussi s'appliquer lors des réassortiments intra-sous-type pouvant être considérés dans certains cas à l'échelle du phénotype comme de rares "mutations" ayant de grands effets antigéniques. Les analyses de génomes entiers, font en effet de plus en plus apparaître les réassortiments intra-sous-type comme des événements évolutifs important pour la grippe (Holmes *et al.*, 2005; Nelson & Holmes, 2007). Par exemple, dans une étude phylogénétique de 156 génomes complets de H3N2 collectés dans l'état de New York entre 1999 et 2004, Holmes *et al.* (2005) ont montré que l'origine du cluster antigénique FU02 était dû à un réassortiment intra-sous-type entre différentes lignées co-circulant de H3N2. Cependant les exemples les plus marquants sont peut-être ceux concernant H1N1. Au niveau épidémiologique, les épidémies de 1947 et 1951 sont particulièrement marquantes. En 1947, le vaccin alors efficace les années précédentes est un échec total et les souches grippales apparaissent tellement différentes de celles

des années antérieures que la littérature de l'époque parle d'une nouvelle famille de virus (A', par opposition à A les années précédentes). Kilbourne *et al.* (2002) reviennent sur cette épidémie et montrent que les HA des souches des familles A et A' n'ont que 5% de réactivité antigénique. Pour l'épidémie de 1951, Viboud *et al.* (2006b) montrent que son impact en termes de mortalité et sa transmissibilité sont plus élevés que lors des pandémies de 1957 et 1968 au Royaume unis et au Canada. Une partie des causes de ces épidémies particulières ont été révélées par l'analyse de Nelson *et al.* (2008). Les auteurs ont analysé 71 génomes complets de H1N1 échantillonnés entre 1918 et 2006. Ils montrent que l'épidémie de 1947 est liée à un réassortiment intra sous-types permettant au virus prédominant de 1943 à 1945 d'acquérir de nouveaux fragments d'ARN codant pour PB2, PA, HA, NP et NS provenant vraisemblablement d'une lignée de H1N1 minoritaires et non mise en évidence lors de la surveillance de l'époque. Le changement de HA explique ainsi la forte divergence antigénique de la souche de 1947. Pour 1951, la même étude révèle que cette épidémie est probablement liée à un réassortiment où les souches prédominantes auraient gardé le même fragment d'ARN pour HA, mais acquis deux nouveaux gènes codant pour les polymerases PB1 et PA.

Ces résultats montrent l'importance des réassortiments intra-sous-type mais permettent aussi de tempérer un peu la vision simplifiée offerte par la théorie de l'échappement ponctué à l'immunité. En effet, les épidémies de 1947 et 1951 nous rappellent que la variation de HA n'est pas toujours le déterminant majeur gouvernant la taille des épidémies. L'épidémie de 1951, où à priori les deux antigènes principaux (HA et NA) n'ont pas changé, a en effet été plus sévère que celle de 1947 où un HA radicalement différent des précédents a émergé. Les interactions entre les différents fragments du génome sont donc essentiels à prendre en considération si l'on veut bien appréhender les conséquences de l'évolution virale sur les dynamiques épidémiologiques et la rétroaction qui s'en suit. Nous rediscuterons de ce point de manière détaillée par la suite (partie 1.3.6).

Pour conclure cette section, il est intéressant de constater que le changement de paradigme concernant l'évolution antigénique de la grippe A permet de concilier deux hypothèses débattues dans les années 1950 et 1960, illustrées par les figures 1.9 et 1.10.

Les interrogations portaient sur la nature des changement antigéniques des virus avec en confrontation, une vision selon laquelle ces changements étaient le fait de ré-arrangement de différent antigènes présents en un nombre fini, face à une vision où les changements antigéniques résultaient du rem-

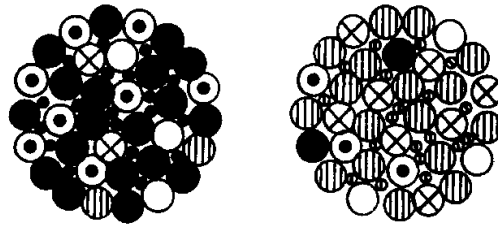


FIG. 1.9: Illustration de l'hypothèse selon laquelle les variations antigéniques de la grippe sont le fait de rearrangements d'un nombre fini d'antigènes (reproduit d'après Francis (1960)).

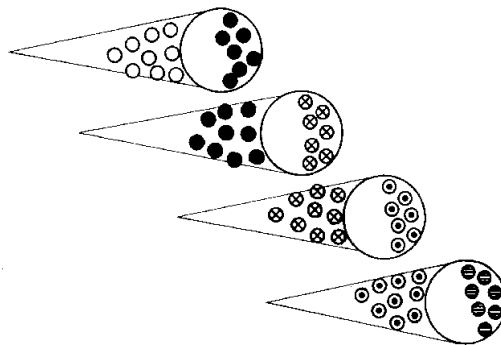


FIG. 1.10: Illustration de l'hypothèse de la perte et gain d'antigènes pour les variants successifs de grippe (reproduit d'après Francis (1960)).

placement de différents antigènes au cours du temps (Francis, 1960).

L'étude de Jensen & Peterson (1957) entre autre, avait permis d'opter pour la première de ces hypothèses (figure 1.9). Les auteurs ont caractérisé les propriétés antigéniques des variants de H1N1 des familles A de 1933 à 1944 et A' de 1946 à 1955. Pour ce faire, ils ont établi un indice de réaction pour chaque souche défini comme le nombre de souches avec lesquelles la souche étudiée interagit fortement. Ainsi, une souche antigéniquement identique à toutes les souches d'une série de 28 aura un indice de 28. Avec cette mesure, si de nouveaux antigènes ne cessent d'apparaître au cours du temps, on s'attend à observer une évolution croissante des indices. Si par contre le nombre d'antigènes diminue, les indices devraient décroître au cours du temps. Enfin, dans le cas où les antigènes se remplacent, on devrait avoir une courbe en cloche avec un maximum à mi-temps pour les 2 familles. Jensen & Peterson (1957) révèlent que la distribution des indices au sein de chaque famille (A et A') ne suit aucune de ces évolutions. Les indices varient bien, indiquant une variabilité antigénique mais sans tendance particulière au cours du temps.

Les résultats de Koelle *et al.* (2006) et, Blackburne *et al.* (2008) permettent d'unifier ces deux hypothèses en attribuant la première à des changements antigéniques intra-cluster et la seconde aux transitions entre les clusters suivies de balayages sélectifs et de changements de sites soumis à la sélection positive.

1.3.5 Une évolution antigénique graduelle ou ponctuelle ?

Wolf *et al.* (2006) ont fourni une confirmation du changement de perspective majeure dans l'appréhension de la dérive antigénique de la grippe. Ces auteurs ont utilisé plus de 1000 génomes complets séquencés obtenus entre 1995 et 2005 pour les gripes A/H3N2 et A/H1N1. Contrairement aux analyses précédentes, ces prélèvements ne sont pas biaisés en faveur de la variation antigénique offrant la garantie d'un meilleur reflet des différences de fitness entre les lignées. En accord avec les études antérieures, Wolf *et al.* (2006) ont mis en évidence de la sélection positive (avec un ratio de substitutions non synonymes sur synonymes supérieur à 1) pour les sites situés au niveau du tronc de l'arbre appartenant à la région des épitopes de HA. Aucune trace de sélection positive n'a été détectée en dehors de ces régions. Le résultat n'apparaît cependant pas statistiquement significatif, très probable-

ment en raison du nombre trop restreint de mutations sur le tronc de l'arbre pour avoir une puissance suffisante. Wolf *et al.* (2006) ont ensuite cherché des signatures de la sélection positive en considérant les temps d'extinction des différentes lignées, définies arbitrairement à chaque point de branchement de l'arbre phylogénétique pour la région de HA. Les auteurs ont trouvé que la distribution des temps d'extinction était bimodale avec des lignées caractérisées par de courts temps d'extinction (inférieur à 6 mois), et d'autres, marquées par un temps d'extinction beaucoup plus lent (supérieur à 6 mois). Dans ce contexte, des temps d'extinctions courts sont à relier à un remplacement rapide des nouvelles lignées, ce qui va dans le sens d'un avantage sélectif pour les lignées capables de remplacer rapidement leur prédécesseur. Cette idée est renforcée par la présence d'un excès significatif de substitutions non synonymes pour les sites des épitopes situés dans les régions du tronc caractérisées par des temps d'extinctions rapides. Ces résultats amènent Wolf *et al.* (2006) à conclure que l'essentiel de la sélection positive a lieu pendant de courtes périodes (matérialisées par les régions du tronc associées à des remplacements de lignées rapides) entre lesquelles se déroulent des périodes plus longues de stase évolutive (matérialisées par les régions du tronc ou les temps d'extinctions des lignées sont lents). Par ailleurs, la présence de nombreuses mutations identiques ayant lieu dans des lignées multiples majoritairement pendant ces "bursts" de sélection positive laisse à penser que le nombre de trajectoires évolutives possible est limité.

Wolf *et al.* (2006) se sont aussi intéressés aux conséquences épidémiologiques de leurs résultats. En particulier, n'ayant pas détecté de traces de sélection positive pour HA de H1N1, ces auteurs ont proposé que la dominance de H1N1 pendant certaines saisons de grippes pouvait être due au fait d'une diminution de fitness relative de H3N2, résultant d'une déplétion de la population d'hôtes susceptibles à H3N2 non renouvelée durant les intervalles de stase évolutive de ce sous-types. Wolf *et al.* (2006) rapportent ainsi qu'aux Etats-Unis, les saisons de H3N2 précédent H1N1 sont caractérisées par une diffusion significativement plus lente et un impact tendant à être plus faible en terme de mortalité. L'accord de ces résultats avec l'idée de période réfractaire mise en avant par Koelle *et al.* (2006) n'est pas claire. En effet, d'après Koelle *et al.* (2006), les périodes réfractaires sont généralement précédées d'une saison de H3N2 plus marquée, associée à un changement de cluster antigénique.

Shih *et al.* (2007) ont tempéré le paradigme naissant de l'évolution antigénique ponctuée de HA pour H3N2. Ces auteurs ont cherché à mieux

caractériser le nombre de sites soumis à la sélection positive en utilisant 2248 séquences de la région HA1 collecté entre 1968 and 2005. Shih *et al.* (2007) ont analysé l'évolution de la fréquence des acides aminés au cours du temps. L'étude des temps de fixation (connus sous un modèle neutre) leur permet alors de détecter la présence de sélection positive. Cette approche s'est révélée être relativement puissante, leur permettant ainsi de retrouver la plupart des sites mis en avant dans les études antérieures (ils retrouvent par exemple les 11 sites de HA1 où Wolf *et al.* (2006) ont détecté des remplacements parallèles). Forts de cette analyse, Shih *et al.* (2007) révèlent qu'il existe des mutations sélectionnées positivement d'une manière continue dans le temps et non pas uniquement pendant de courtes périodes. Par ailleurs, ils révèlent l'existence de nombreuses fixations simultanées de différents acides aminés résultant vraisemblablement d'effet cumulatif (épistasie). Ces résultats suggèrent donc que les changements antigéniques pourraient être moins ponctuels que ce qui avait été proposé. En particulier Shih *et al.* (2007) rappellent que la variation antigénique au sein des clusters identifiés par Smith *et al.* (2004) est toujours importante, la distance antigénique entre deux souches d'un même cluster pouvant être supérieure à celle séparant deux souches de deux clusters adjacents. De plus, le fait que Smith *et al.* (2004) n'aient eu à leur disposition "que" 273 isolats (dont 94 d'un même pays) peut fortement contribuer à avoir masqué des changements antigéniques existant chez des virus non échantillonnés (Shih *et al.*, 2007).

Suzuki (2008) est revenu sur cette controverse, en cherchant à caractériser plus précisément dans quelle région de l'arbre phylogénétique de la région HA1 de HA avait lieu la sélection positive. Pour ce faire, Suzuki (2008) a utilisé les données de Smith *et al.* (2004) et divisé l'arbre en 3 parties :

- le tronc (T) ;
- les branches où les changements de clusters antigéniques ont été observés (C), cette partie est en outre reliée aux zones de remplacements rapides des lignées dans l'analyse de Wolf *et al.* (2006) ;
- et les parties restantes de l'arbre (NC-NT).

Suzuki (2008) a mis en évidence de la sélection positive (en comparant le nombre de substitutions non synonymes par rapport au nombre de substitutions synonymes) sur les branches C, T et NC-T et non pas uniquement pour les parties C comme le suggérait l'étude de Wolf *et al.* (2006). La sélection positive est donc essentiellement graduelle en accord avec Shih *et al.* (2007). Au contraire, l'hypothèse de neutralité est retenue pour les branches NC-NT.

1.3.6 Dynamique source-puits et apport des analyses à l'échelle génomique

Nous avons décrit en détail la dérive antigénique telle qu'elle apparaissait lorsque l'on regarde le système à une échelle mondiale et sur de nombreuses années.

Cependant, les études s'intéressant à l'évolution à court terme durant une épidémie à l'échelle d'une localité de la zone tempérée ont révélé une absence de sélection positive pour échapper à l'immunité de la population (Lavenu *et al.*, 2006; Nelson *et al.*, 2006). A cette échelle, l'évolution virale apparaît être au contraire dominée par des processus stochastiques d'importation de différentes lignées soumises à de nombreux réassortiments.

Ce "paradoxe" amène donc à s'interroger sur l'origine des variants antigéniques arrivant chaque année dans la zone tempérée. En particulier, les résultats de Lavenu *et al.* (2006) et Nelson *et al.* (2006) semblent indiquer que l'essentiel de la dérive antigénique se situerait en dehors de la zone tempérée ou durant les périodes non épidémiques (Gog *et al.*, 2003). On peut donc se demander si les virus persistent localement à très faible prévalence (ou éventuellement sous une forme latente dans certains individus) ou bien s'ils sont réintroduits depuis une autre région.

Les analyses phylogénétiques permettent d'opter pour l'hypothèse d'un réensemencement depuis d'autres régions étant donné qu'il existe peu de liens phylogénétiques entre les virus échantillonnés dans une région donnée durant différentes années consécutives (Nelson *et al.*, 2007; Russell *et al.*, 2008; Rambaut *et al.*, 2008). Russell *et al.* (2008) en utilisant 13000 virus isolés de 2002 à 2007, caractérisés pour leurs propriétés antigéniques (par les tests d'inhibition de l'héماغglutination), révèlent en outre une tendance forte pour la circulation globale de H3N2. Les auteurs montrent que les nouveaux variants antigéniques proviennent essentiellement d'Asie de l'Est et du Sud-Est puis qu'ils parviennent ensuite généralement en Océanie, Amérique du Nord et Europe, puis enfin, avec un délai de 6 mois, en Amérique du Sud. Ce dernier délai est en accord avec le peu de connexion aérienne directe entre l'Amérique du Sud et l'Asie de l'Est et du Sud-Est. L'étude montre aussi que les virus ne persistent pas nécessairement toute l'année dans chaque localité du réservoir d'Asie de l'Est et du Sud-Est mais qu'au contraire, celui-ci est le fait d'une métapopulation où les différentes populations se réensemencent sans cesse. Cependant, le manque de données des régions tropicales autres que l'Asie ne permet pas d'exclure un rôle potentiel de réservoir aux zones

tropicales non asiatiques, étant donné que la persistance de la grippe y a été reporté (Viboud *et al.*, 2006a; Finkelman *et al.*, 2007; Alonso *et al.*, 2007b).

La nature largement unidirectionnelle de la circulation virale mise en avant par Russell *et al.* (2008) suggère ainsi qu’une fois quitté l’Asie de l’Est et du Sud-Est, les virus sont peu à même de contribuer à l’évolution virale sur le long terme. Suzuki (2008) commente ce résultat dans son article et associe alors les régions C, T, NC-T (correspondant principalement au tronc de l’arbre et à des branches très connectées à celui-ci) au réservoir asiatique (ou tropical) où se situerait l’essentiel de l’évolution de la grippe tandis que le reste des branches correspondrait au puits des zones tempérées où l’évolution est principalement neutre. L’étude de Russell *et al.* (2008) est enfin remarquable par la mise en évidence d’une augmentation globalement linéaire de la distance antigénique au cours du temps, et ce, même en l’absence de changement de clusters antigéniques. Ce dernier résultat est en accord avec le fait que la sélection positive et la dérive antigénique soient largement continues (Shih *et al.*, 2007; Suzuki, 2008).

Rambaut *et al.* (2008) aboutissent aussi à la conclusion d’une dynamique source-uits. Cependant, l’utilisation de 1302 génomes complets de H3N2 et H1N1 prélevés aux USA (état de New York) et en Nouvelle Zélande leur permet de mettre en avant les interactions ayant lieu entre les différents fragments d’ARN. Cette étude révèle ainsi que l’évolution génomique de la grippe est caractérisée par des interactions complexes entre des réassortiments fréquents et des balayages sélectifs, largement corrélés aux changements de propriétés antigéniques des virus. L’existence de taux d’évolutions presque comparables à ceux de HA et NA pour certaines protéines internes laisse à supposer de fortes pressions de sélection sur celles-ci probablement associées à la nécessité d’optimiser la compatibilité fonctionnelle des différents segments. Le cas des virus de type Fujian déjà évoqué auparavant est particulièrement illustratif à ce sujet. La souche Fujian est initialement apparue en 2002 suite à 2 mutations conférant un grand changement des propriétés antigéniques (Jin *et al.*, 2005). Cependant, malgré l’avantage potentiel de la nouvelle forme de HA, cette souche n’a initialement pas pris le dessus, et il a fallu attendre un réassortiment intra-sous-type pour que le virus tire profit de ce nouvel HA. Cela traduit peut être des mutations délétères chez la souche originelle ou une incompatibilité du HA muté avec les anciens fragments (Holmes *et al.*, 2005). L’hypothèse d’une interaction avec H1N1, majoritaire cette année là ne peut toutefois pas être exclue. L’histoire est néanmoins complexe car en 2004, la souche antérieure au réassortiment a remplacé le virus réassorti peut

être à cause de mutations compensatoires survenues entre-temps et ayant accru la “fitness” de l’assemblage original. Bien que largement spéculative, cet exemple illustre bien l’importance potentielle des interactions entre l’ensemble des fragments du génome.

1.3.7 Recyclage antigénique

Nous avons déjà évoqué la notion de recyclage antigénique au niveau intra-cluster, cependant cette idée a été particulièrement influente au niveau des sous-types de grippe A. La “doctrine du péché antigénique originel” (Francis, 1960) établit que la première infection avec un virus de la grippe laisse un impact immunologique présent à vie, renforcé ensuite par d’autres infections. Grâce à cela, le titre le plus élevé d’anticorps présent dans un groupe d’âge reflète le type antigénique du virus dominant responsable des premières infections pendant l’enfance de cette cohorte. D’un point de vue pratique, ce processus permet de réaliser des études rétrospectives du sérum de personnes âgées, ce qu’on appelle l’ “archéosérologie” et d’établir les types antigéniques présents dans le passé. Ces études ont initialement établi que le type H2 est apparu pour la première fois vers 1889, H3 vers 1900, H1 en 1918, H2 et H3 réapparaissant respectivement en 1957 et 1968. Nous n’aurions donc été confrontés qu’à seulement trois types de HA : H1, H2, H3 (Dowdle, 1999). D’une manière remarquable, H3 et H2 sont tous deux réapparus 68 ans après leurs extinctions respectives, une durée de l’ordre de grandeur de l’espérance de vie humaine (Hilleman, 2002). Cela a conduit à penser que la perte d’immunité de population au cours du renouvellement de génération aurait pu être à l’origine de leurs réémergences. Ces constats ont donné lieu à de nombreuses spéculations sur le type de la prochaine pandémie qui selon ces prédictions aurait dû être H2. Dowdle (1999) a cependant montré sur la base d’évidences sérologiques et épidémiologiques qu’il était plus vraisemblable d’attribuer la pandémie de H3 à l’année 1889. En particulier, pour la pandémie de 1968, une très forte diminution d’extra mortalité due à la grippe a été reportée chez les personnes nées avant 1885. De même, les taux d’infections en 1968 et 1969 parmi les personnes nées avant 1890 furent seulement de l’ordre de deux tiers de ceux observés parmi les personnes nées après 1899 (Dowdle, 2006).

L’hypothèse du recyclage antigénique peut être appréhendée avec les modèles multi-souches que nous avons introduits précédemment. Comme cette hypothèse repose sur la dynamique de remplacement d’un petit nombre

de sous-types, les modèles multi-souches sont alors analysables analytiquement et permettent de bien comprendre comment l'immunité de la population peut agir en tant que force sélective. Les études ayant porté sur ce sujet se sont principalement intéressées au cas où quatre souches co-circulaient. Ces quatre souches peuvent être vues comme un système de 2 loci à 2 allèles où le partage d'un allèle confère une protection croisée (approche typique des modèles de Gupta *et al.* (1998)) mais aussi, d'une manière équivalente comme 4 souches équi-distances situées sur un cercle. Dans ce dernier cas, chaque souche confère une protection partielle à ses deux voisines uniquement (modèles utilisés par exemple par Andreasen *et al.* (1997) et Gog & Swinton (2002)). Dans le cas du système génétique, si l'on note (A,a) et (B,b) les allèles des 2 loci, on obtient par exemple que la souche AB confère une protection partielle face aux souches Ab et aB mais pas contre ab qui est une souche discordante.

Ce même système a été étudié par différents auteurs en utilisant différentes approches (HB et SB) et hypothèses (RS et RI, immunité croisée multiplicative ou non, présence ou non de coinfections).

- Andreasen *et al.* (1997) ont utilisé un modèle HB avec RS, immunité croisée non multiplicative et sans coinfection
- Gupta *et al.* (1998) un modèle HB avec RI, immunité croisée non multiplicative et coinfection
- Gomes *et al.* (2002) un modèle HB avec RS, les 2 types d'immunité croisées et coinfection
- et Gog & Swinton (2002) un modèle SB avec RS, coinfection et immunité croisée multiplicative.

Dawes & Gog (2002) ont offert un traitement mathématique complet de ces quatre modèles dans un cadre unifié. Pour ne s'intéresser qu'à l'effet de l'immunité de la population (et garder l'analyse tractable), les différentes souches ont toutes les mêmes valeurs de paramètres. Les différents modèles HB présentent une dynamique qualitativement identique avec trois comportements distincts :

- les 4 souches co-circulent avec une incidence constante,
- les 4 souches co-circulent mais dans une dynamique cyclique,
- un ensemble de souches discordant domine et exclut l'autre.

Le modèle SB de Gog & Swinton (2002) présente un comportement similaire excepté qu'il n'est pas sujet à une bifurcation de Hopf et ne présente donc pas de valeurs de paramètres pour lesquels les souches oscillent. Cette différence est étonnante étant donnée la proximité des modèles de Gog &

Swinton (2002) et Gomes *et al.* (2002). A l'exception du cadre SB ou HB, ces deux modèles autorisent les coinfections, supposent une RS et une immunité multiplicative. L'absence de dynamique cyclique dans le modèle de Gog & Swinton (2002) provient donc sûrement de l'hypothèse de l'immunité polarisée (la justification mathématique fournie par Dawes & Gog (2002) n'est pas réellement traduisible en termes biologiques).

Cette analyse montre donc que pour les modèles HB, les souches peuvent suivre une dynamique oscillante. Ces oscillations sont de l'ordre de grandeur de la durée de vie des hôtes ce qui se comprend intuitivement en termes de déplétion de susceptibles. Une fois qu'une souche a épuisé son "stock de susceptibles", la seule source de renouvellement des susceptibles est fournie par les naissances. La fréquence des oscillations est donc limitée par le taux de naissance de la population.

Lin *et al.* (1999), en utilisant le même modèle que Andreasen *et al.* (1997) ont montré que ces oscillations pouvaient s'observer dans un système ne comprenant que trois souches. Là encore, la période des cycles est de l'ordre de grandeur de l'espérance de vie des hôtes. Les modèles mathématique HB, sont donc compatibles avec la théorie du recyclage antigénique et montrent bien que la perte d'immunité de population au cours du renouvellement de génération peut permettre la réémergence de sous-types grippaux.

Au niveau intra-sous-type, l'idée de recyclage antigénique dominant dans les années 50 (voir Jensen & Peterson (1957); Francis (1960)) a récemment connu un regain d'intérêt suite à des hypothèses sur la plasticité évolutive des virus à ARN. Belshaw *et al.* (2008) ont par exemple mis en avant un compromis évolutif entre vitesse et fidélité de réplication, expliquant ainsi le maintien de taux de mutation élevé chez les virus à ARN. Ce taux de mutation induit de fortes contraintes, notamment sur la taille des génomes. La théorie des quasi-espèces et le seuil d'erreur associé (Bull *et al.*, 2005) prédit par exemple, que la taille maximale du génome ne peut excéder l'inverse du taux de mutation. Au dessus de ce seuil, les séquences virales adaptées (fit) ne peuvent plus se maintenir et la population est sujette à une catastrophe. Cette théorie offre une explication potentielle au fait que les virus à ARN ont une taille de génome de l'ordre de grandeur de 10^4 bases pour un taux de mutation de 10^{-4} erreurs par base (mais voir Bull *et al.* (2007) pour une explication ne faisant pas intervenir le seuil d'erreur). Cette forte contrainte sur la taille des génomes rend la forte capacité d'adaptation potentielle liée à

un fort taux de mutation quelque peu paradoxale. En effet, en raison de leur petit génome, les virus à ARN présentent de forts niveaux de pléiotropie, des séquences spécifiques devant encoder de nombreuses fonctions parfois conflictuelles (Holmes, 2003). Ainsi plutôt que de considérer les virus à ARN comme infiniment flexibles, Belshaw *et al.* (2008) suggèrent la métaphore des “100 pas dans une cage”, où les virus à ARN seraient capables de “switch” adaptatifs rapides parmi un ensemble limité de phénotypes.

Recker *et al.* (2007) ont analysé les conséquences de telles contraintes en proposant un modèle considérant l’existence d’un nombre limité de phénotypes constamment recréés par des mutations ou d’autres processus tels les réassortiments. Recker *et al.* (2007) ont représenté les différents types antigéniques en considérant qu’ils étaient le fait d’un modèle à épitopes multiples possédant chacun différents allèles. Les différents types antigéniques possibles interagissent via l’immunité de la population d’hôtes modélisé par deux paramètres. Un premier paramètre gouverne la réduction de probabilité de devenir infectieux dûe au fait qu’un hôte ait déjà rencontré au moins un des allèles présent dans un type antigénique donné. Le second paramètre contrôle la protection additionnelle résultant de l’exposition à plus d’un allèle. Une protection totale est en outre supposée pour les types antigéniques déjà rencontrés. Recker *et al.* (2007) ont montré que ce modèle pouvait produire des épidémies caractérisées par un type antigénique majoritaire avec une variation cyclique ou chaotique du type dominant au cours du temps. Ces auteurs ont simulé des données avec une version du modèle à 5 épitopes contenant chacun 2 allèles définissant un espace antigénique caractérisé par un hypercube où les types antigéniques représentent les 32 noeuds. En appliquant le même processus d’échantillonnage temporel que celui utilisé pour obtenir les données analysées par Smith *et al.* (2004), suivies de la même analyse multivariée, Recker *et al.* (2007) ont pu reproduire une cartographie antigénique à deux dimensions, avec une trajectoire zigzaguante marquée par une succession temporelle verticale similaire à celle des clusters antigéniques de Smith *et al.* (2004). Ainsi, l’échantillonnage temporel d’un système ou un nombre limités de types antigéniques co-circule dans une dynamique complexe, peut à lui seul engendrer la cartographie antigénique rapportée par Smith *et al.* (2004). Recker *et al.* (2007) montrent donc que l’on peut réinterpréter les données actuelles en considérant le profil changeant de l’immunité de la population d’hôtes comme l’élément essentiel gouvernant l’émergence des différents types antigéniques. Cette vision diffère grandement des deux autres paradigmes présentés (Koelle *et al.* (2006), Ferguson *et al.* (2003)) où

la capacité de mutation du virus est au coeur des patrons observés.

Le modèle de Recker *et al.* (2007) offre en outre une perspective intéressante pour appréhender l'émergence soudaine et temporaire de virus hautement pathogènes (HPAI) chez les oiseaux. En particulier, il serait intéressant de regarder en quoi ce modèle bien adapté pour décrire la co-circulation des différents assemblages de HA et NA présents chez les oiseaux peut être sujet à une bifurcation de type “blowout” induisant des dynamiques intermittentes de type “on-off” (Ott & Sommerer, 1994). Ce régime est particulièrement intéressant car d'une part, sa dynamique est constituée d'alternances de longues périodes de stase (état “off”) brusquement interrompues par des périodes d'activité variable (état “on”), ce qui correspond bien à ce que semblent être les apparitions des virus HPAI, et d'autre part, il offre la possibilité d'être testé avec des données de séries temporelles. En effet, sous le régime intermittent, la distribution de la durée des phases “off” vérifie une loi de puissance indépendante du seuil considéré pour définir les phases “off”.

1.4 Objectif de la thèse

Nous avons montré que différentes hypothèses pouvaient rendre compte de l'évolution antigénique de la grippe A. Cependant, hormis l'hypothèse du recyclage antigénique avancée par Recker *et al.* (2007), elles reposent toutes sur des modèles relativement complexes pouvant rendre l'interprétation des résultats très difficile. Ainsi, l'étude de Tria *et al.* (2005) a révélé l'importance potentielle d'une source d'hétérogénéité pour réduire la diversité virale, un résultat difficile à appréhender de la seule étude de Ferguson *et al.* (2003). Cet article nous a en outre permis de mettre en évidence l'impact potentiel de la façon dont Ferguson *et al.* (2003) avait introduit la période temporaire d'immunité totale transcendant la variation des souches et des sous-types. Le modèle de Koelle *et al.* (2006) qui est une formalisation du paradigme dominant aujourd'hui pour rendre compte de l'évolution antigénique de la grippe, repose lui aussi sur un formalisme très particulier (approche basée sur le statut (SB) couplée à une hypothèse de réduction d'infectiosité (RI)). Ce cadre formel peut potentiellement avoir un impact sur les résultats comme nous l'avons vu lors de l'analyse comparative de des différents modèles multi-souches dans le cas où quatre souches co-circulent (Dawes & Gog, 2002). De plus, la présence d'une immunité croisée multiplicative (corrolaire d'une

approche SB) est largement discutable. Cela constitue aussi une différence majeure entre les modèles de Koelle *et al.* (2006) et Ferguson *et al.* (2003) et il est difficile en l'état d'avoir une idée de l'impact de cette hypothèse.

Il est donc souhaitable de disposer d'approches plus tractables permettant de s'assurer que les dynamiques engendrées par un modèle correspondent bien au processus que l'on pense y inclure et non pas à l'emploi d'un formalisme particulier. En outre, utiliser des modèles plus simples permet souvent de bénéficier de la puissance d'une approche analytique ou bien, lorsque ce n'est pas possible, cela offre l'avantage de pouvoir réaliser des analyses de sensibilité plus poussées afin de bien appréhender l'impact de chacun des paramètres (une analyse nécessairement très limitée lorsqu'une réalisation d'un modèle prend plusieurs heures).

Il apparaît donc nécessaire de développer des “caricatures” des simulations complexes déjà publiées. Cette approche permet en outre de ne retenir que les processus clefs essentiels à la reconstruction de la dynamique du système observé (Ginzburg & Jensen, 2004). Appliqué au cas de la grippe, il serait par exemple fortement avantageux de disposer d'un modèle minimal tractable pour un sous-type. Un tel modèle permettrait par exemple de s'intéresser aux conséquences de la co-circulation des sous-types sur les dynamiques épidémiologiques. Les évidences d'interactions entre H3N2 et H1N1 de 1977 à 2009 sont multiples. Les études de (Finkelman *et al.*, 2007; Rambaut *et al.*, 2008) nous révèlent ainsi que H3 et H1 sont rarement co-dominants une même année. La présence d'une immunité totale temporaire comme suggérée par Webster *et al.* (1992) et Ferguson *et al.* (2003) peut être décisive dans ce contexte. Il faut néanmoins savoir dans quelle mesure celle-ci est associée à un “boosting” lors de la réinfection par des souches déjà rencontrées (un facteur reporté comme largement influant). Ce genre de réponses est par ailleurs d'une importance capitale pour bien appréhender les conséquences de la pandémie actuelle. En particulier, être capable de prédire rapidement si un nouveau sous-type pandémique remplace les gripes saisonnières résidentes peut avoir des retombées considérables en termes de politique vaccinale.

Dans ce contexte, un des avantages des modèles simples, comprenant un nombre limité de paramètres, est qu'ils peuvent être confrontés directement aux séries temporelles épidémiologiques dont on dispose. Ainsi, l'emploi de méthodes statistiques appropriées permet de tester nos différentes hypothèses dans un cadre rigoureux en laissant les données nous guider (King *et al.*, 2008).

L'objectif de ce travail de thèse est le développement de tels modèles. Nous introduirons cette démarche en commençant par revenir sur les conséquences de l'emploi d'un formalisme SB avec hypothèse de RI dans le cadre des dynamiques transitoires de remplacements de clusters antigéniques. Cette approche nous amènera à considérer un modèle très simple dont l'étude nous permettra de révéler les risques d'une interprétation trop "linéaire" de la variabilité des épidémies de gripes. Enfin, nous montrerons la nécessité d'une description fine du processus d'acquisition de protection partielle, revenant largement sur les possibilités d'un "boosting immunologique" comme introduit par Ferguson *et al.* (2003). Cela nous amènera à de nombreuses interrogations sur les mécanismes à l'oeuvre lors des événements ponctuels d'échappement à l'immunité, que ceux-ci soient dûs aux transitions de clusters antigéniques ou bien à l'introduction de nouveaux sous-types pandémiques. Ces interrogations seront développées dans la dernière partie de ce mémoire.

Chapitre 2

Influenza A gradual and epochal evolution : insights from simple models

Sébastien Ballesteros^{1,*}, Elisabeta Vergu², Bernard Cazelles^{1,3}

1 UMR 7625 (UPMC, ENS, AgroParisTech, CNRS), Ecole Normale Supérieure, Unit of Eco-Evolutionary Mathematics, 46 rue d’Ulm, F-75230 Paris Cedex 05, France.

2 INRA, UR341 Mathématiques et Informatique Appliquées, F-78352 Jouy en Josas, France

3 UMMISCO UMI 209 IRD-UPMC, 93142 Bondy, France

* E-mail : sebastien.ballesteros@biologie.ens.fr

Abstract

The recurrence of influenza A epidemics has originally been explained by a “continuous antigenic drift” scenario. Recently, it has been shown that if genetic drift is gradual, the evolution of influenza A main antigen, the haemagglutinin, is punctuated. As a consequence, it has been suggested that influenza A dynamics at the population level should be approximated by a serial *SIR* model. Here, simple models are used to test whether a serial *SIR* model requires gradual antigenic drift within groups of strains with the same antigenic properties (antigenic clusters). We compare the effect of status based and history based frameworks and the influence of reduced susceptibility

and infectivity assumptions on the transient dynamics of antigenic clusters. Our results reveal that the replacement of a resident antigenic cluster by a mutant cluster, as observed in data, is reproduced only by the status based model integrating the reduced infectivity assumption. This combination of assumptions is useful to overcome the otherwise extremely high model dimensionality of models incorporating many strains, but relies on a biological hypothesis not obviously satisfied. Our findings finally suggest the dynamical importance of gradual antigenic drift even in the presence of punctuated immune escape. A more regular renewal of susceptible pool than the one implemented in a serial *SIR* model should be part of a minimal theory for influenza at the population level.

2.1 Introduction

Currently, two subtypes of influenza type A virus (H3N2 and H1N1) co-circulate in human populations along with the influenza type B virus. In temperate zones and during inter-pandemic periods, their dynamics lead to annual epidemics of variable amplitude caused by alternating types and subtypes (Nelson & Holmes, 2007). Worldwide, these annual epidemics result in about three to five million cases of severe illness, and about 250 000 to 500 000 deaths (WHO, 2003).

The recurrence of influenza A epidemics is still not thoroughly understood despite a large amount of empirical and theoretical investigations. It has originally been explained by the evolution of the main surface glycoproteins of the virus (mainly haemagglutinin, HA, but also Neuraminidase, NA) inducing possible “reinfection” of previously infected hosts. This “continuous antigenic drift” scenario (Pease, 1987) where viruses continuously escape immunity as mutations accumulate has recently been challenged by new sequences data and theoretical developments.

From the theoretical side, multi-strains models tracking the infection history of the hosts have been difficult to use due to the exponential growth of state variables as the number of strains increases (Andreasen *et al.*, 1997). Nevertheless, by using a status based approach combined with the assumption that a previous infection reduces infectivity and that co-infections are allowed, Gog & Grenfell (2002) have produced a model where the number of state variables grows linearly with the number of strains. It has thus been possible to study how immunologically cross-reactive strains sequentially in-

vade a partially susceptible population. The results of Gog & Grenfell (2002) model, using a linear antigenic space, have shown a self-organisation of the strains into antigenic clusters. This organisation results in a punctuated antigenic evolution based on a continuous genetic change, challenging the idea of a gradual antigenic drift.

From the observational and experimental side, Smith *et al.* (2004) have mapped the antigenic and genetic evolution of influenza virus from real data using statistical techniques. They have confirmed the theoretical results of Gog & Grenfell (2002), with antigenic clusters emerging and replacing each other every 2 to 8 years.

Other theoretical works have enabled to relax the hypothesis of a linear antigenic space (Ferguson *et al.*, 2003; Girvan *et al.*, 2002). Such a gain in realism has resulted in an intuitive explosion of strains diversity due to a positive feedback. As the antigenic diversity of co-circulating strains increases, the production of further variants is also increased. The key theoretical question has thus been to explain how the strain diversity could be restricted to be compatible with the phylogenetic tree of the glycoprotein HA of the subtype H3N2 (Grenfell *et al.*, 2004). Ferguson *et al.* (2003) (see also Andreasen & Sasaki (2006); Minayev & Ferguson (2009a)) have included in their model a strain transcendent temporary immunity (previously suggested by Webster *et al.* (1992)), along with some sources of variability (Tria *et al.*, 2005). This approach allows simulating realistic viral evolution at the sequence level. Nevertheless, it remains difficult to prove conclusively the physiological support of this non permanent immunity through appropriate experiments.

Recently, Koelle *et al.* (2006) have been able to reproduce the dynamics of influenza HA genetic diversity within a high dimensional antigenic space without invoking the temporary cross-immunity. Koelle *et al.* (2006) model focuses on antigenic clusters resulting from a degenerated genotype to phenotype map. The authors have considered that the evolution of the main antigen of influenza A has two principal characteristics : first, it consists of long periods of stasis where antigenic clusters globally do not change their antigenic properties but evolve through neutral or almost neutral mutations ; second, these periods are punctuated by bursts of positive selection which precipitate antigenic cluster transitions due to rare escape mutations. The occurrence of new antigenic clusters results in selective sweeps that restrict strains diversity. Koelle *et al.* (2006) model have shown that weak within cluster selection and the selective sweeps that accompany antigenic clusters transition are sufficient to recover most of HA interpandemic evolutionary

dynamics, a finding confirmed by genetic data analyses (Blackburne *et al.*, 2008; Wolf *et al.*, 2006). Koelle *et al.* (2006) results suggest a new starting point for the investigation of influenza dynamics at the population level.

Here we are interested in the consequences of Koelle *et al.* (2006) results at the population level. Contrary to the classical *SIRS* model of Pease (1987), which resorts to a gradual antigenic drift, Koelle *et al.* (2006) results suggest to focus on a serial *SIR* model with discrete *R* to *S* transitions provoked by punctuated evolution (rare immune-escape mutants with strong antigenic effects). We are interested in contrasting the serial *SIR* paradigm and the classical *SIRS* model of Pease (1987). In particular, we seek to determine whether a serial *SIR* model would require gradual antigenic drift within clusters. As revealed by Koelle *et al.* (2006) study, gradual antigenic drift favours antigenic cluster change by facilitating the antigenic space exploration and also increases susceptible renewal. Our approach mainly neglects the epidemiological impact of gradual antigenic drift to disentangle the complex causal links induced by the interactions between births and deaths processes, gradual antigenic drift, clusters change, external virus reintroductions and specific modelling assumptions. Our objective is to use simple and tractable models to determine to what extent a serial *SIR* model per se, *i.e.* neglecting gradual antigenic drift can constitute a minimal model for influenza A dynamics at the population level.

Our analysis mainly focuses on transient dynamics that appear of first importance for selective sweeps and antigenic clusters replacement. To our knowledge, contrary to what has been done for the stationary dynamics (see Dawes & Gog (2002)), no study has focused on the consequences of these modelling assumptions on the *transient* dynamics.

From the methodological side, we start by clarifying the effects of classical modelling assumptions of multi-strains *SIR* models on the invasion and persistence of a new antigenic cluster. History and status based two-strain models including reduced infectivity and susceptibility assumptions are considered (section Methods). Significance and choice of biologically relevant numerical values for model parameters are then discussed. The deterministic framework is first explored (sections Results). Then, both stochasticity and external reintroduction of viruses are added in order to test the robustness of the obtained transient dynamics. Finally we discuss the biological limitations of the only model able to reproduce observed antigenic cluster repla-

cement dynamics and, more generally, the ingredients of a minimal theory for influenza A. Our findings globally suggest the impact of the modelling assumptions on the outcome of the invasion of a new antigenic cluster. They also stress the dynamical importance of gradual antigenic drift in a minimal theory for influenza at the population level even in the presence of punctuated immune escape.

2.2 Methods

In order to explore the behaviour of the serial *SIR* model as a minimal theory for influenza, we consider an adaptive dynamics framework (Dieckmann *et al.*, 2002). The *resident* population is an antigenic cluster of influenza strains at endemic equilibrium, illustrating the long period of stasis described by Wolf *et al.* (2006). The immune escape mutation (as a consequence of a true mutation or a re-assortment (Du *et al.*, 2008)) generates a new antigenic cluster called the *mutant*. We are interested in the outcome of the invasion of the resident viral population by the mutant. This framework illustrates the burst of positive selection proposed by Wolf *et al.* (2006).

2.2.1 Different assumptions for the modelling of partial cross-immunity for co-circulating antigenic clusters ; deterministic framework

We study the outcome of immune escape mutations, by using two-strain dynamical models applied to the resident and the mutant antigenic clusters defined here above.

Two main modelling approaches have been used to study immunologically cross-reactive strains : (i) *history based (HB) models* (Andreasen *et al.*, 1997) and (ii) *status based (SB) models* (Gog & Swinton, 2002). As stressed by Gog & Swinton (2002) and Kryazhimskiy *et al.* (2007), in a *HB* model, all hosts previously infected by a strain *i* become partially immune to a second strain *j*. In *SB* model, when a given host gets infected by a strain *i*, the within-host immunological dynamics takes place and “immediately” generates the immunological status (immunised or not) towards strain *j* (Gog & Swinton, 2002).

Partial cross immunity can be modelled using two extreme hypotheses : (i) *reduced infectivity (RI)* or (ii) *reduced susceptibility (RS)*. *SB* models with

RI assumption exhibit the attractive mathematical property of dimensional reduction without loss of information, containing twice more equations than strains. The tractability of this kind of models has been exploited in previous works (Gog & Grenfell, 2002; Koelle *et al.*, 2006; Gog, 2008).

To clarify the effect of these various assumptions, we provide a comparison of both *RS* and *RI* cases in both *SB* and *HB* models.

Status based model with reduced susceptibility (*SBRS*) and co-infections

We introduce the following notations : $R_\emptyset$ is the proportion of hosts with no acquired immunity, R_i is the proportion of hosts who have acquired immunity to cluster i and R_{ij} is the proportion of hosts who have acquired immunity to clusters i and j . Note that we include currently infected hosts (I) into the R state variables. Partial cross-immunity is modelled by σ , which represents the probability of being immunised against cluster j when infected by cluster i .

Using these notations and considering that co-infections are possible during the infectious period and that infections with one antigenic cluster reduce susceptibility to the other, we can derive (see for instance Kryazhimskiy *et al.* (2007) or Gog & Swinton (2002)) equation (2.1) :

$$\begin{aligned}
\dot{R}_\emptyset &= \mu - \beta_1 R_\emptyset I^1 - \beta_2 R_\emptyset I^2 - \mu R_\emptyset \\
\dot{R}_1 &= (1 - \sigma)\beta_1 R_\emptyset I^1 - \beta_2 R_1 I^2 - \mu R_1 \\
\dot{R}_2 &= (1 - \sigma)\beta_2 R_\emptyset I^2 - \beta_1 R_2 I^1 - \mu R_2 \\
\dot{R}_{12} &= \sigma\beta_1 R_\emptyset I^1 + \sigma\beta_2 R_\emptyset I^2 + \beta_2 R_1 I^2 + \beta_1 R_2 I^1 - \mu R_{12} \\
\dot{I}^1 &= \beta_1 R_\emptyset I^1 + \beta_1 R_2 I^1 - \nu I^1 - \mu I^1 \\
\dot{I}^2 &= \beta_2 R_\emptyset I^2 + \beta_2 R_1 I^2 - \nu I^2 - \mu I^2
\end{aligned} \tag{2.1}$$

Parameter interpretation and values are given in Table 3.1.

Status based model with reduced infectivity (*SBRI*) and co-infections

In the case where infection by one antigenic cluster reduces the infectivity of a subsequent infection by the other cluster, using the same notation as in (2.1) and still allowing coinfections during the infectious period, we obtain :

$$\begin{aligned}
\dot{R}_\emptyset &= \mu - \beta_1 R_\emptyset I^1 - \beta_2 R_\emptyset I^2 - \mu R_\emptyset \\
\dot{R}_1 &= (1 - \sigma)\beta_1 R_\emptyset I^1 - \beta_1 R_1 I^1 + (1 - \sigma)\beta_1 R_1 I^1 - \beta_2 R_1 I^2 - \mu R_1 \\
\dot{R}_2 &= (1 - \sigma)\beta_2 R_\emptyset I^2 - \beta_2 R_2 I^2 + (1 - \sigma)\beta_2 R_2 I^2 - \beta_1 R_2 I^1 - \mu R_2 \\
\dot{R}_{12} &= \sigma\beta_1 R_\emptyset I^1 + \sigma\beta_2 R_\emptyset I^2 + \sigma\beta_1 R_1 I^1 + \sigma\beta_2 R_2 I^2 + \beta_2 R_1 I^2 + \beta_1 R_2 I^1 - \mu R_{12} \\
\dot{I}^1 &= \beta_1 R_\emptyset I^1 + \beta_1 R_2 I^1 - \nu I^1 - \mu I^1 \\
\dot{I}^2 &= \beta_2 R_\emptyset I^2 + \beta_2 R_1 I^2 - \nu I^2 - \mu I^2
\end{aligned} \tag{2.2}$$

A precise derivation of (2.2) can be found in the appendix of Kryazhimskiy *et al.* (2007). This model can be further reduced to four equations by defining S_1 and S_2 as $S_1 = R_\emptyset + R_2$ and $S_2 = R_\emptyset + R_1$ respectively. This leads to a two-strain version of the model of Gog & Grenfell (2002).

History based model

In this framework, notations are changed to follow the infection history of the hosts. Hosts can be susceptible to both clusters (proportion SS), susceptible (or resistant) to one cluster and infectious with the other one (SI and IS , or RI and IR respectively), infectious with (or resistant to) both clusters (II or RR respectively) or susceptible to one cluster and resistant to the other one (SR and RS respectively).

When first immunised by one cluster, hosts can be less infectious when infected by the second cluster : the infectivity is modulated by the parameter s and the model is called the history based model with reduced infectivity ($HBRI$). Hosts can also have a reduced susceptibility towards the second cluster controlled by parameter x . The model is called the history based model with reduced susceptibility ($HBRS$).

This gives rise to the following equations (2.3), with $s, x \in [0, 1]$.

$$\begin{aligned}
\dot{S} &= \mu - \beta_1 SS(IS + sII + sIR) - \beta_2 SS(SI + sII + sRI) - \mu SS & (2.3) \\
\dot{I} &= \beta_1 SS(IS + sII + sIR) - \beta_2 xIS(SI + sII + sRI) - \nu IS - \mu IS \\
\dot{S} &= \beta_2 SS(SI + sII + sRI) - \beta_1 xSI(IS + sII + sIR) - \nu SI - \mu SI \\
\dot{I} &= \beta_2 xIS(SI + sII + sRI) + \beta_1 xSI(IS + sII + sIR) - \nu II - \nu II - \mu II \\
\dot{R} &= \nu IS - \beta_2 xRS(SI + sII + sRI) - \mu RS \\
\dot{S} &= \nu SI - \beta_1 xSR(IS + sII + sIR) - \mu SR \\
\dot{I} &= \nu II + \beta_1 xSR(IS + sII + sIR) - \nu IR - \mu IR \\
\dot{R} &= \nu II + \beta_2 xRS(SI + sII + sRI) - \nu RI - \mu RI \\
\dot{R} &= \nu IR + \nu RI - \mu RR
\end{aligned}$$

As noted by Kamo & Sasaki (2002), in the case of the RS assumption we can reduce the dimension of the system by introducing the following state variables : $I^1 = IS + II + IR$; $I^2 = SI + II + RI$; $R_\emptyset = SS$; $R_1 = IS + RS$ and $R_2 = SI + SR$.

Another assumption was used by Gupta *et al.* (1998). In Gupta *et al.* (1998) model, cross-protection does not affect susceptibility but reduces transmissibility by a factor s . Instead of reducing the infectivity of the hosts as for the previous $HBRI$ model (equation 2.3) , Gupta *et al.* (1998) model assumes that infection by a cross-reactive cluster of partially protected hosts results in a partition of the infected hosts into a proportion s of infectious hosts and a proportion $(1-s)$ of non infectious hosts that nevertheless become immunised to the infecting cluster. This assumptions lead to equation 2.4.

$$\begin{aligned}
\dot{S} &= \mu - \beta_1 SS(IS + II + IR) - \beta_2 SS(SI + II + RI) - \mu SS & (2.4) \\
\dot{I} &= \beta_1 SS(IS + II + IR) - \beta_2 IS(SI + II + RI) - \nu IS - \mu IS \\
\dot{S} &= \beta_2 SS(SI + II + RI) - \beta_1 SI(IS + II + IR) - \nu SI - \mu SI \\
\dot{I} &= s\beta_2 IS(SI + II + RI) + s\beta_1 SI(IS + II + IR) - \nu II - \mu II \\
\dot{R} &= \nu IS - \beta_2 RS(SI + II + RI) - \mu RS \\
\dot{S} &= \nu SI - \beta_1 SR(IS + II + IR) - \mu SR \\
\dot{I} &= \nu II + s\beta_1 SR(IS + II + IR) + (1-s)\beta_2 IS(SI + II + RI) - \nu IR - \mu IR \\
\dot{R} &= \nu II + s\beta_2 RS(SI + II + RI) + (1-s)\beta_1 SI(IS + II + IR) - \nu RI - \mu RI \\
\dot{R} &= \nu IR + \nu RI + (1-s)\beta_1 SR(IS + II + IR) + (1-s)\beta_2 RS(SI + II + RI) - \mu RR
\end{aligned}$$

As originally proposed by Gupta *et al.* (1998) the dimension of equation 2.4 model can be reduced by introducing : z_i the proportion of hosts infectious or immunised by cluster i (*e.g* $z_1 = IS + II + RS + IR + RI + RR$), w_i the proportion of hosts infectious or immunised by cross-reactive cluster with cluster i including cluster i itself (*e.g* $w_1 = IS + SI + II + RS + SR + IR + RI + RR$) and y_i the hosts infectious by cluster i (*e.g* $y_1 = IS + II + IR$). In case were the degree of protection against new infections is the same for all related strains, Gupta *et al.* (1998) model contains only three times more equation than strains. However, generalisation to several levels of cross-protection greatly increases the dimensionality (Minayev & Ferguson, 2009a,b). As the model in equation 2.4 and the *HBRI* model of equation 2.3 lead to similar results, we will only consider the latter one depicted by equation 2.3. Our analyses will thus concern four models : *SBRIS*, *SBRI*, *HBRS* and *HBRI* all summarised in figure 2.1.

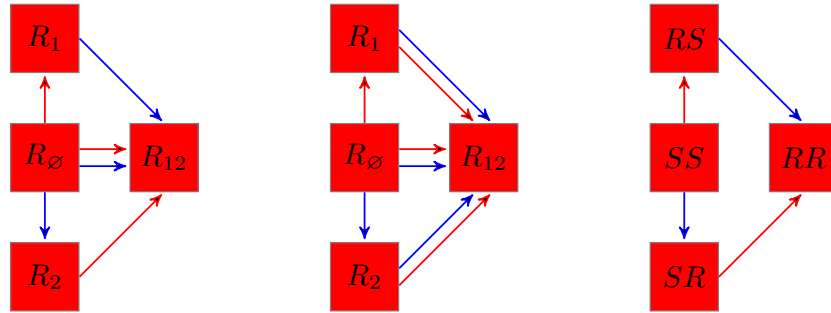


FIG. 2.1: *SBRS* (left), *SBRI* (middle) and *HB* (both *HBRS* and *HBRI*) (right) two antigenic-clusters models. Red (blue) arrows represent infection by antigenic cluster 1 (2). Only the *SBRI* model (middle) is subject to cross-immune boosting ($R_i \rightarrow R_{ij}$ following reinfection by strains of cluster i).

2.2.2 Stochastic models

We implemented stochastic versions of each of these four models (*SBRS*, *SBRI*, *HBRS* and *HBRI*) using Gillespie event-driven algorithm (Gillespie, 1977) and the MT19937 random number generator of Makoto Matsumoto and Takuji Nishimura provided by the C library GSL (Galassi *et al.*, 2003). For instance, for the *SBRI* model, the differential equation system (2.2) can be translated into the reaction scheme described in Supporting Information S1.

2.2.3 Parameter values

Two sets of parameters were used here. One consists of parameters mainly used in theoretical papers (*e.g.* Koelle *et al.* (2006); Ferguson *et al.* (2003); Gökaydin *et al.* (2007)) and the other consists of more direct estimates of parameters from household studies (*e.g.* Cauchemez *et al.* (2004); Lavenu *et al.* (2004); Ferguson *et al.* (2005)). They are all defined in Table 3.1. For comparison purpose, we have retained the parameters values of Koelle *et al.* (2006) and have provided a sensitivity analysis using the other set of parameters (results not shown). Parameters σ and x (or σ and s) can be related by $x = 1 - \sigma$ ($s = 1 - \sigma$ respectively). For the sake of simplicity, we refer to σ only and express x and s with respect to σ .

TAB. 2.1: Parameter values

Parameters	Theoretical	Empirical
μ (birth and death rate)	$1/70 \text{ years}^{-1}$ Gökaydin <i>et al.</i> (2007)	$1/70 \text{ years}^{-1}$ Gökaydin <i>et al.</i> (2007)
ν (recovery rate)	$1/8 \text{ days}^{-1}$ Koelle <i>et al.</i> (2006)	$1/2.77 \text{ days}^{-1}$ Lavenu <i>et al.</i> (2004)
R_0 ($\beta = R_0(\mu + \nu)$)	5 Koelle <i>et al.</i> (2006)	2.66 Lavenu <i>et al.</i> (2004)

The choice of appropriate values for σ was motivated by the significance of the process captured by the model. We are mainly interested in antigenic evolution occurring during epidemic influenza (whether it is *punctuated* or *gradual*). As we work at the phenotype level, our framework can also be used to study pandemic influenza and *antigenic shift* (appearance of new influenza subtypes within humans). The distinction between these three processes (gradual/punctuated antigenic drift and antigenic shift) is only based on the value of σ ($\sigma \in [0, 1]$) taken as a bifurcation parameters. Low σ values ($\sigma \rightarrow 0$) are related to *antigenic shift* and σ values close to 1 correspond to

antigenic drift, either gradual or punctuated. In order to separate punctuated from gradual antigenic drift, we use the scale given in Koelle *et al.* (2006) and consider that σ values under 0.93 are relevant for punctuated immune escape (typically 0.8), whereas higher values, closer to 1, are more appropriate for gradual antigenic drift. Note that comparable values were used in previous studies focusing on gradual antigenic drift (Gog & Grenfell, 2002; Ferguson *et al.*, 2003).

Defining the population size (N) is of tremendous importance when using stochastic models (Bartlett, 1957, 1960, 1964; Keeling & Grenfell, 1997; Nåsell, 2005). As we are mainly interested in replacement dynamics, we need to define a population size where the resident cluster can persist when alone in order to avoid confusion between different causes of replacement. According to our simulations (Supporting Information S1), we choose a population size of 10 million of individuals to ensure that resident extinctions are not due to endemic fadeout during the timescale considered (10 years, figure 2.2). This value is also used in the deterministic framework to fix a threshold (equal to $\frac{1}{N}$) below which we consider that extinctions occur. Note that this Critical Community Size (CCS) (Lloyd-Smith *et al.*, 2005) does not guarantee that the resident strain could have invaded the population and persist (Conlan & Grenfell, 2007).

2.3 Results

2.3.1 Invasion condition of the mutant cluster

We start our analysis by examining the dynamical impact of the four modelling assumptions (*SBRS*, *SBRI*, *HBRS* and *HBRI*) corresponding respectively to equations (2.1), (2.2) and (2.3)) thorough calculation of invasion conditions of the mutant cluster (labelled cluster 2) within the environment corresponding to the equilibrium of the resident cluster (labelled cluster 1).

For the *SB* models, in both *SBRI* and *SBRS* versions, the invasion condition can be deduced from :

$$\left. \frac{dI^2}{dt} \right|_{R_\emptyset^*, R_1^*} = (\beta_2 R_\emptyset^* + \beta_2 R_1^* - \nu - \mu) I^2, \quad (2.5)$$

where $R_\emptyset^*$ and R_1^* are equilibrium values of $R_\emptyset$ and R_1 when only cluster 1 is present. In both *SBRI* and *SBRS* models, $R_\emptyset^* = \frac{\mu + \nu}{\beta_1}$. For R_1^* , in the

SBRS model $R_1^{*rs} = (1 - \sigma) \left(1 - \frac{\mu + \nu}{\beta_1}\right)$ and $R_1^{*ri} = \frac{(1 - \sigma) \left(1 - \frac{\mu + \nu}{\beta_1}\right)}{\sigma \left(\frac{\beta_1}{\mu + \nu} - 1\right) + 1}$ in the *SBRI* model, that is $R_1^{*ri} = \frac{R_1^{*rs}}{\sigma \left(\frac{\beta_1}{\mu + \nu} - 1\right) + 1}$. If parameters are equal for the two antigenic clusters (that is $\beta_1 = \beta_2 = \beta$), equation (2.5) becomes :

$$\left. \frac{dI^2}{dt} \right|_{R_\emptyset^*, R_1^*} = \beta R_1^* I^2$$

The mutant can invade (*i.e.* $\left. \frac{dI^2}{dt} \right|_{R_\emptyset^*, R_1^*} > 0$) as long as $\sigma < 1$ provided that $R_0 = \frac{\beta}{\mu + \nu} > 1$. The invasion fitness of the *SBRI* model equals the one of the *SBRS* model divided by $\sigma \left(\frac{\beta}{\mu + \nu} - 1\right) + 1$. Depending on σ , the initial speed of invasion with the *RI* assumption can be greatly decreased. *RS* and *RI* assumptions are not without effects on the transient dynamics of antigenic clusters invasion in *SB* models.

In the *HB* framework, the previous approach is not feasible for the *HBRI* model. The basic reproduction ratio R_0 is calculated in this case as the dominant eigenvalue of the linear next generation operator (Diekmann & Heesterbeek, 2000). In both *HBRS* and *HBRI* models the dominant eigenvalue is :

$$R_0^{inv} = \frac{\beta_2 SS^* + \beta_2 sx RS^* + \beta_2 sx IS^*}{\mu + \nu}$$

. As for the *SB* cases, SS^* , IS^* and RS^* are equilibrium values of *SS*, *IS* and *RS* when only cluster 1 is present and are equal to $SS^* = \frac{\mu + \nu}{\beta_1}$, $IS^* = \frac{\mu}{\mu + \nu} - \frac{\mu}{\beta_1}$ and $RS^* = \frac{\nu}{\mu + \nu} - \frac{\nu}{\beta_1}$. If $\beta_1 = \beta_2$, the invasion is possible (*i.e.* $R_0^{inv} > 1$) as long as $sx > 0$ provided $R_0 = \frac{\beta}{\mu + \nu} > 1$. Contrary to the *SB* framework, in a two-cluster *HB* model, invasion fitness is the same in both *RS* and *RI* cases.

Table 2.2 provides a comparison of the R_0^{inv} for the four models considered and reveals that the *SBRI* model differs from the three others which possess the same R_0^{inv} . The *SBRI* model assumption appears to reduce the initial speed of invasion of the mutant cluster by a factor $\frac{1}{\sigma(R_0 - 1) + 1}$.

TAB. 2.2: Invasion R_0

model	R_0^{inv}
<i>SBRI</i>	$1 + (1 - \sigma)(R_0 - 1)/(\sigma(R_0 - 1) + 1)$
<i>SBRS</i>	$1 + (1 - \sigma)(R_0 - 1)$
<i>HBRI</i>	$1 + sx(R_0 - 1)$
<i>HBRS</i>	$1 + sx(R_0 - 1)$

Comparison between the four two-cluster models (equations (2.1), (2.2) and (2.3)) in terms of the basic reproduction ratio (R_0^{inv}) of the mutant cluster invading a resident population at endemic equilibrium.

2.3.2 Invasion and extinction

Deterministic framework

Figures 2.2, 2.3 and Supporting Information S1, illustrate a comparison of the effect of σ on the invasion dynamics of a new cluster (the resident being at endemic equilibrium) for the four two-cluster models studied with parameters set at theoretical values (Table 3.1). Figure 2.4 summarises the results of the transient dynamics of the mutant invasion in terms of clusters replacement considering a deterministic threshold of $\frac{1}{N} = 10^{-7}$ for extinction as determined by simulations summarized in Supporting Information S1.

For $\sigma \in [0.8, 0.93[$ (corresponding to Koelle *et al.* (2006) scale of rare immune escape mutations) in figures 2.2 and 2.4 antigenic cluster replacements are possible only for the *SBRI* model. The three other models exhibit extinction of both antigenic clusters. For $\sigma \rightarrow 1$ (corresponding to gradual antigenic drift) in figures 2.3 and 2.4 the *SBRI* model results in coexistence of both clusters contrary to the three other models which predict the replacement. For $\sigma \rightarrow 0$ (antigenic shifts) in figure 2.2 and 2.4 the resident influenza subtype is not sufficiently affected by the mutant subtype to go extinct and it survives while the mutant disappears after generating an outbreak. Note that smaller values of cross-immunity are sufficient for the *SBRI* model to drive the resident to extinction (figures 2.2 and 2.4).

In all cases, a proper rescaling of the *SBRI* model with lower σ values as suggested in Table 2.2 is needed to render it comparable to the three others models.

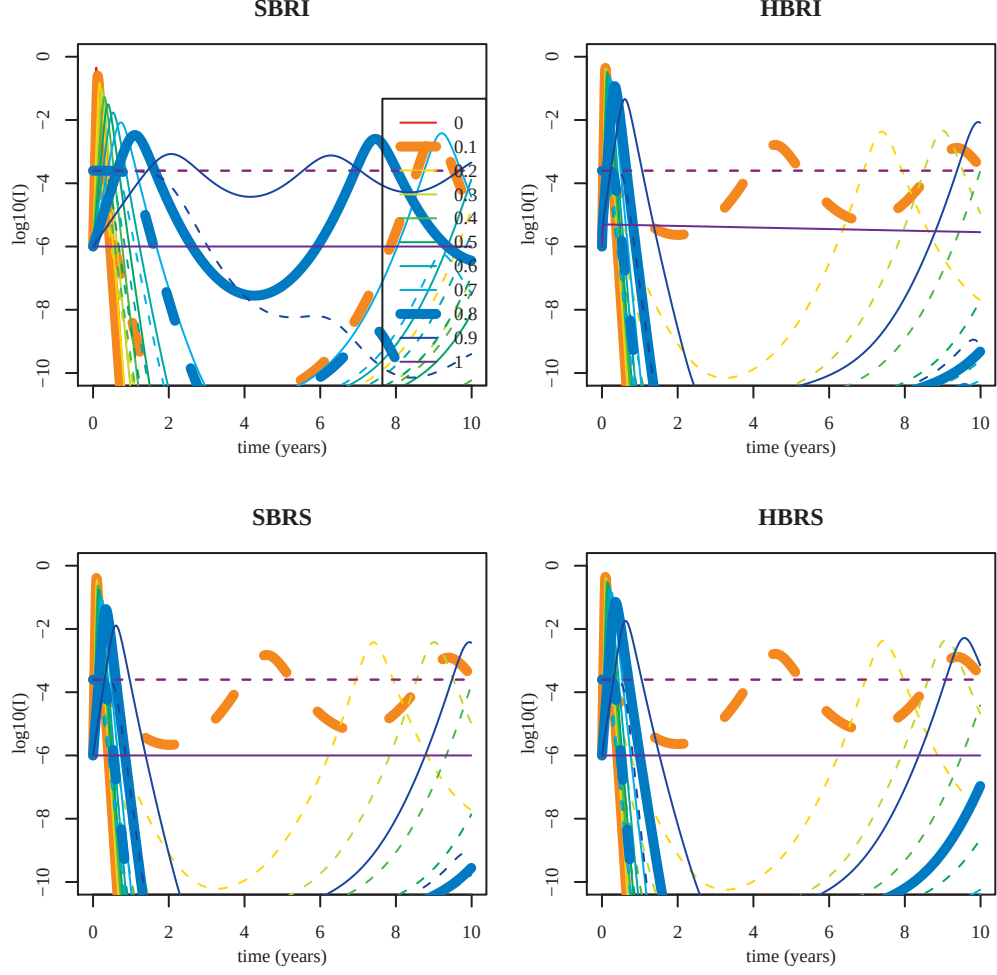


FIG. 2.2: Transient invasion dynamics for the four two-cluster models studied. The decimal logarithm of the proportion of infectious hosts for the mutant antigenic cluster (plain lines) and for the resident cluster (dashed lines) is represented as a function of σ . Colours correspond to different partial cross-immunity (σ) values : from $\sigma = 0$ (antigenic shift, no cross-immunity) to $\sigma = 1$ (antigenic drift, full cross-immunity). Parameter values are given in Table 3.1 (theoretical set). Initial conditions are : $I^1(0) = I^{1*} = 250.4 * 10^{-6}$, $I^2(0) = 10^{-6}$.

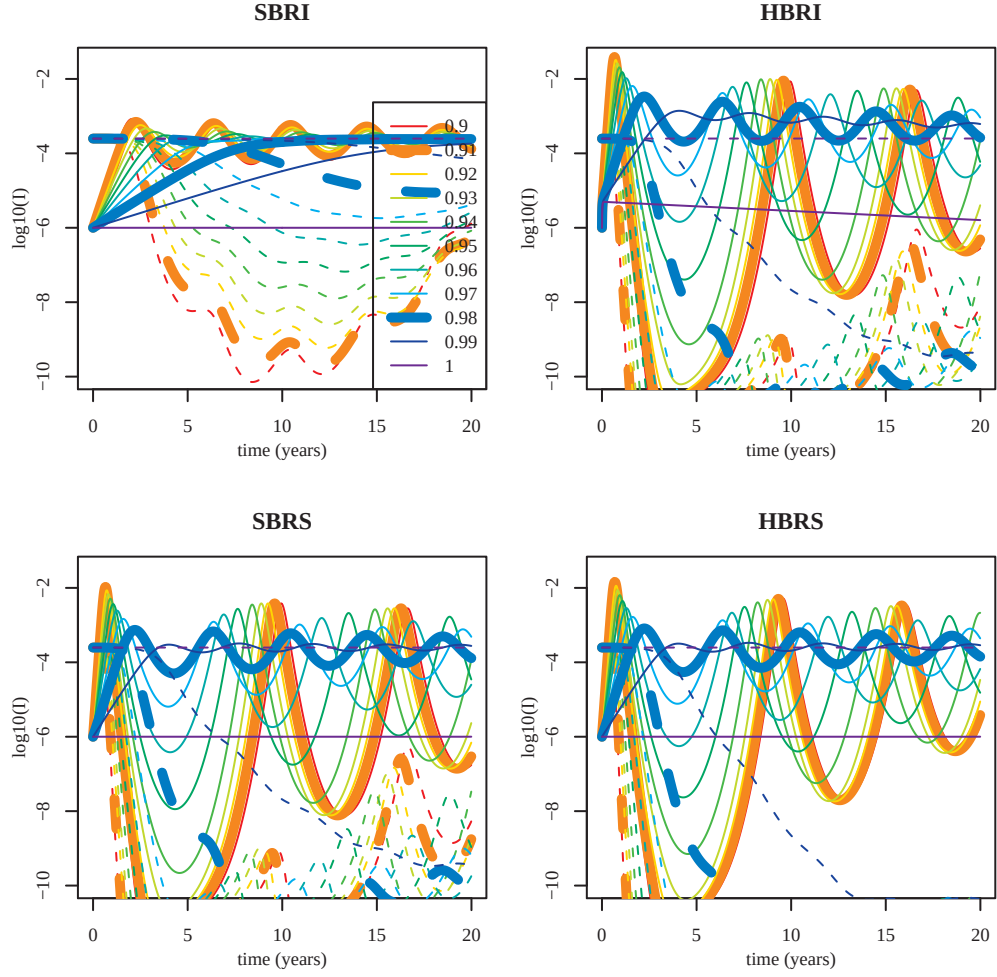


FIG. 2.3: Detail of figure 2.2. Partial cross-immunity (σ) values more relevant for gradual antigenic drift ($\sigma \in [0.9, 1]$).

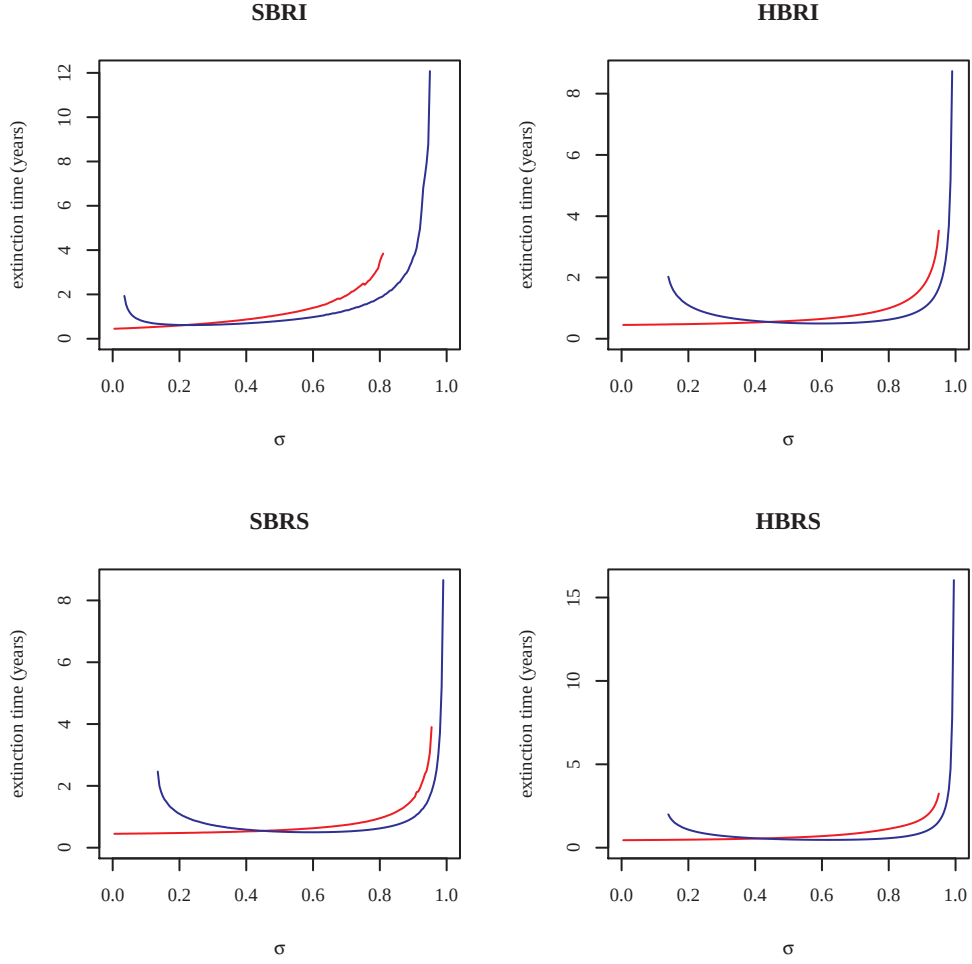


FIG. 2.4: Extinction times of the resident antigenic cluster (blue) and of the mutant cluster (red) for the four two-cluster models studied. Parameter values are given in Table 3.1 (theoretical set). Initial conditions are : $I^1(0) = I^{1*} = 250.4 * 10^{-6}$, $I^2(0) = 10^{-6}$.

Stochastic framework

Simulated trajectories corroborate the trends provided by deterministic models, especially the particularity of the *SBRI* model (figures 2.5, and Supporting Information S1).

The replacement of antigenic clusters following rare mutations with strong antigenic effect appears to be realistic only in the case of the *SBRI* model (figure 2.5, red bars and Supporting Information S1) for which a set of σ values consistent with punctuated immune escape variability exists. For these σ values ($\sigma \in [0.8, 1]$), a trade-off exists between invasion ability (that is risks of initial extinction) and risk of epidemic fade-outs (as described for the evolution of the recovery rate by Keeling (2000)). Figure 2.5 shows that the proportion of initial extinctions, previous to an epidemic caused by the mutant, decreases as long as the degree of immune escape ($1 - \sigma$) increases (blue colour in panel *SBRI* of figure 2.5). At the same time, the proportion of epidemic fade-outs after replacement increases (orange colour in panel *SBRI* of figure 2.5). Moreover, these results are consistent with formulas given in Table 2.2, since the probability of initial extinctions of the mutant cluster is given by $1/R_0^{inv}$ (Diekmann & Heesterbeek, 2000). For the *SBRI* model, this probability increases linearly with σ (figure 2.5 *SBRI*, blue bars) whereas for the three other models (panel *SBRI*, *HBRI* and *HBRS* of figure 2.5, blue bars), it remains uniformly lower and increases as $\frac{1}{R_0 + (1-\sigma)(1-R_0)}$ with σ .

The time necessary to drive the resident cluster to extinction is also a decreasing function of the immune escape intensity (red boxplot in panel *SBRI* of figure 2.5). For $\sigma \rightarrow 1$, transient coexistence (5 years) of both antigenic clusters is expected before definitive replacement.

Taken together, the previous results reveal that : (i) antigenic clusters replacement within a serial *SIR* model is possible only in the case of a *SBRI* model; (ii) antigenic shift results in the extinction of both subtypes (brown colour figure 2.5, trajectories in Supporting Information S1) or of the mutant only (blue colour figure 2.5).

2.3.3 External re-introductions

Modelling re-introduction

In the real world, populations are opened to migration and extinct clusters can be re-introduced. To complement our results we need to evaluate the timescales of re-invasion. In particular, we focus on : (i) the robustness of

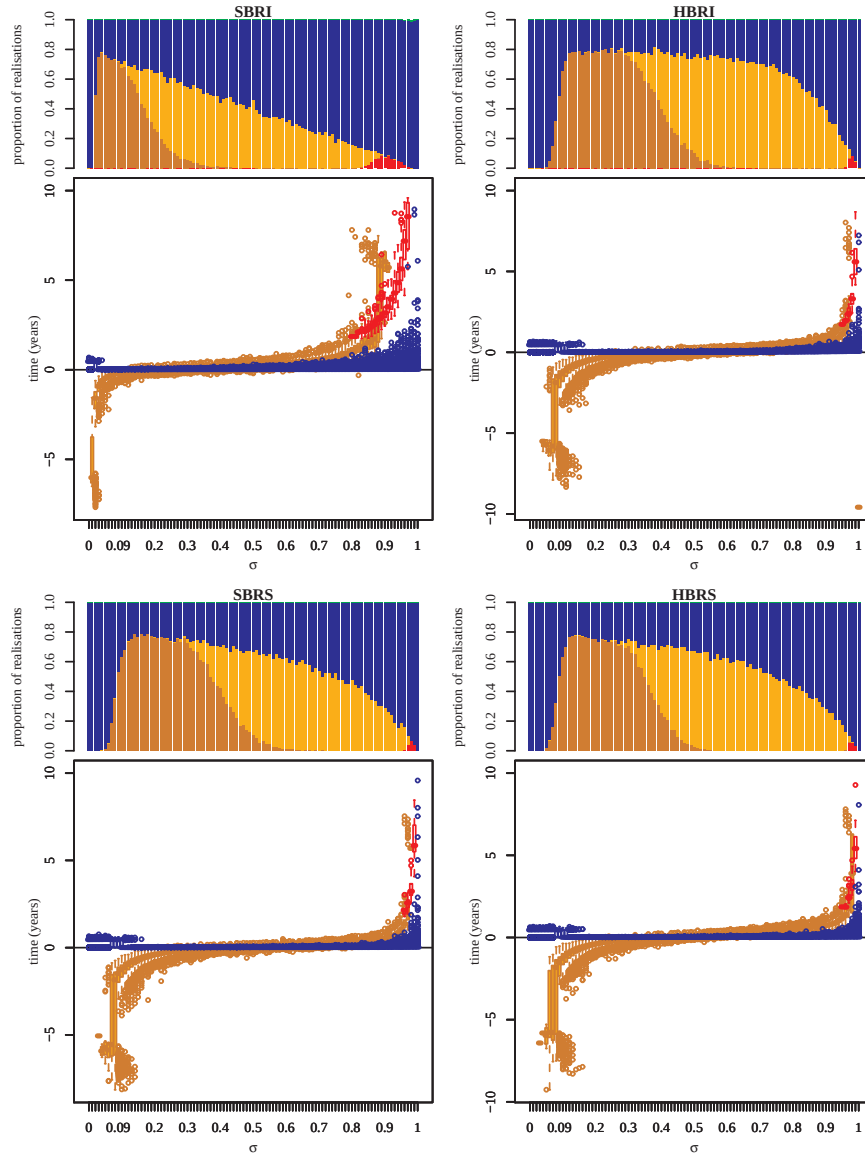


FIG. 2.5: Outcomes of the transient invasion dynamics based on 1000 realisations of the four two-cluster stochastic models. For each panel, top graphs represent the proportion of realisations where, after 10 years : both antigenic clusters go extinct, but the mutant goes extinct first (brown) ; both antigenic clusters go extinct, but the resident goes extinct first (aborted replacement, orange) ; the resident cluster only goes extinct (successful replacement, red) ; the mutant cluster only goes extinct (blue) ; no cluster goes extinct (coexistence, green). For each panel, bottom box plots represent : extinction times of the mutant cluster when only this cluster goes extinct (blue) ; extinction times of the resident cluster when only this cluster goes extinct (red) ; the differences between extinction times of the mutant cluster and the resident when both clusters go extinct (brown and orange). Initial conditions : one infected individual with the mutant antigenic cluster is introduced in a population where the resident cluster is at the deterministic endemic equilibrium. The remaining initial conditions are those corresponding to the endemic equilibrium of the deterministic model and parameter values are given in Table 3.1 (theoretical set).

the replacement (i.e. is the resident able to re-establish in the population due to spatial effects of re-introduction?); (ii) which cluster re-invades first when both are extinct quasi simultaneously.

Except for initial extinctions, the observed extinctions are mostly due to deterministic forces of susceptibles depletion and not to random fluctuations of trajectories evolving close to one individual (low variances in the box plots of figure 2.5). Incidentally, the opportunity of a second epidemic after an epidemic fadeout for the mutant cluster or, the opportunity of re-invasion of the resident cluster after having been extinct due to the invasion of the mutant cluster are mostly governed by the deterministic dynamics of susceptibles renewal (Olinky *et al.*, 2008).

We will thus use deterministic models to compute the average time necessary before a recurrent epidemic. A simple way to do this is to consider a constant amount of infectious individuals entering the population studied. Classically (*e.g.* Bjornstad *et al.* (2002); Keeling & Grenfell (2002)) the following scheme has been used :

$$\dot{I}_i = \beta(t)S_i(I_i + mp_i) + \dots,$$

where m is the number of infected individuals imported from outside (generally $m \sim N^{-1}$) and p_i is the proportion of these immigrating hosts infected with strain i . Note that we do not consider infecteds from outer regions in the bookkeeping of I_i .

From Supporting Information S1 we can see that the overall pattern of transient dynamics is not affected by the modelling of external re-introductions.

2.3.4 Re-invasion time-scales

Figure 2.6 reveals that for σ values relevant for punctuated antigenic drift ($\sigma \rightarrow 1$), successful replacements are robust to the re-introduction of the resident antigenic cluster (*i.e.* the re-introduction of the resident cluster does not lead to an epidemic). In the case of replacements where both clusters go extinct (the resident being extinct before the mutant) the mutant cluster re-invades first. This underlines the fact that we face a replacement. The time until the next epidemic is nevertheless unrealistically high (> 5 years) to be consistent with observed patterns of influenza yearly recurrence in the absence of antigenic cluster changes.

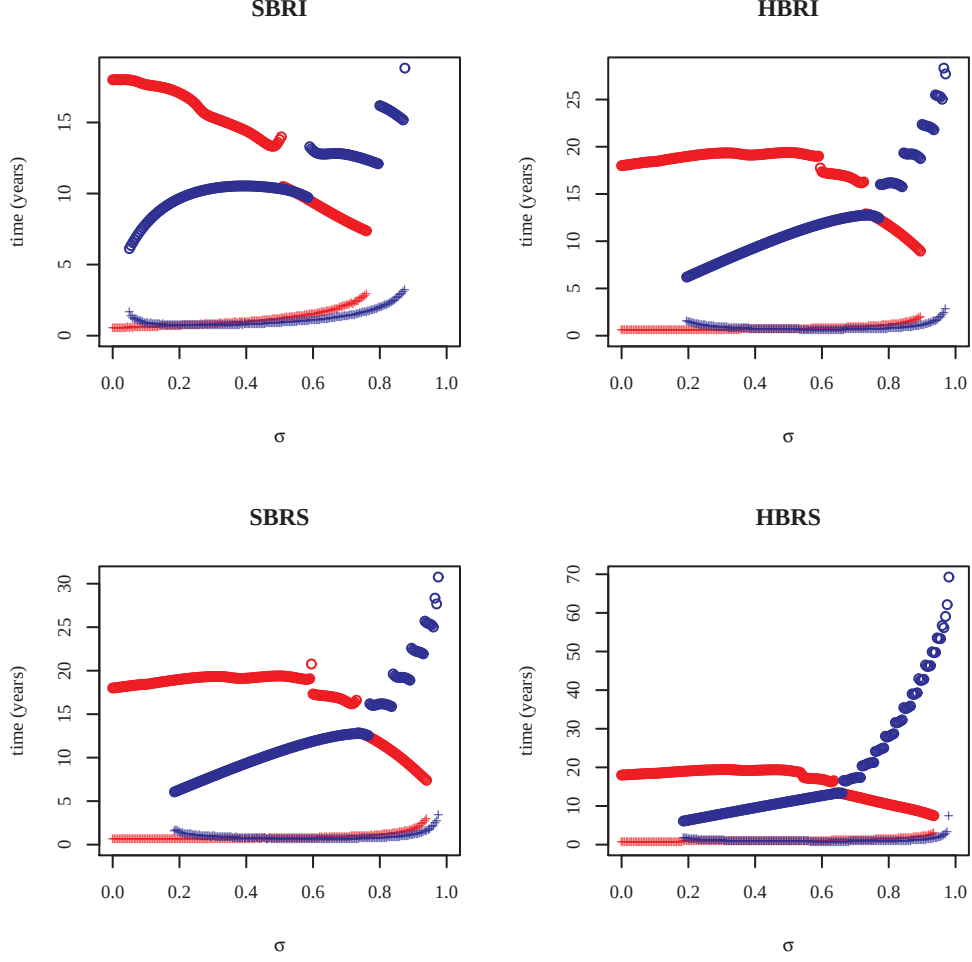


FIG. 2.6: Extinction and re-invasion times for the four two-cluster models in the presence of external reintroductions of infectious hosts. (+) represent times when a deterministic threshold (equal to 10^{-7}) for extinction is crossed by the trajectories for the resident cluster (blue) and the mutant (red); (o) correspond to times of the first peak after extinction for the resident cluster (blue) and times of the second peak of the mutant cluster (red). Parameter values are given in Table 3.1 (theoretical set), $mp_i = 10^{-8}$. Initial conditions are : $I^1(0) = I^{1*} = 250.4 * 10^{-6}$, $I^2(0) = 10^{-6}$

For antigenic shifts ($\sigma \rightarrow 0$), when both clusters go extinct, timescales for a recurrent epidemic are also too long to be relevant (re-invasion time > 10 years, figure 2.6). In the case where the invader is able to drive the resident to extinction (that is for the *SBRI* model), replacements are not robust to external re-introduction. The former resident re-appears more than 10 years before the invader.

2.4 Discussion

Punctuated antigenic evolution is being recognised as an important mechanism of immune escape in various RNA viruses, but its detection remains difficult and somewhat uncertain (Cobey & Koelle, 2008). In this paper we have focused on exploring to what extent the complex processes shaping influenza dynamics can be approximated by a minimal serial *SIR* system, emphasising rare mutations with strong antigenic effects. According to our results (figure 2.2, 2.3), punctuated immune escape results in a high depletion of susceptibles in *SBRS*, *HBRS* and *HBRI* models. As a consequence, recurrent epidemics during consecutive years are rendered impossible even with reintroductions. However, data clearly suggest that several recurrent epidemics of the same new mutant cluster can follow the replacement of the resident cluster by the new one. For instance, following its invasion, Beijing/1993 (BE93) cluster has provoked epidemics of 1992-1993, 1993-1994, 1994-1995 and 1995-1996 seasons in New York state before being replaced by Wuhan/1995 (WU95)-like viruses (Rambaut *et al.*, 2008). Such dynamics can only be reproduced by the *SBRI* model because it produces comparatively slower invasion dynamics and fewer susceptible depletion. A minimal serial *SIR* theory is thus supported only within the *SBRI* framework.

In the following, we review the processes that makes the *SBRI* model different from *HB* or *SB* models with *RI* assumption. We then provide elements pointing out that these processes direct towards a biologically problematic description of cross-immunity. Finally, we provide arguments supporting the idea already evoked by Koelle *et al.* (2006) that a sequential *SIR* model requires within antigenic cluster gradual antigenic drift and that this process should be part of a minimal theory for influenza dynamics at the population level.

2.4.1 Is the *SBRI* model particularly appropriate ?

One of the important aspects of influenza dynamics is the cross-immunity represented here by the parameter σ which measures the antigenic distance between two strains, regardless of the modelling framework. Here, the range of variation of σ was the same for the four models and was chosen according to Koelle *et al.* (2006). This allowed direct comparison between the four models.

Our results reveal that the similar dynamics are generated for significantly

higher values of σ in the case of the *SBRI* model than for the other three models (Table 2.2). This difference in behaviour is due to the fact that in the *SBRI* model, individuals that have been infected with cluster i can be reinfected by the same cluster. These reinfected hosts will not be infectious (because of the *RI* assumption) but may enhance their immunity to cluster j (figure 2.1, middle). In equation (2.2) repeated infections corresponds to the terms $-\beta_i R_i I^i$. σ percent of these hosts acquire immunity to strain j , progressing to the R_{ij} status whereas the remaining $(1 - \sigma)\beta_i R_i I^i$ hosts keep the R_i status. As noted by Kryazhimskiy *et al.* (2007), such cross-immune enhancement is impossible in the *SBRS* model because by construction of this latter model R_i hosts are no more susceptible to cluster i and cannot be reinfected.

In the context of influenza, cross-immune enhancement as provided by the *SBRI* model appears to contradict established theory for immunodominance, cross-reactivity and interference (see Frank (2002) for a review). For sequential infections, a key question is to determine whether a new infecting strain is sufficiently different from a previously encountered strain to consider that a new primary response would be mounted by the immune system instead of a secondary response. In our model, we considered that independent primary responses were mounted for the different antigenic clusters. Strains belonging to cluster j , were supposed sufficiently different from strains belonging to cluster i not to interact with memory cells supporting immunity toward strains of cluster i . The reinfection then results in the production of R_{ij} hosts in both *SBRS* and *SBRI* models. For the case of reinfection of R_i hosts with closely related strains belonging to cluster i (possible only for the *SBRI* model), one can reasonably assumes that such strains are sufficiently closed to interact with the memory cells (otherwise they would belong to cluster j). In this case, according to Frank (2002), we can expect a sequential effect called original antigenic sin, well known for influenza Francis (1953); de St Groth & Webster (1966a); Janeway *et al.* (1999). Within original antigenic sin, a strong response against a previously recognised epitope represses the response against the changed epitope. As the *SBRI* model assumes a strong and immediate response toward the previous epitope (hosts reinfected with a virus from an identical cluster are no longer infectious), the rapid response from memory cells may keep viral load below the threshold required to stimulate naive B or T cells (other processes are also possible (Janeway *et al.*, 1999)).

Given these mechanisms, the cross-immune enhancement provided by the

SBRI model should be considered as an overestimation bias of immunity and proper rescaling of σ should be done before using the *SBRI* model in the context of influenza.

2.4.2 Toward a minimal theory for influenza

Except for the biologically problematic *SBRI* model, our results stress that the occurrence of new antigenic clusters resulting from immune escape mutations rapidly induces important depletion of susceptibles. This depletion results in an extinction of the invading antigenic cluster and this phenomenon is robust to reintroductions (figure 2.2, 2.3 and 2.6). Thereafter, we propose processes that can favour the replacement of the resident by the mutant as observed in data.

Gradual antigenic drift within antigenic clusters

Gökaydin *et al.* (2007), have considered a model that incorporates gradual antigenic drift within antigenic clusters. They have assumed that within cluster evolution results in a diversity of strains that renders immunity to an antigenic cluster only partial. Partial immunity has been modelled by a *SIRI* model Gomes *et al.* (2004b), allowing reinfection at a slower rate. Gökaydin *et al.* (2007) have shown that reinfections define a reinfection threshold Gomes *et al.* (2004b, 2005) that plays a central role in determining the outcome of the invasion by a new antigenic cluster. Reinfection determined by gradual antigenic drift therefore appears to be central for successful antigenic cluster replacement as observed in data. Contrary to Gökaydin *et al.* (2007) claims that no antigenic cluster replacement can occur within *SIR* models, we have shown that this could be the case with *SBRI* models. However, since the *SBRI* model is biologically problematic, it still remains to be tested whether *SIRI* or *SIRS* models would best describe drifting antigenic cluster.

Contrary to the *SIRI* model which assumes that strains diversity within a given antigenic cluster results in partial immunity, the *SIRS* model considers that within antigenic clusters evolution results in a progressive loss of immunity (Pease, 1987). Our investigation of the transient dynamics of drifting cross-reactive clusters modelled by *SIRS* models as described in figure 2.7 and section 4 of Supporting Information S1 reveals that small amount of gradual antigenic drift can favour antigenic replacement over epidemic fadeout

(figure 2.8 and Supporting Information S1). Within cluster gradual antigenic drift, whether included in *SIRS* or *SIRI* models can therefore turn epidemics fadeout of the mutant cluster into a successful replacement.

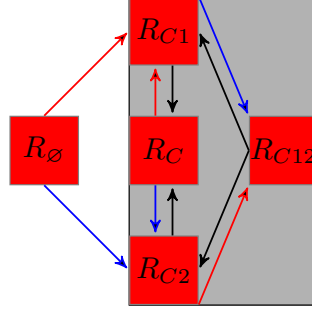


FIG. 2.7: An history based model for drifting co-circulating cross-reactive antigenic clusters. The viruses are supposed to contain two antigens : a conserved antigen, shared by strains of the resident and the mutant antigenic cluster and a specific antigen, specifying each cluster. Naive hosts acquire immunity to both conserved and specific part (R_{Ci}) resulting in full protection toward strains of cluster i . Within cluster antigenic drift affects only the specific antigen resulting in $R_{Ci} \rightarrow R_C$ transitions at a rate governed by parameter γ . The shared conserved antigen confers partial protection reducing the probability of reinfection by a factor $1 - \sigma$. Red (blue) arrows represent infection by cluster 1 (2). Black arrows represent within cluster antigenic evolution. A full description of the assumptions leading to this model is provided in section 4 of Supporting Information S1. These hypotheses also enable to recover the model of Gökaydin *et al.* (2007) and therefore render the two frameworks (*SIRI* and *SIRS* within cluster antigenic drift description) readily comparable.

Introducing gradual antigenic drift in a minimal model for influenza also allows to reduce the high critical community size needed to ensure the persistence of a resident antigenic cluster. A small rate of gradual antigenic drift have a dramatic effect on the CCS of a resident antigenic cluster reducing the CCS from 10 millions to 1-2 millions (Supporting Information S1). CCS closer to one million renders stochastic effect (such as noise induced temporal asynchrony (Kamo & Sasaki, 2002)) important to consider as they could potentially facilitate coexistence.

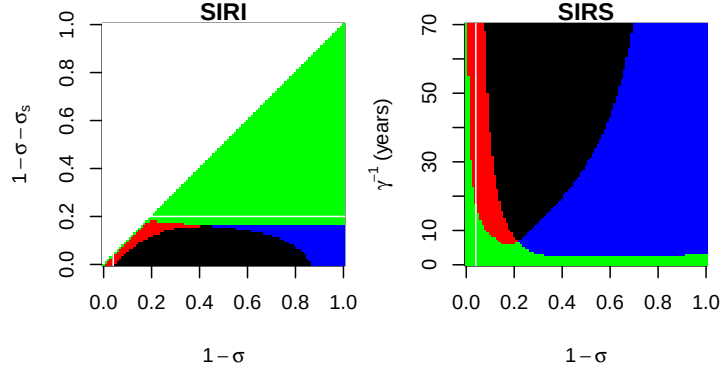


FIG. 2.8: Effect of the introduction of within cluster gradual antigenic drift on the outcome of the invasion of a new antigenic cluster. Comparison of the *SIRS* model (right) described in figure 2.7 and Supporting Information S1 with the *SIRS* model of Gökyaydin *et al.* (2007) (left). x-axis scale the amount of immune escape achieved by the mutant antigenic cluster. y-axis represent a measure of within cluster antigenic drift (see Supporting Information S1 for details). Colours : both antigenic clusters go extinct (black), the resident cluster only goes extinct (successful replacement, red) ; the mutant cluster only goes extinct (blue) ; no cluster goes extinct (coexistence, green). Extinction threshold is set at $N = 10^{-7}$. Parameter values are given in Table 3.1 (theoretical set). The horizontal white lines of the left graphs situates the reinfections thresholds of the *SIRS* models ($1 - \sigma - \sigma_s = \frac{1}{R_0}$). The vertical white lines set the highest immune escape intensity ($1 - \sigma$) for which the same model without within cluster antigenic drift predicts replacements.

These theoretical results corroborate Finkenstädt *et al.* (2005), Shih *et al.* (2007) and Suzuki (2008) analysis of antigenic drift at the population level. Finkenstädt *et al.* (2005) have estimated baseline antigenic drift rate from influenza like illness data using a model allowing sudden discrete changes and have shown that it was significantly different from zero. Shih *et al.* (2007), using a method with a higher power of detection of positive selection than previous studies, have shown that within antigenic cluster change could be more important than traditionally (*e.g.* Wolf *et al.* (2006)) believed.

Gradual antigenic drift should thus be part of a minimal model for influenza A along with punctuated immune escape.

Functional constraints

Functional constraints are well established for influenza A (Rambaut *et al.*, 2008; Gog, 2008; Du *et al.*, 2008). For instance, it has been established that cooperative activities of both HA and NA are critical for influenza virus infection and release (Wagner *et al.*, 2002). Functional constraints can induce a fitness cost associated to an antigenic escape mutation. Lower fitness of the mutant cluster could be beneficial for the replacement dynamics as by decreasing the strength of the initial invasion, functional constraints could also decrease the risk of epidemic fadeout and long refractory periods that follow high depletion of susceptibles. A simple way to handle functional constraints is to consider a relation between the mutant cluster transmission rates (β_{mut}) and its ability to escape previous immunity (governed by σ). Without loss of generality, functional constraint can be introduced by lowering β_{mut} (assuming $\beta_{mut} = \alpha\beta_{res}$ with $\frac{1}{R_0^{res}} \leq \alpha \leq 1$) to ensure that $1 \leq R_0^{mut} \leq R_0^{res}$. Using section Results results we can calculate the threshold value of σ , equal to σ^* , necessary for the antigenic cluster invasion. In case of both *HB* and *SBRS* models, the threshold is defined by $\sigma < \frac{\alpha R_0^{res} - 1}{\alpha(R_0^{res} - 1)}$. Functional constraints can explain why immune escape mutations do not generate unrealistic high epidemics (Supporting Information S1). To compare our results to Koelle *et al.* (2006) model, we have neglected such constraint but they should be considered in further investigations. Such inclusion would need to incorporate compensatory mutations (Du *et al.*, 2008) to restore original function and re-increase the impaired β_{mut} .

Multiple infections before acquiring immunity

As we have shown through simulations (figures 2.2, 2.4 and 2.5), subtype replacement (as a consequence of antigenic shifts) appears impossible except in the case of the questionable *SBRI* model. This is contrary to what have been observed during previous 1957's Asian flu and 1968's Hong Kong flu pandemics (Earn *et al.*, 2000). This lack of realism was reported by Ferguson *et al.* (2003) in case of history based models and had been partially solved by including temporary cross-immunity (Webster *et al.*, 1992). However, other proposals that temporary cross-immunity could also be relevant. For instance, by using data of the first introduction of H3N2 type A influenza on the island of Tristan da Cunha in 1971, Mathews *et al.* (2007) show that two epidemics separated by 20 days only have affected the population and most of the hosts have been infected twice. This is different from the conventional knowledge of influenza immunology and suggests that multiple infection could be necessary before developing long term immunity. This creates far more susceptible individuals than expected from our models and greatly favours the persistence of the new subtype. It remains to be tested whether the persistence of the new subtype is sufficient to drive the resident subtype to extinction. Concerning epidemic influenza, the need to incorporate multiple infection before the acquisition of immunity deserves further attention.

As a last point, Recker *et al.* (2007) have reopened a theory on influenza antigenic evolution dominant in 1960 (Francis, 1960). Within this theory, the virus population is characterised by a limited set of antigenic types, all of which may be continuously (re-)generated from preexisting strains. Recker *et al.* (2007) have shown that sampling from a population where a limited set of antigenic types describe complex dynamics can reproduce the specific patterns of antigenic cluster succession revealed by Smith *et al.* (2004) analysis. This view offers an alternative explanation to the sequential antigenic drift scenario examined in this paper. Recent data, analysed by phylogenetic and coalescent based approaches, strongly suggest that influenza A dynamics is part of a source-sink system where the source could be a reservoir of a limited set of antigenic types (Alonso *et al.*, 2007b; Nelson *et al.*, 2007; Holmes *et al.*, 2005; Nelson *et al.*, 2006; Viboud *et al.*,

2006a; Rambaut *et al.*, 2008; Russell *et al.*, 2008). However, it remains to be seen to what extent restriction of viral genetic diversity could be achieved by Recker *et al.* (2007) model. This model strongly depends on antigenic recycling to justify the low dimensionality of the phenotype space, but antigenic recycling does not seem to be supported by current data (Minayev & Ferguson, 2009a,b).

In conclusion, our findings finally suggest the importance of gradual antigenic drift for epidemic dynamics even in the presence of punctuated immune escape. Our results indicate that status based model with reduced infectivity assumption can have profound consequences on the transient dynamics of strains invasion. In case of influenza, this model should be used with caution as it includes biologically unsupported processes that can induce serious bias.

2.5 Acknowledgments

The authors are grateful to Mercedes Pascual for helpful discussions.

Chapitre 3

Chaotic but regular recurrent influenza epidemics : from theory to observation

Sébastien Ballesteros^{1,*}, Lewi Stone², Anton Camacho¹, Elisabeta Vergu³, Bernard Cazelles^{1,4}

¹UMR 7625 (UPMC, ENS, AgroParisTech, CNRS), Ecole Normale Supérieure, Unit of Eco-Evolutionary Mathematics, 46 rue d'Ulm, F-75230 Paris Cedex 05, France.

²Biomathematics Unit, Faculty of Life Sciences, Tel Aviv University, Ramat Aviv 69978, Israel

³INRA, UR341 Mathématiques et Informatique Appliquées, F-78352 Jouy en Josas, France

⁴ UMMISCO UMI 209 IRD-UPMC, F-93142 Bondy, France.

**Corresponding author :*

E-mail : sebastien.ballesteros@biologie.ens.fr

Abstract

Human Influenza epidemics in temperate areas are characterised by a relatively constant phase (despite influenza type or subtype alternates) and highly variable amplitude. Influenza epidemics peaks variability is currently explained by punctuated evolution of influenza main antigen, higher peaks reflecting higher antigenic changes. We seek to determine to what extent gradual antigenic drift alone (without perturbations induced by rare mutations with strong antigenic effects) and therefore non-linear dynamics by itself can induce Uniform Phase and Chaotic Amplitude (UPCA) dynamics. We present a minimal model taking into account key processes of influenza epidemiology and evolution. We show that this model presents UPCA dynamics for a wide range of parameter value relevant for influenza A. We then confirm the presence of UPCA dynamics in real data and illustrate their robustness on a worldwide metapopulation model including age structure, credible immigration rates and realistic infectious time distribution. Finally, we argue that chaotic dynamics with uniform phase should be the baseline scenario to consider when trying to interpret influenza epidemics size variability. Influenza UPCA dynamics therefore sets fundamental limits to the predictability of future epidemics sizes in addition to evolutionary contingency.

Keywords :

Influenza, Gradual Antigenic Drift, Chaos, UPCA Dynamics, State-Space Model, Particle Filter.

3.1 Introduction

Interpandemic human influenza occurs annually in most temperate climatic zones of the world with epidemics that peak in the cold winter months. These outbreaks have been documented in the scientific literature in records that extend back to at least 1650 (Potter, 2001), making it an exceptional example of a persisting recurrent disease. Being a respiratory infection, and highly infective at that, influenza spreads from person to person in the form of virus aerosol particles, and has the ability to propagate rapidly through human populations. Average epidemics may have attack rates of the order of 10-20 % in cities but in certain susceptible populations (school-children, nursing homes) the proportion of infecteds may reach 40-50 % of the population

(Cox & Subbarao, 2000). Influenza is thus a source of considerable human morbidity and mortality, reaching some 250,000 to 500,000 deaths per year globally, and clearly exacting a large overall economic toll on society.

There is still much controversy in identifying the seasonal drivers that generate annual influenza oscillations, and the processes that give rise to their large variability (Finkelman *et al.*, 2007). These are in fact outstanding problems of influenza research today, and are addressed in detail from a modeling perspective here. As is well known from the many studies of childhood infectious diseases, a necessary requirement for the generation of recurrent epidemics is a sufficient and continuous source of new susceptible individuals arising in the population; enough to fuel each new outbreak. In the classical 1977 experiments of Potter *et al.* (1977) and Gill & Murphy (1977), it was established that although hosts infected with influenza gain immunity, ultimately they may become susceptible once again and reinfected due to the rapidly evolving nature of the influenza virus. Positive selection exerted by the host immune system, leads to a continual antigenic drift of the influenza virus's glycoproteins, particularly the main antigen hemagglutinin (HA), thus allowing the virus to eventually evade the immune system. The process of antigenic drift thereby creates an important renewed source of susceptible individuals. Evolutionary forces are thus considered to be of tremendous importance in shaping complex recurrent patterns of infectious diseases (Cobey & Koelle, 2008), and are the reasons why influenza is regarded as “an invariable disease caused by a variable virus” (Potter, 2001).

Recently, new theoretical developments along with recent data, analyzed by phylogenetic and coalescent based approaches (Smith *et al.*, 2004; Koelle *et al.*, 2006; Wolf *et al.*, 2006; Rambaut *et al.*, 2008) have revealed that the evolution of influenza A H3N2 main antigen (HA) is punctuated with discrete antigenic clusters jumps. Epochal evolution, materialised by sudden change of pathogens either due to mutations or re-assortments can have large epidemiological impacts. Punctuated immune escape therefore offers an intuitive explanation to the time series of Human Influenza epidemics in temperate areas. Within the scope of epochal evolution higher peaks can reflect higher antigenic changes (Koelle *et al.*, 2006).

The recent emphasis on punctuated immune escape has been the source of important discussions with some authors rejecting epochal evolution in favour of a more gradual immune escape pattern (Shih *et al.*, 2007; Suzuki, 2008; Ballesteros *et al.*, 2009). In this paper we add new arguments to the debate by focusing on the information that can be inferred from influenza

incidence time series at the population level. We seek to contrast “an extrinsic view” (Cobey & Koelle, 2008) of influenza dynamics where antigenic cluster transitions induce epidemic amplitude variability and higher peaks reflect larger antigenic changes, with “an intrinsic view” of purely gradual evolution where epidemic size variability can only result from the internal nonlinear dynamics of the system.

Our modeling effort focuses on the dynamics of influenza A, given that of the different influenza types, A contributes most to human disease burden. We begin by formulating a minimal mathematical model that characterizes its dynamics as having Uniform Phase, or regular periodicity in rhythm, together with epidemic peaks having irregular Chaotic Amplitudes; a phenomenon referred to here in short as UPCA. We confront our modeling results with time series data and argue that UPCA dynamics should be the baseline scenario to consider when trying to interpret the complex population dynamics of recurrent influenza epidemics. As seen in Figure 3.1, long-term influenza time series from both France and Israel make evident that the UPCA dynamics are a characteristic feature. To our knowledge, no previous deterministic modeling attempts of single or multi-strain dynamics have been able to reproduce the fundamental characteristics of UPCA which are inherent in many observed influenza time series. These findings around the nonlinear nature of the mechanisms of transmission highlight that in addition to evolutionary contingency, diseases as influenza have fundamental limits to the predictability of future epidemic sizes.

3.2 Theory

3.2.1 A minimal model for influenza A

We consider a minimal model that takes into account three key processes of influenza dynamics in temperate areas : seasonal forcing, external reintroductions and antigenic drift (Nelson & Holmes, 2007).

The importance of the role of seasonal forcing has long been acknowledged and is best observed by comparing influenza seasonal patterns along a latitude gradient : the seasonal patterns range from marked seasonal winter activity centred around January in the Northern hemisphere, to uniform circulation throughout the year in the Tropics and again, strong winter epidemics center around July in the Southern hemisphere (Viboud *et al.*, 2006a).

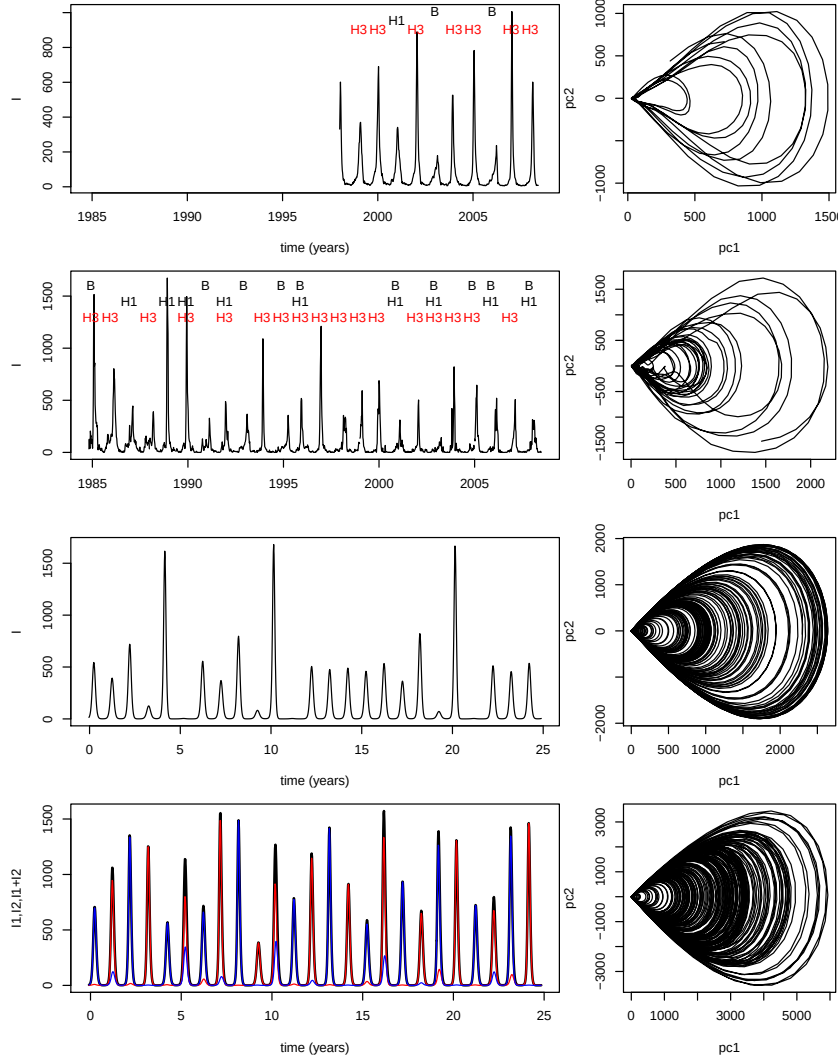


FIG. 3.1: Weekly incidence rates for Influenza Like Illness per 100 000 hosts in Israel (first line) and Ile de France (French administrative region including Paris and its surrounding area; second line). Data from Israel have been corrected to take into account a reporting rate of $1/3$. Other lines : Typical weekly incidence rate simulated with the deterministic single subtype *SIRS* model (third line) and the deterministic two-subtype model (fourth line). Right graphs are phase state representation (after a principal component analysis) with embedding realised by the method of delay where $pc1$ and $pc2$ are the two first components. Parameters : third line : maximum likelihood estimate for Ile de France ($R_0 = 1.65$, $1/\nu = 2.47$ days $^{-1}$, $e = 0.104$) with $1/g = 7$ years $^{-1}$ and $\eta = 10^{-6.7}$; fourth lines : theoretical parameter set with $e = 0.35$, $1/g = 15$ years $^{-1}$, $1/q = 6$ months $^{-1}$ and $\eta = 10^{-6}$. Additional trajectories are provided in Supporting Information.

Climatic triggers appear to be involved (Alonso *et al.*, 2007b) and influenza transmission has been reported to be controlled by absolute humidity (Shaman & Kohn, 2009). However, a precise understanding of what drives seasonal influenza trends has not yet been achieved (Lipsitch & Viboud, 2009). A further complication may be linked to the fact that although seasonality may appear to dominate, its intensity might not necessarily be strong if there is dynamical resonance as speculated in Dushoff *et al.* (2004).

Related to the seasonal patterns of influenza, recent developments made possible through the availability of large genetic data sets, have revealed that global influenza is a source-sink system, with the tropics constantly reseeding the temperate areas (Rambaut *et al.*, 2008; Russell *et al.*, 2008). The antigenic change observed in temperate populations seems to be a secondary effect of strong selection within, and largely unidirectional flow from the source population where sustainable year long transmissibility favours successful antigenic changes. This advance renders migration and re-introduction of influenza key processes to consider when studying the dynamics of influenza across seasons in temperate areas.

As already mentioned, the punctuated versus gradual nature of antigenic drift is currently highly controversial (Ballesteros *et al.*, 2009). Previous studies have derived estimates of the rate of antigenic drift. Potter *et al.* (1977) found that the probability of reinfection increases linearly with time since last infection due to an average antigenic drift rate estimated to be $1/19.5$ years⁻¹ (Pease, 1987). Statistical inference methods, as used in Finkenstädt *et al.* (2005), have resulted in estimates of the gradual component equal to $1/13$ years⁻¹ with a model accounting only for purely gradual antigenic drift and to $1/23.3$ years⁻¹ in a model that allows for punctuated evolution and discrete antigenic change.

Taking into account these three key processes results in the model of equation (3.1), schematically described in Fig. 3.2 and detailed in Methods.

The first model with a single sub-type can be easily generalized for many co-circulating subtypes assuming that subtypes only interact via a temporary period of full cross-immunity as suggested by Webster *et al.* (1992). Such a model with two subtypes, representing for instance the co-circulation of H3N2 and H1N1 influenza A subtypes as has been the case since 1977 (Earn *et al.*, 2002), was analyzed (see Methods and Supporting information).

In order to study the dynamics of the models of eq (3.1) and (3.2), we make use of two sets of parameters. One consists of parameters commonly adopted in theoretical papers (*e.g.* Koelle *et al.* (2006); Ferguson *et al.* (2003);

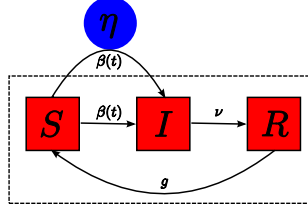


FIG. 3.2: A minimal model for a given subtype of influenza A : S is the number of susceptible hosts, I the number of infectious hosts and R the number of recovered and temporary immunised hosts. $\beta(t)$ is the transmission rate taking into account seasonality, ν the recovery rate, g the antigenic drift rate (due to viral evolution) and η is the contribution of infectious hosts from external regions to the force of infection.

Gökaydin *et al.* (2007)) and the other consists of more direct estimates of parameters from household studies (*e.g.* Cauchemez *et al.* (2004); Lavenu *et al.* (2004)). Both parameter sets are listed in Table 3.1. The remaining parameters (e , g and η) are considered as bifurcation parameters.

Parameters	Theoretical	Empirical
ν (recovery rate)	$1/8 \text{ days}^{-1}$ (Koelle <i>et al.</i> , 2006)	$1/2.77 \text{ days}^{-1}$ (Lavenu <i>et al.</i> , 2004)
R_0 ($\beta = R_0\nu$)	5 (Koelle <i>et al.</i> , 2006)	2.66 (Lavenu <i>et al.</i> , 2004)

TAB. 3.1: Parameter values

3.2.2 UPCA dynamics in influenza epidemics

As mentioned above, UPCA dynamics is a good candidate to explain influenza incidence time series in the absence of rare mutation with strong antigenic effects. The uniform phase characterizes the regular annual outbreak, while the chaotic amplitudes of the number of infectives characterizes the irregular peaks of the epidemics from year to year. In the following, we will shortly show that the simple models outlined above (eq. (3.1) and (3.2)) naturally generate UPCA dynamics.

UPCA dynamics was first introduced in theoretical ecology by Blasius *et al.* (1999) in the context of ecological foodwebs. For epidemiological systems represented by the classical forced SIR models, we have found that it

is difficult, if not impossible, to locate parameter regimes in which outbreaks occur regularly each year. For instance, for SIR systems, there are numerous years without epidemics (Stone *et al.*, 2007; Olinky *et al.*, 2008), and this appears to be an intrinsic feature of these models.

In contrast, the *SIRS* models with immigration (eq. (3.1) and (3.2)), and especially the version where multiple subtypes co-circulate, prove to be better candidates for UPCA dynamics because the presence of a higher rate of susceptible renewal resulting from antigenic drift and external infections both facilitates epidemic “re-birth” after large events of susceptible depletion. Figure 3.1 and Supporting Information display typical model realizations of Eqns. (3.1) and (3.2) and make clear the occurrence of strong annual outbreaks, although their intensity is quite different, and in fact chaotic, from year to year.

To assess whether UPCA dynamics is a commonplace or a pathological feature of the model, its dynamics have been scanned over a large range of parameter space. That UPCA dynamics is chaotic, means that it can be detected by checking for a positive first Lyapunov exponent following the algorithm of Wolf *et al.* (1985). Phase regularity was identified by demanding that 95% of the inter-peak intervals ranged between 0.7 and 1.3 years (other measures for phase stability do not significantly alter the results). To ensure that we do not select trajectories with several years between two epidemic peaks, we retained only time series having all maxima with amplitudes that are higher than 5% of the endemic equilibrium in the absence of seasonal forcing. This value (5%) was found appropriate to allow years with very low peaks (akin to the refractory period reported by Koelle *et al.* (2006) after antigenic cluster transitions) but sufficiently high to ensure that the following year is characterized by with a significant peak (in accord with data).

Figure 3.3 reveals the results of the bifurcation analysis for both the one subtype and two subtype models. In all cases, UPCA dynamics can be found in wide areas of realistic parameter values for influenza. In particular, UPCA dynamics are possible for antigenic drift values compatible with estimates of Finkenstädt *et al.* (2005) and (Pease, 1987) who report gradual antigenic drift rates ranging from $1/13$ to $1/25$ years⁻¹.

As can be seen in figure 3.1 and Supporting Information it is striking how the single subtype SIRS UPCA model is able to produce patterns reminiscent of antigenic cluster transition, (years with a significantly higher peak followed by a refractory period of one year) with only purely gradual antigenic drift. Even more surprising, the period in between those refractory period closely

matches the reported duration of antigenic cluster persistence ranging for 1 to 8 years (Smith *et al.*, 2004).

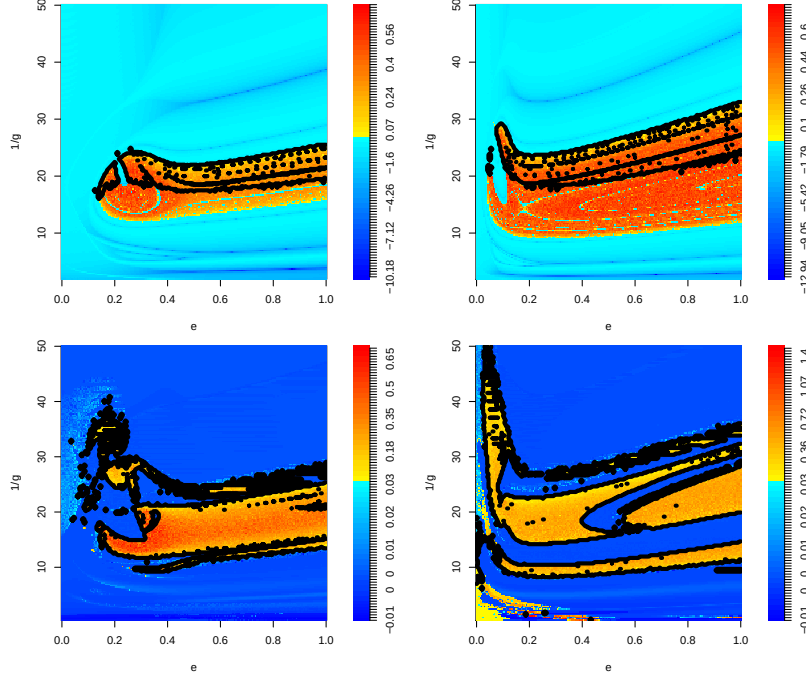


FIG. 3.3: First Lyapunov exponent and parameters space where we expect UPCA dynamics (black contours). Top : single subtype model ; bottom : Two co-circulating subtypes model for an average 6 months period of temporary full cross-immunity. Left graphs are for theoretical parameters values ($R_0 = 5$; $1/\nu = 8$ days; $\eta = 1.10^{-6}$); Right graphs are for empirical parameters values ($R_0 = 2.66$; $1/\nu = 2.77$ days; $\eta = 1.10^{-7}$). Supplementary figure in Supporting Information provides the periods bifurcations.

3.3 Corroborations from observations

First we qualitatively compare the time series and the attractors of the observation and simulation of the models. Figure 3.1 (right part) presents a phase space representation of the ILI data from Israel and Ile de France as well as comparisons with two dimensional projections of the strange attractors of the model of eq (3.1) and (3.2) (two subtype case). All these graphs show

general good agreement between the theoretical and the reconstructed phase space representation.

To confirm these qualitative results, we have compared the UPCA model to real data, by implementing a stochastic version of eq (3.1) (see Supporting Information) and using maximum likelihood identification. Parameter inference was achieved with an implementation of maximum likelihood via iterated filtering (MIF) as described in Ionides *et al.* (2006) and Breto *et al.* (2009) (see Supporting Information). The results of the inference procedure are depicted in Supporting Information. The transmission and antigenic drift rates were difficult to estimate and appeared to be strongly correlated as can be seen in Supporting Information.

We then examine to what extent the inferred parameters (see Supporting Information) were compatible with UPCA dynamics. Due to the uncertainty of the antigenic drift rate and given the difficulty to directly insert the external infection parameter from the stochastic model to the deterministic model (eq (3.1)) we considered g and η as bifurcation parameters and fixed the other parameters to their maximum likelihood values.

Figure 3.4 reveals that these parameter inferred for ILI data of Ile de France region are within the UPCA area of the deterministic model for a large range of g and η values. All these results corroborate the interest of the UPCA dynamics in influenza epidemics.

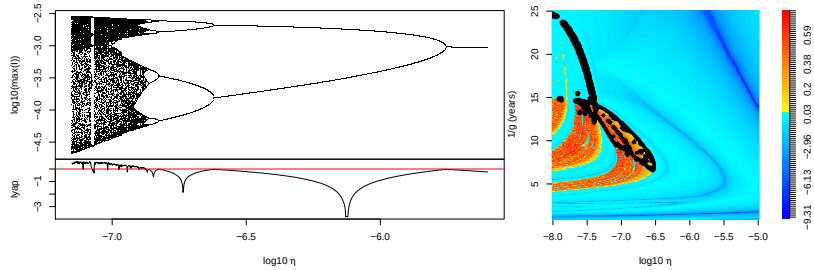


FIG. 3.4: One dimensional and two dimensional bifurcation diagram for external infectious hosts parameter (η) and antigenic drift rate (g). Other parameters are fixed at their maximum likelihood estimate from Supporting Information ($R_0 = 1.65$, $1/\nu = 2.47 \text{ days}^{-1}$, $e = 0.104$). Supplementary Information provides the periods bifurcations.

3.4 Robustness

Due to the growing recognition of the punctuated nature of immune escape (Cobey & Koelle, 2008) we have checked to what extent UPCA dynamics are robust to perturbations due to rare mutation with higher than usual antigenic effects. For this purpose, we have generalised the model of eq. (3.1) so that at random times, these perturbations are applied by transferring a percentage $x \in [0, 1]$ of recovered hosts into the susceptible compartment. In order to quantify the magnitude of x we have used the ratio of the maximum number of infected hosts in the presence of perturbations over the maximum number of infected hosts for a typical unperturbed UPCA trajectory. This ratio is plotted in figure 3.5 (right panel). Contrasting this ratio to the ILI data, enabled us to set a maximum boundary for x at 0.07. This value is in accord with Finkenstädt *et al.* (2005) who estimated from French ILI data x values smaller than 7% (53% of the estimates $\leq 2\%$; 26.7% between 2 and 5 % and 20% between 5 and 7%). Figure 3.5 reveal that UPCA dynamics is robust to such perturbations, the transient being shorts. As suggested by (Koelle *et al.*, 2006), we also notice that punctuated immune escape can induce higher peaks followed by refractory periods. However the occurrence of such a pattern strongly depends on the time of the perturbation and is not systematic.

The robustness of the UPCA dynamics was also tested by increasing the realism of the model in various ways. First, we constructed a stochastic metapopulation version of the model of eq (3.2) with realistic inter-city migration based on transportation data flow from 52 major cities over the world published in Grais *et al.* (2003) (see Supporting Information). Second, more realistic infection time distributions were employed by incorporating an exposed class (E) and by using Erlang distributions for sojourn times in exposed and infectious states instead of exponential. Third, three age classes were considered using Wallinga *et al.* (2006) data from social contacts to estimate age-specific transmission parameters. The full model is detailed in Supporting Information. Figure 3.5 and Supporting Information reveal the robustness of UPCA dynamics that appears little affected by demographic stochasticity, metapopulation dynamics, age structure and non exponential infected time distribution.

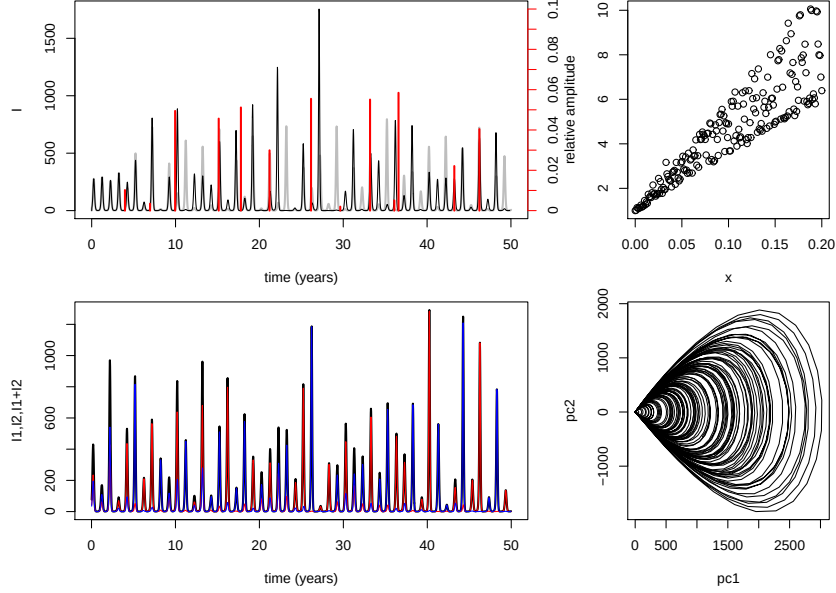


FIG. 3.5: Robustness of UPCA dynamics. First line : effect of environmental stochasticity. Left panel : Gray line represents an unperturbed UPCA trajectory for parameters $R_0 = 1.65$, $1/\nu = 2.47 \text{ days}^{-1}$, $1/g = 11 \text{ years}^{-1}$, $e = 0.104$, $\eta = 10^{-7}$. The same perturbed trajectory is plotted in black. Perturbation times and amplitude (x , reported on right axis) are indicated by red vertical lines. Perturbation times are sampled from a Gaussian distribution with mean=3.3 and sd=1.9 corresponding to values of antigenic cluster succession reported by Smith *et al.* (2004). Perturbation intensity (x) are sampled from an Uniform distribution defined on the interval $[0, 0.07]$. Right panel : ratio of the maximum number of infected host in the presence of perturbations over the maximum number of infected host for the same unperturbed trajectory as a function of x . Second line : A typical realization of the stochastic 2 subtypes metapopulation model for Paris and the associated phase state representation (after a principal component analysis where $pc1$ and $pc2$ are the 2 first components) with embedding realised by the method of delay obtained with the empirical parameter set. Other parameter are $1/g = 25 \text{ years}^{-1}$, $1/q = 6 \text{ months}^{-1}$, $1/\gamma = 1.5 \text{ days}^{-1}$. Seasonal forcing ($e = 0.2$) for Northern and Southern hemisphere cities are in phase opposition and tropics do not present seasonality (see Supporting Information).

3.5 Discussion

The studies of Smith *et al.* (2004); Koelle *et al.* (2006); Wolf *et al.* (2006); Shih *et al.* (2007) and Suzuki (2008) have generated controversies on the exact patterns of influenza A antigenic evolution, potentially challenging the purely gradual view expressed by Pease (1987). At the epidemiological level influenza epochal evolution has offered an intuitive explanation to epidemics peaks variability observed in data. Here, we have illustrated that non-linear dynamics alone, under a purely gradual antigenic evolution scenario can results in dynamics strikingly similar both qualitatively and quantitatively to the one that are expected under the punctuated immune escape scenario. Care should therefore be taken when considering that higher epidemic peaks reflect punctually large antigenic changes.

UPCA dynamics also offers a parsimonious explanation to the previously unexplained fact that influenza most severe seasons are not always associated with antigenic novelty, but with antigenically similar strains returning for several consecutive seasons. For instance, Viboud *et al.* (2006b) cite the striking examples of the 1989-1990 epidemic in the UK (A/England/89 (H3N2) strain) or the 1999-2000 epidemic in the US (A/Sydney/97 (H3N2) strain).

If our results are not sufficient to reject punctuated immune escape, they raise important questions about the potential effect of antigenic cluster transition at the epidemiological level. In particular, given the increasing recognition of functional constraint at the genomic scale (Rambaut *et al.*, 2008; Du *et al.*, 2008) immune escape advantage due to antigenic cluster transition could be largely balanced by an associated fitness cost (Holmes *et al.*, 2005). Such functional trade-off between antigenic escape and intrinsic fitness could easily explain the good agreement with data obtained with our simple model neglecting antigenic clusters. This could also explain why Chowell *et al.* (2007) did not detect higher transmissibility when new antigenic clusters of influenza A/H3N2 strains emerged in their estimates of the reproduction numbers of seasonal influenza epidemics spanning over three decades in the United States, France, and Australia.

The statistical framework used in this paper and developed in Ionides *et al.* (2006) and Breto *et al.* (2009) provides a method to determine to what extent a model with variable antigenic drift rate (representing punctuated immune escape) is able to outperform the minimal model presented here. We are currently investigating this direction with the class of stochastic processes with stochastic rate introduced in Breto *et al.* (2009). Adding noise to gradual

antigenic drift parameter will allow to access to the variability of the antigenic drift rate in a full likelihood based approach thus allowing for model selection. The same framework could also be used to assess the highly debated existence of hetero subtypic partial cross-immunity for influenza (Epstein, 2006).

In the context of the spread of the new animal origin H1N1 subtype, it is important to have an appropriate, pertinent and tractable model to describe both the initial conditions at the beginning of the pandemics (resulting from the co-circulation of H3N2 and H1N1 subtypes since 1977 (Earn *et al.*, 2002)) and the competition between the three subtypes. Such a description is of great interest for predicting the outcome of the invasion of new influenza subtypes within a realistic ecological context. For instance the fact that the last epidemic season of the A/H2N2 era was consistently lower in North America than elsewhere is suspected to have been a key determinant to explain that the first pandemic season of A/H3N2 influenza virus (1968/1969) resulted in significant mortality in the United States, but that it was the second pandemic season of A/H3N2 influenza virus (1969/1970) that caused the majority of deaths in Europe and Asia (Viboud *et al.*, 2005). We think that our coupled SIRS UPCA models have the characteristics to be such an adapted and pertinent model for this task.

As a last point, influenza UPCA dynamics could provide an example of non-linear dynamics at work in nature setting limits to our ability to predict future epidemics sizes in addition to evolutionary contingency. It remains to be seen to what extent UPCA dynamics could be a characteristic of other diseases. Norovirus whose phylodynamics appears to be close to influenza (Lopman *et al.*, 2008) appears to be a good candidate for further investigations.

Methods

We briefly present the data, the models and the methods used here and provide the technical details in the Supporting information.

We have used both daily incidence of Influenza Like Illness (ILI) of Israel (REFERENCE FROM Lewi) and weekly incidence rates for region Ile de France (Paris and its surrounding area) from the French Sentinelles network (<http://websenti.b3e.jussieu.fr/sentiweb/>). The data are plotted in figure 3.1. The French data set was selected for comparison purposes given the previous analysis of Finkenstädt *et al.* (2005). Moreover, the French Sentinelles

surveillance system provide well described data spanning over 25 years.

Phase space representation of the data (e.g. Kantz & Schreiber (2003)) was achieved with the method of delay with an embedding dimension determined by the false nearest neighbours method as implemented in the *tisean* package (Kantz & Schreiber, 2003). In case of the method of delay, principal components analysis was then used to project the reconstructed attractor on two dimensions. Analytic signal and the Hilbert transform were found to give similar results (results not shown).

The first minimal model used takes into account three key processes of influenza dynamics in temperate areas : seasonal forcing, external reintroductions and antigenic drift. It only considers purely gradual antigenic drift, in the same way as Pease (1987). For this model of a given subtype of influenza A, the host population is divided into three classes. As is usual, we set S as the number of susceptible hosts, I the number of infectious hosts and R the number of recovered hosts with temporary immunity. Upon contact with an infected host, susceptibles move to the infected class at a rate that is determined by the parameter $\beta(t)$. The contact rate $\beta(t)$ also takes into account seasonality through annual sinusoidal forcing. After a period determined by the rate ν , usually several days, infected hosts recover from influenza and for a period are immune from further infection. However, due to antigenic drift of the influenza virus which occurs continuously at a rate g , the immunity fades and recovered individuals become susceptible once more, thereby closing the SIRS loop (see figure 3.2, eq (3.1)). The constant force of infection term η , represents the contribution of infected hosts from external regions.

$$\begin{aligned}\frac{dS}{dt} &= -\beta(t) \frac{S}{N} (I + \eta) + gR \\ \frac{dI}{dt} &= \beta(t) \frac{S}{N} (I + \eta) - \nu I \\ \frac{dR}{dt} &= \nu I - gR\end{aligned}\tag{3.1}$$

with $\beta(t) = \beta_0(1 + e \cos(2\pi t))$.

The above model may easily be generalized for many co-circulating subtypes assuming that subtypes only interact via a temporary period of full cross-immunity as suggested by Webster *et al.* (1992) leading to eq (3.2) (Supporting Information provides a schematic representation for the 2 subtypes case) . Ferguson *et al.* (2003) and Tria *et al.* (2005) have shown that a temporary period of full cross-immunity is necessary to restrict otherwise

increasing strain diversity in multi-strain models allowing for realistic antigenic space in the absence of punctuated evolution. Its inclusion is therefore needed in the purely gradual antigenic drift hypothesis.

$$\begin{aligned}
\frac{dR_J}{dt} &= qQ_J - \sum_{k \notin J} \beta_k(t) \frac{R_J}{N} (I^k + \eta_k) - \sum_{k \in J} g_k R_J + \sum_{k \notin J} g_k R_{J \cup k} \\
\frac{dI_{J \setminus k}^k}{dt} &= \beta_k(t) \frac{R_{J \setminus k}}{N} (I^k + \eta_k) - \nu I_{J \setminus k}^k - \sum_{m \in J \setminus k} g_m I_{J \setminus k}^k + \sum_{m \notin J \setminus k} g_m I_{(J \setminus k) \cup m}^k \\
\frac{dQ_J}{dt} &= \sum_{k \in J} \nu I_{J \setminus k}^k - qQ_J - \sum_{k \in J} g_k Q_J + \sum_{k \notin J} g_k Q_{J \cup k}
\end{aligned} \tag{3.2}$$

with $I^k = \sum_{M \in J \setminus k} I_M^k$.

$I_{J \setminus k}^k$ are the hosts currently infected by subtypes k resulting from infections from hosts who were immunized toward strain belonging to the subset $J \setminus k$ (J which does not contain k). After recovery, infectious hosts $I_{J \setminus k}^k$ spend an average time $1/q$ in the class Q_J where they are “invincible” due to the temporary period of full cross-protection and then pass to class R_J where they are susceptible to every subtype not present in subset J . g_k is the gradual antigenic drift rate of subtype k .

As antigenic drift dominates susceptible renewal over demographic processes, Eq (3.1) and (3.2) do not include birth and death process. Moreover their inclusion was found to have only minor effects.

Eq. (3.2) was extended to a stochastic metapopulation model of 52 major cities over the world including 3 age classes. To increase realism, an exposed period was added and exposed and infectious classes were doubled to ensure that the exposed and infectious period followed Erlang distributions. Following Cooper *et al.* (2006) it was assumed that only exposed individuals traveled. The full model is described in Supporting Information.

Acknowledgements

This work was partially funded by the Région Ile-de-France and the “ANR-Agence Nationale de la Recherche – The French National Research Agency” under the project ANR 05SEST01802 BIOSCOPE.

Chapitre 4

The transition from invasion to persistence for influenza antigenic units

Sébastien Ballesteros^{1,*}, Anton Camacho¹, Elisabeta Vergu², Bernard Cazelles^{1,3}

¹UMR 7625 (UPMC, ENS, AgroParisTech, CNRS), Ecole Normale Supérieure, Unit of Eco-Evolutionary Mathematics, 46 rue d'Ulm, F-75230 Paris Cedex 05, France.

²INRA, UR341 Mathématiques et Informatique Appliquées, F-78352 Jouy en Josas, France

³IRD UR GEODES, 93142 Bondy, France

**Corresponding author* : E-mail : sebastien.ballesteros@biologie.ens.fr

abstract

We introduce a general framework to capture the dynamics of partially cross reactive influenza subtypes or antigenic cluster subject to gradual antigenic drifts. We assume that antigenic unit (influenza A subtype or antigenic cluster) are produced during discrete events (antigenic shift or cluster

transition) that determines their antigenic distance. Antigenic distance then remains constant despite within unit antigenic drift. The implicit representation of within unit gradual antigenic drift added to the fact that we track the tempo of antigenic change instead of the pathogen’s genetic change allows to consider only a limited number of antigenic unit at any time. These simplifications render possible to use multi-strains model where the number of compartments grows exponentially with the number of antigenic units overcoming the need to use restrictive hypothesis to simplify model complexity. Using this framework, we first show how the presence of gradual antigenic drift within antigenic unit induces the existence of a determinist threshold that governs the invasion ability of new drifting antigenic units. We then characterise the conditions leading to replacement of antigenic units as observed in data using a realistic worldwide stochastic metapopulation model. With this framework our results reveal that realistic parameter values for immune escape lead to unrealistically high epidemics followed by too long refractory periods. A good agreement between simulations and data can be obtained by assuming an associated fitness cost to immune escape or by including a mechanism of immune boosting where exposed individuals that do not contract infection nevertheless gain a temporary period of full cross-protection. Such a cross-immune boosting appear to be a common point shared by models able to reproduce successful antigenic units replacements but its necessity could be an artifact of global mixing assumption.

Keywords :

influenza, punctuated immune escape, antigenic drift, invasion threshold

4.1 Introduction

Past influenza A pandemics in human have been marked by characteristic patterns of replacement where the new invading subtype successfully establish in the human population while driving the preexisting subtype to extinction. This happened three times since 1918 when “Spanish” influenza H1N1 replaced a supposed H3N8 subtype dating from 1900. H1N1 was then replaced by Asian influenza H2N2 in 1957 and finally this latter was replaced

by Hong Kong influenza H3N2 in 1968. Coexistence of two influenza subtypes was only recently observed following the accidental reintroduction of H1N1 in 1977 (Kilbourne, 2006; Zimmer & Burke, 2009). Human A influenza virus can therefore be considered as a perturbed system prevented from reaching an evolutionary equilibrium with their hosts by an irregular infusion of avian virus genes into the human virus gene pool (Webster *et al.*, 1992). The current pandemics of new animal origin H1N1 virus (naoH1N1) constitutes a prominent example of such perturbation.

Within a given influenza subtype (IS), intense selection from the host immune system also results in continuous replacement of circulating strains with new variants able to re-infect previously immunized hosts. This antigenic drift results in a strong temporal signature in HA (influenza main antigen) phylogeny with high rates of lineages extinctions so that genetic diversity at any time is limited (Fitch *et al.*, 1997). By contrast, the phylogeny of influenza type B, which affects only humans and is not perturbed by frequent antigenic shifts episodes *i.e.* introduction of a new subtype in the human population from an animal reservoir (Webster *et al.* (1992)), exhibits greater branching events (Hay *et al.*, 2001). Influenza B currently possesses 2 lineages (B/victoria and B/Yamagata) that have been coexisting with frequent reassortments since the early 80's (Lin *et al.*, 2004).

The dynamics of influenza antigenic unit (IAU) replacements is therefore a key process of influenza epidemiology and evolution and numerous studies have tried to determine the key factors involved in IAU replacements or coexistence whether it be during pandemic shifts or seasonal influenza antigenic drift.

Using a computationally intensive individual based model, Ferguson *et al.* (2003) were able to reproduce both the slender phylogenetic tree of influenza A HA and the pattern of subtype replacement observed during pandemics. Ferguson *et al.* (2003) have shown that replacement was strongly dependent on the presence of a short-lived strain-transcending immunity within and between subtypes, which acts as a density dependant factor. Pattern more reminiscent to influenza B were obtained by reducing both the intensity of partial cross-immunity and the rate of mutation with few effects of the basic reproductive number R_0 . Andreasen & Sasaki (2006) recovered most of Ferguson *et al.* (2003) results using an analytical model. Under Andreasen & Sasaki (2006) model, partial cross-immunity alone is sufficient to prevent branching events for low R_0 values. However, for a fixed level of cross-immunity intensity, branching events are more likely as R_0 increases and a temporary

strain-transcending immunity becomes necessary to reduce diversity as R_0 takes realistic values.

Recently, Koelle *et al.* (2006) and Koelle *et al.* (2009) have introduced an efficient framework to model rapidly evolving pathogens by focusing on the tempo of antigenic change instead of the pathogen's genetic change. At the heart of this framework is the recognition that groups of strains with the same antigenic properties form a limited number of antigenic clusters (AC) emerging and replacing each other every 1 to 8 years (Smith *et al.*, 2004). Within a given AC gradual antigenic drift takes place and strain diversity increases (Shih *et al.*, 2007; Suzuki, 2008; Russell *et al.*, 2008). However, AC transitions induce important selective sweeps that restricts previously established diversity. In this context, Koelle *et al.* (2006) showed that temporary strain-transcending immunity is unnecessary to restrict the diversity of HA within H3N2 subtype evolution. Koelle *et al.* (2006) and Koelle *et al.* (2009) also offered a mechanism to explain the different pattern of coexistence observed for influenza type B and A/H1 by reporting more coexistence events instead of sequential replacement for R_0 values smaller or greater than 4-6.

One of the main issue with Koelle *et al.* (2006) model is that it has been framed within a status-based framework with the assumption that cross-immunity acts by reducing infectivity (*SBRI* model). This combination of hypothesis have been reported to result in potentially important overestimation bias of immunity in the context of influenza that could favour otherwise impossible AC replacement (Ballesteros *et al.*, 2009).

Here, we introduce a general framework more appropriate than the *SBRI* model to capture the outcomes of the invasion of partially cross-reactive IAU subject to gradual antigenic drift. As previously stated, these IAU appear to result from rare mutations (or re-assortments) with strong antigenic effects in the case of AC or from antigenic shifts in the case of IS. In between these punctuated events, gradual antigenic drift occurs ((Shih *et al.*, 2007; Russell *et al.*, 2008; Suzuki, 2008)) but we assumes that it does not affect cross-reactivity of the different IAU so that the antigenic distance between antigenic units remains constant despite within unit evolution. This internal treatment of gradual antigenic drift leads to greatly simplify model complexity and enable to use models where complexity scales exponentially with the number of IAU.

We first show how the presence of gradual antigenic drift within IAU induces the existence of a deterministic threshold that governs the invasion ability of new drifting antigenic units.

We then use the previously defined framework to study the transient dynamics from invasion to persistence for new emerging drifting IAU focusing only on partial cross protection. Simple patterns are first characterised with a two-antigenic units model and the prediction of this simple analysis is complemented by simulation of a multi drifting IAU model in a realistic worldwide metapopulation context.

Finally, we consider the effect of a period a temporary strain-transcending immunity and discuss the key processes that appear to shape influenza phylogenetics and pandemics patterns.

4.2 A general framework for co-circulating cross-reactive IAU subject to gradual antigenic drift

History based or status based model can be used to model co-circulating IAU (Gog & Swinton, 2002). However, as we show in the appendix, generalising classical status based model (*e.g* Gog & Swinton (2002) or Gog & Grenfell (2002)) to include within IAU antigenic drift turns to be problematic, leading to difficult biological interpretations as well as overestimation of cross-immunity.

In this context, history-based framework appears to be a more natural alternative where gradual antigenic drift within IAU can be introduced in two ways, both biologically relevant. A first way was previously explored by Gökyaydin *et al.* (2007) who considered that within IAU antigenic evolution could be captured by a *SIRI* model (susceptible/infected/recovered/re-infected). The *SIRI* description assumes that strain diversity within a given IAU results in partially protective immunity. A second way consists of using a *SIRS* model (susceptible/infected/recovered/re-susceptible) that assumes that within IAU evolution results in a progressive loss of immunity (Pease (1987); Shih *et al.* (2007)).

However, *SIRS* and *SIRI* models differ markedly in their dynamics Gomes *et al.* (2004b). Particularly, the *SIRI* model is subject to a reinfection threshold (Gomes *et al.* (2004b)) that was reported to be decisive in determining the outcome of IAU invasion (Gökyaydin *et al.* (2007)). In order to compare both hypothesis in the context of co-circulating cross-reactive IAU subject to gradual antigenic drift, we consider a more general model

named *SIRX* that gives rise to both *SIRI* and *SIRS* models at the limit.

4.2.1 A history-based model with two levels of immunity (*SIRX*)

The basic idea of the *SIRX* model is to potentially account both for gradual antigenic drift within IAU and for partial protection conferred by cross-immunity between strains belonging to the same IAU. Thus, at the single IAU level, after recovery from infection, hosts enter the removed class *R* conferring a temporary full protection against re-infection by strain belonging to the same IAU. However, because of gradual antigenic drift, new variants eventually appear within the same IAU and previously immunized hosts in class *R* pass into the class *X* where they can potentially be re-infected. The tempo of apparition of these new variants within a single IAU is modelled at the individual level by a residence time in class *R* that follows an exponential distribution with mean $1/g$. Nevertheless, due to previous recovery from infection by the same IAU, hosts in the class *X* keep a level of partial protection that acts by reducing the susceptibility to re-infection by a multiplicative factor σ_X between 0 and 1 (σ_X decreases with the level of cross-protection within IAU). Thus, at the single IAU level, by taking the limit $g \rightarrow +\infty$ in our *SIRX* model we recover the *SIRI* model of Gökaydin *et al.* (2007) whereas $\sigma_X = 1$ gives the *SIRS* model. At the multiple co-circulating IAU level, host with a infection history *H* (the set of all the IAUs the host has been infected with) benefit a partial protection that acts by reducing the susceptibility to infection with a new IAU, *k*, by a multiplicative factor σ_{Hk} between 0 and 1. Note also that co-infection with several IAU is allowed.

In order to keep track of the infection history within and between IAUs, our model require a two levels notation. Denoting *K* as the set of all the IAU index ($|K| = N_K$), hosts are then defined by two variables : their infection history $H \subseteq K$ (all the IAU they have been infected with) and their effective resistance $J \subseteq H$ (all the IAU they are currently fully protected with). With the notation, the *S*, *R* and *X* compartment become respectively $R_{\emptyset}$, R_1 and R_1 . This two levels notation increases the dimensionality of our model to $O(3^{N_K})$ in comparison with the $O(2^{N_K})$ of the usual one level notation history-based models (Andreasen *et al.* (1997)). However, since our model stands at the antigenic level considering N_K below 10 is sufficiently enough

to describe large time scale dynamics unlike models at the genetic level that usually require $N_K > 100$. This 2 level notations results in the multi-IAU *SIRX* model with co-infection given by (eq 4.1)

$$\begin{aligned}
\dot{R}_\emptyset &= \mu N - \sum_k \beta_k(t) R_\emptyset \frac{I^k}{N} - \mu R_\emptyset \\
\dot{R}_J &= \sum_{k \in J} \beta_k \sigma_{Hk} R_H \frac{I^k}{N} - \sum_{k \in K \setminus J} \beta_k(t) \sigma_{Hk} R_H \frac{I^k}{N} - \sum_{k \in J} g_k R_H + \sum_{k \in H \setminus J} g_k R_{J \cup k} - \mu R_J \\
\dot{I}^k &= \sum_{\substack{H \subseteq K \\ J \subseteq H \setminus k}} \beta_k \sigma_H^k R_H \frac{I^k}{N} - \nu I^k - \mu I^k
\end{aligned} \tag{4.1}$$

Where I^k are hosts infectious with IAU k and $J \setminus k$ and $J \cup k$ stand for $J \setminus \{k\}$ and $J \cup \{k\}$.

A schematised description for the case $N_K = 2$ can be found in figure 4.1.

Eq 4.1 model is of high dimension with $\sum_{k=0}^{N_K} \left(\binom{N_K}{k} \sum_{p=0}^k \binom{k}{p} \right) + N_K = 3^{N_K} + N_K$ equations. Note however that taking the *SIRI* limit as $g \rightarrow \infty$ reduces the dimension of the model to $2^{N_K} + N_K$ equations.

A key component of our *SIRX* model is the susceptibility reduction factor σ_{Hk} conferred by a history H against an IAU k . In the following we suppose that the degree of cross-protection within IAU is the same for all IAUs : $\sigma_{Hk} = \sigma_X$ if $k \in H$ as well as a general function for between IAU cross-protection : $\sigma_{Hk} = f(\{\sigma_{ik}\}_{i \in H})$ if $k \in K \setminus H$.

4.2.2 Invasion condition for the 2-IAU *SIRX* model

In this section we seek to establish threshold conditions on the susceptibility reduction factor σ_{Hk} to allow a new IAU (the mutant) to invade a population where a previous IAU (the resident) is at the endemic equilibrium. We take the simple 2-IAUs *SIRX* model and suppose that both IAUs have the same infection parameters except for the transmissibility of the mutant that is reduced by a factor $\alpha \in [0, 1]$ to allow for functional constraints. We then rescale the time in unit of duration of infection $(\mu + \nu)^{-1}$ and define the new parameters : $r = \frac{\beta}{\mu + \nu}$, $e = \frac{\mu}{\mu + \nu}$ and $\gamma = \frac{g}{\mu + \nu}$.

The invasion condition is given by :

$$\left. \frac{dI^2}{dt} \right|_{1^*} = (\alpha r R_\emptyset^* + \sigma_{12} \alpha r (1 - R_\emptyset^*) - 1) I^2 > 0$$

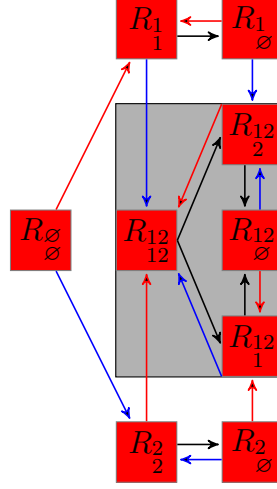


FIG. 4.1: *SIRX* model for drifting co-circulating cross-reactive antigenic units. Red (blue) arrows represent infection by unit 1 (2). Black arrows represent within unit antigenic evolution.

$$\text{and leads to : } \sigma_{12} > \frac{1 - \alpha r R_{\emptyset}^*}{\alpha r (1 - R_{\emptyset}^*)}.$$

Analytical expression of $R_{\emptyset}^*$ for our *SIRX* model can only be derived in its *SIRS* limit when $\sigma = 1$. In this case case :

$$\sigma_{12} > \frac{1}{\alpha r} - \frac{e(1 + \gamma)(\alpha r - 1)}{\alpha r(e + \gamma)(r - 1)} \quad (4.2)$$

For the general *SIRX* model, numerical simulation were performed and Figure 4.2 illustrates the invasion thresholds in function of $\sigma_X \in [0, 1]$ for $R_0 = 2$ and for several values of g and α as well as for the various limit models. The appendix present a more general result obtain for a resident population made of K unrelated (and therefore non cross-reactive) co-circulating IAU.

When $\alpha = 1$, invasion of the IAU mutant is always possible whenever $\sigma_{12} > \sigma_X$. This sufficient condition (SC) is not limited to our *SIRX* model. As we show in the appendix, it remains true in models allowing for a flexible shape for the evolution of the reinfection probability within IAU due to gradual antigenic drift such as the one used by Xia *et al.* (2005). From a more biological standpoint, this SC seems reasonable because it means that

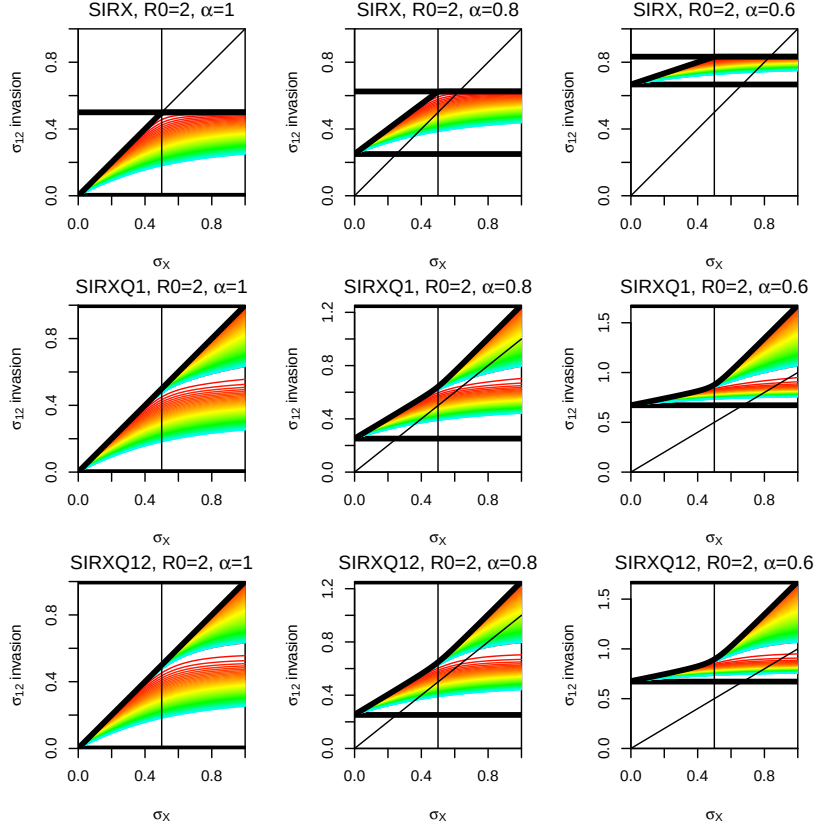


FIG. 4.2: Invasion threshold. The y-axis represent the minimum σ_{12} value needed to ensure that the IAU mutant can invade a population where a resident IAU is at the endemic equilibrium. Columns of figure indicate the effect of functional constraint (α). Lines of figure present different versions of the *SIRX* model. First line figures : without temporary full cross immunity (Q); second line figures : with Q of duration $1/q = 6$ months and without immune boosting ($Q1$); third line figures : with Q ($1/q = 6$ months) and immune boosting ($Q12$). In each figure, black curves represent the invasion threshold for the *SIR* limit ($g = 0$), the *SIRS* limit ($g \rightarrow \infty$) and the *SIS* limit ($g \rightarrow \infty$; $\sigma_X = 1$) of the *SIRX* model. The *SIRS* limit correspond to the value $\sigma_X = 1$. Colours represent various values of g from $1/g = 1$ year (red) to $1/g = 70$ years (blue) by 1 year. For second and third line figures, additional $1/g$ values are plotted with a second colour panel ranging from 0.01 (red) to 1 year (blue) by 0.01 year.

infection by a given IAU confers a better protection against strains belonging to the same IAU than against strains of another IAU. However, this SC breaks down as functional constraints ($\alpha < 1$) result in an invasion threshold even when $\sigma_{12} > \sigma_X$ (Figure 4.2). In the following sections the SC is always respected.

4.3 Transient dynamics of the *SIRX* model

4.3.1 Endemic equilibrium of the 1-IAU *SIRX* model

The endemic dynamics of the 1-IAU *SIRX* model strongly depends on the value of g and σ_X . We have already shown that in the limit $\sigma_X = 1$ the *SIRX* model is equivalent to the *SIRS* model whereas in the limit $g \rightarrow \infty$ it reduce to the *SIRI* model of (Gomes *et al.*, 2004b). Unlike the *SIRS* model, the *SIRI* model presents a phase transition with a sudden increase in the number of infectious hosts near $\sigma_X = 1/R_0$ (defined as a reinfection threshold). Figure 4.3 shows the evolution of the mean annual attack rate (estimated on the order of 10% for seasonal influenza (Cox & Subbarao, 2000)) at the endemic equilibrium in function of σ and g for $R_0 = 2$ or 5.

4.3.2 Invasion-replacement dynamics with the 2-IAU *SIRX* model

We consider the outcome of the invasion of a mutant IAU (indexed by 2) within a population where a resident IAU (indexed by 1) is at the endemic equilibrium previously described. Parameter values are the same for both IAUs and no functional constraints are imposed to the mutant ($\alpha = 1$). Unlike the invasion condition, the outcome of the invasion depends on the chosen function f for the cross-protection between IAU. For simplicity we do not assume cumulative effect of the infection history and we choose the intuitive maximum cross-protection function $\sigma_{Hk} = \min_{i \in H} \sigma_{ik}$ (see section 4.3.3 for further details). Since the SC is respected it leads to $\sigma_{Hk} = \sigma_X$ when $H = \{1, 2\}$ and $k \in \{1, 2\}$. The possible outcomes following invasion are : i) the resident only goes extinct and it is replaced by the mutant (successful replacement), ii) the mutant goes extinct and the resident maintains (failed replacement), iii) both mutant and resident maintain (coexistence), iv) both mutant and resident go extinct. Since we use deterministic simulations we

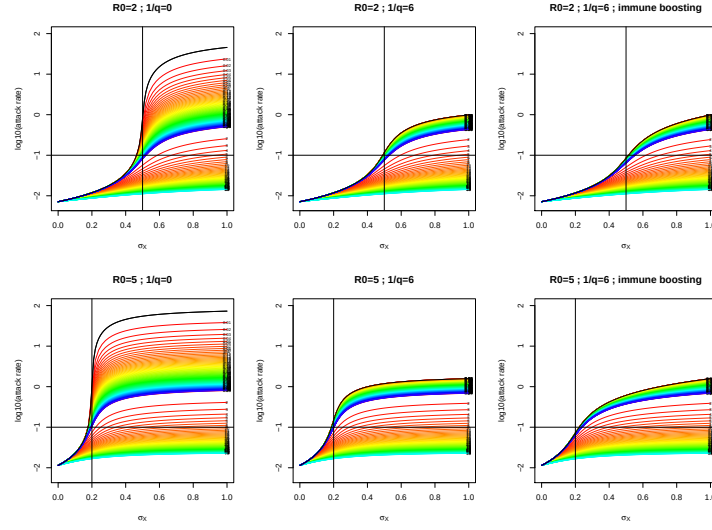


FIG. 4.3: Evolution of the annual attack rate ($\frac{1}{N} \int_0^1 \nu I(t) dt$) of a single antigenic unit at the endemic equilibrium of the *SIRX* model (first column figures), the *SIRXQ1* model ($1/q = 6$ months) (second column figures) and the *SIRXQ12* model ($1/q = 6$ months) with immune boosting. Black line represent the reinfection limit of the model obtained as $g \rightarrow \infty$; Colours represent various values of g . First colour panel : $1/g$ varies from 0.01 year (red) to 1 years (blue) by 0.01 years; second colour panel $1/g$ varies from 1 year (red) to 70 years (blue) by 1 year.

fix the extinction threshold at 10^{-9} . Figure 4.4 illustrates these different outcomes for all possible values of σ_X and σ_{12} and for several values of R_0 and g . Note that for clarity, the parameter space where the SC is not respected is also represented ($\sigma_X > \sigma_{12}$) and then exhibits the invasion threshold found in section 4.2.2.

Regarding the most interesting replacement area (RA, in red on figure 4.4) the first striking observation concerns its smallness compared to other areas. The effects of the different parameters on its size are the following : i) the RA is maximized when the tempo of gradual antigenic drift is low ($1/g \approx 1$ year) and it is almost nonexistent when $1/g > 10$ years. ii) The RA is always located below the reinfection threshold *i.e.* when $\sigma_X < 1/R_0$ and consequently the RA decreases when R_0 increases. As $\sigma_X \rightarrow \frac{1}{R_0}$ coexistence is observed instead of replacement. Indeed, since both IAUs benefit a greater reinfection, the post epidemic extinction risk of the mutant is reduced but in the same time this latter has less impact on the resident which maintains (see also the appendix). iii) Finally, regarding the effect of σ_{12} , the RA is only observed when the SC is respected but we also note that the cross-protection within IAU must not exceed by far the cross-protection between IAUs ($\sigma_{12} \gtrsim \sigma_X$). In other words, if we consider $\Delta\sigma = |\sigma_{12} - \sigma_X|$ as a measure of the immune escape of the mutant IAU over the resident IAU, then this immune escape cannot exceed a few percents. Moreover, for a fixed value of $\sigma_X < 1/R_0$, the small RA indicates a high sensitivity to σ_{12} since a too great immune escape leads to the extinction of both IAUs. This behaviour is confirmed in the appendix where it is shown that despite the small RA the mutant IAU can produce attack rate varying from 5 to 50 %. This range encompasses attack rates observed during antigenic cluster transition as well as during pandemic antigenic shifts. Regarding the *SIRS* limit of our *SIRX* model (when $\sigma_X = 1$) we did not find any RA for any parameter value. On the opposite, the *SIRI* limit (when $g \rightarrow \infty$) exhibits the same RA characteristics than the *SIRX* model when $g > 1 \text{ year}^{-1}$. These characteristics were previously reported by Gökaydin *et al.* (2007) and this preliminary study on the *SIRX* model emphasizes the importance of the reinfection threshold for the replacement of IAU.

In the following section we fix $R_0 = 2$ (as most of R_0 estimates are within the range 1.5-2 (Lessler *et al.*, 2007)) and $1/g = 1$ year (found to generally maximise the RA) and we consider σ_X values sufficiently high to ensure attack rates of the order of 10%. As revealed by figure 4.3 this last condition imposes to take σ_X smaller but close to the reinfection threshold. In accord

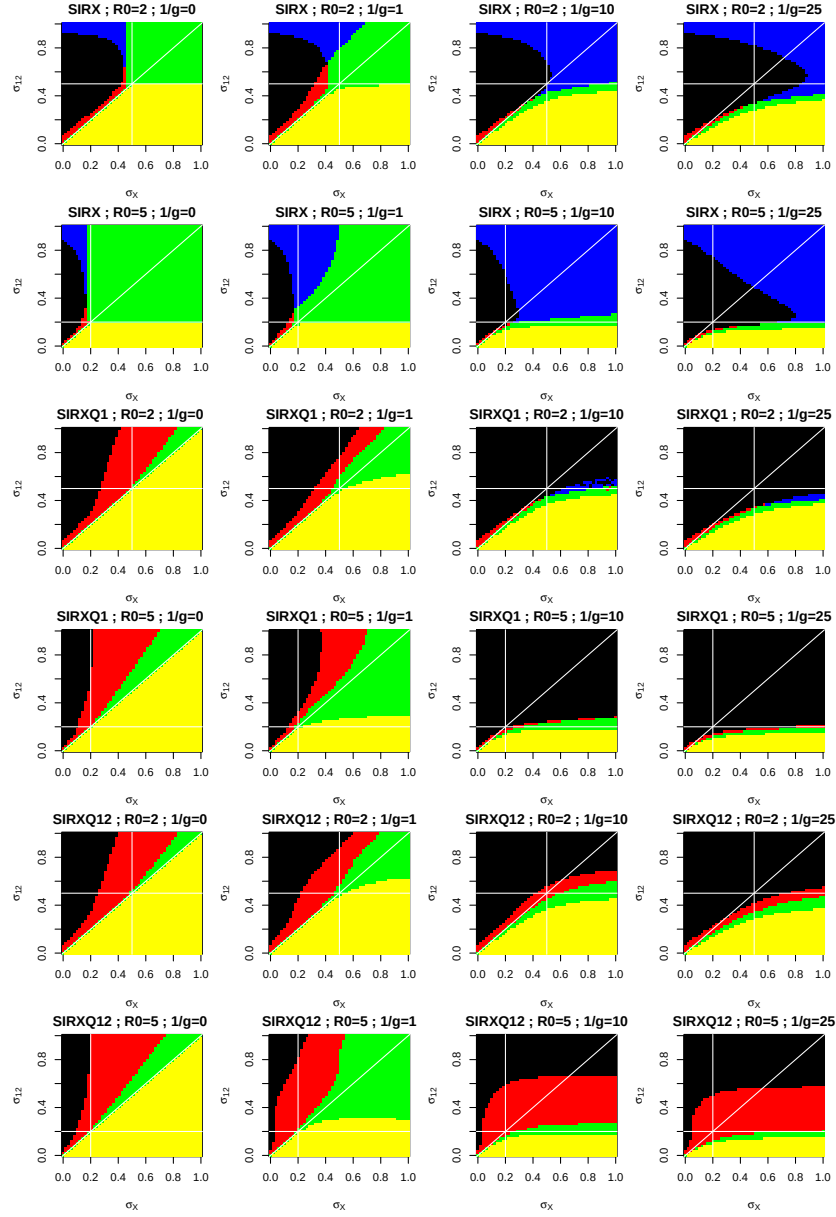


FIG. 4.4: Outcomes of the transient invasion dynamics described in section 4.3.2 for the *SIRX* (first and second line figures), the *SIRXQ1* model ($1/q = 6$ months) (third and fourth line figures) and the *SIRXQ12* model ($1/q = 6$ months) with immune boosting (fifth and sixth line figures). Colours : only the resident goes extinct (successful replacement, red), only the mutant goes extinct (blue); no IAU goes extinct (coexistence, green), both IAU go extinct (black), the mutant cannot invade (yellow). White lines indicate the reinfection threshold given by $1/R_0$.¹²³

with Gökyaydin *et al.* (2007), we find that other values of R_0 in the range 1.5-5 do not alter the results provided that σ_X is adapted to be smaller but close to $1/R_0$.

4.3.3 Metapopulation dynamics and seasonality

In order to study IAU replacement in a more realistic setting, we incorporate the *SIRX* model of eq (4.1) into a stochastic metapopulation framework as depicted in equation (4.3) where $\{c_l\}_{l \in \{1..L\}}$ denotes the set of the L cities.

$$\begin{aligned}
\dot{R}_{c_l \emptyset} &= \mu_{c_l} N_{c_l} - \sum_k \beta_k(t) R_{c_l \emptyset} \frac{I_{c_l}^k}{N_{c_l}} - \mu_{c_l} R_{c_l \emptyset} \\
\dot{R}_{c_l H} &= \sum_{k \in J} \beta_k \sigma_{Hk} R_{c_l H} \frac{I_{c_l}^k}{N_{c_l}} - \sum_{k \notin J} \beta_k(t) \sigma_{Hk} R_{c_l H} \frac{I_{c_l}^k}{N_{c_l}} - \sum_{k \in J} g_k R_{c_l H} + \sum_{k \in \{H \setminus J\}} g_k R_{c_l H} - \mu_{c_l} R_{c_l H} \\
\dot{I}_{c_l}^k &= \sum_{\substack{H \subseteq \mathbf{K} \\ J \subseteq \{H \setminus k\}}} R_{c_l H} \frac{I_{c_l}^k}{N_{c_l}} - \nu I_{c_l}^k - \mu_{c_l} I_{c_l}^k - \sum_{m \neq l} \frac{\tau_{c_l c_m}}{N_{c_l}} I_{c_l}^k + \sum_{m \neq l} \frac{\tau_{c_m c_l}}{N_{c_l}} I_{c_m}^k
\end{aligned} \tag{4.3}$$

For simplicity, only infectious hosts are allowed to travel, $\frac{\tau_{c_m c_l}}{N_{c_l}}$ being the probability that a host located in city c_l of size N_{c_l} travels to city c_m . Eq (4.3) was simulated on a network of 52 global cities (depicted in the appendix) linked by air transportation data from year 2000 and published in (Grais *et al.*, 2003). Population sizes of each city were taken from <http://unstats.un.org/unsd/demographic/>. Seasonal forcing was introduced for cities in temperate areas with a sinusoidal varying transmission rate $\beta(t) = \frac{1}{2} \left[\left(1 - \frac{\beta_{min}}{\beta_{max}}\right) \sin\left(2\pi \frac{(t-t_{max})}{365} + \frac{\pi}{2}\right) + 1 + \frac{\beta_{min}}{\beta_{max}} \right]$ with phase opposition for North and South hemisphere ((Finkelman *et al.*, 2007)). No seasonal forcing was assumed in the tropics as transmission appears to be more constant (Viboud *et al.*, 2006a).

Invasion-replacement in the stochastic metapopulation model

We applied a similar invasion protocol as in the deterministic framework of section 4.3.2. Figure 4.5 (see also the appendix.) reveals that simulations of the stochastic metapopulation model are in good agreement with the previously studied deterministic model. Indeed, the RA is maximised when σ_X is close to $1/R_0$. Moreover, as σ_X approaches $1/R_0$, coexistence substitutes

replacement and higher values of σ_{12} are needed to ensure the resident IAU replacement by the mutant one.

The appendix reveal that we also find a high sensitivity to the immune escape $\Delta\sigma$ of the mutant. $\Delta\sigma \approx 2\% - 3\%$ are sufficient to ensure successful antigenic unit replacement whereas higher values result in unrealistic high epidemics (within a few percent of immune escape the ratio of the maximum epidemic size of the mutant over the resident was found to vary from 1 to 100) .

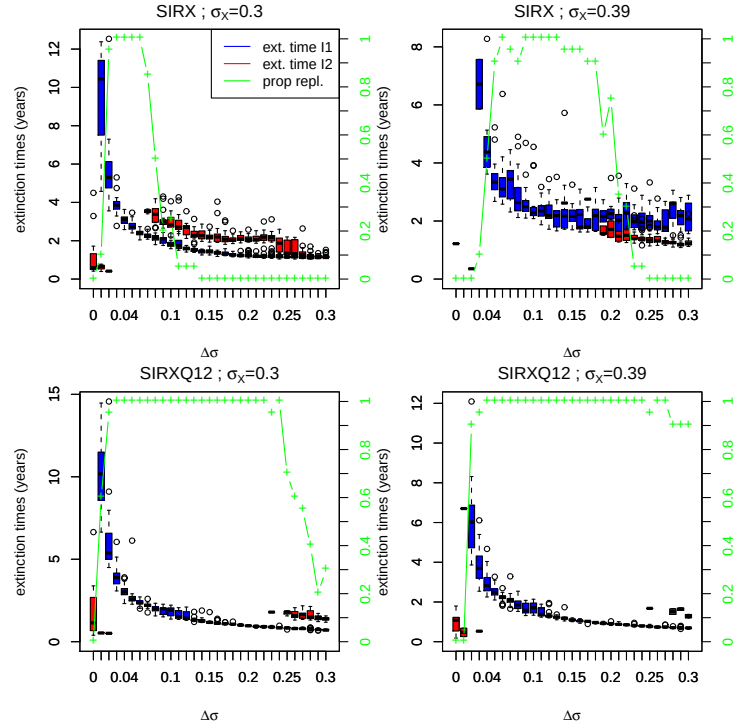


FIG. 4.5: Replacement area (RA) for 20 realisations of the stochastic *SIRX* model (first line figures) and *SIRXQ12* with immune boosting (second line) metapopulation model . The mutant antigenic unit (red) is introduced in april 1st in Shenzen. Parameters : $R_0 = 2$; $1/\nu = 4$ days ; $1/g = 1$ year ; $\sigma_X = 0.3$ (top) or $\sigma_X = 0.39$ (bottom, chosen to maximize the RA). No seasonal forcing is assumed in the tropics and northern and southern hemisphere are forced with phase opposition ($t_{max}^{north} = 356$, $t_{max}^{south} = 173$) with intensity $\frac{\beta_{min}}{\beta_{max}} = 0.4$.

Sequential effect

We extend the previous analysis by considering the successive emergence of IAUs. When three or more IAUs are co-circulating it is necessary to specify the general function f that defines the cross-protection conferred by previous IAU exposures against infection by new IAUs. As stated by Adams & Sasaki (2007), very little empirical information relating to the shape of f is available and most previous models have used either a minimum or a multiplicative function. The minimum function assumes that only antibodies to the most related IAU of the host immune repertoire are produced. The multiplicative function assumes that antibodies of the entire host immune repertoire are produced and their net benefit is greater than either one of them alone. In reality, host immune response should lie between these two extrema. However, as the minimum function is the most extensively used by previous models and in the absence of any strong evidence for an alternative function, we choose to use it in this study.

The cross-protection factor σ_{Hk} is thus the same as the one previously described in section 4.3.2 : $\sigma_{Hk} = \min_{i \in H} \sigma_{ik}$ and since all IAUs have the same reinfection parameter $\sigma_{Hk} = \sigma_X$ if $k \in H$.

The specific cross-protection factor σ_{ik} encapsulates the evolution of antigenic distance between two IAUs where i and k refer to the order of emergence of both IAUs. Various forms can be chosen to describe this evolution but they are not without strong consequences (Adams & Sasaki, 2007). As a simple starting point, we will consider a linear function by assuming that $\sigma_{ik} = \sigma_X + \Delta\sigma|k - i|$ where $|k - i|$ is the kinship level between IAU i and IAU k . In agreement with experimental studies on influenza A/H3N2 antigenic clusters (Smith *et al.* (2004)), IAUs are sequentially introduced every 4 years in Shenzhen on april 1st with an initial seed of 100 infected hosts to prevent stochastic extinctions at the beginning of the invasion.

Simulations of the 5-IAUs *SIRX* stochastic metapopulation model confirm the high sensitivity of the model to $\Delta\sigma$. Immune escapes greater than 5% lead to unrealistic high epidemics as well as too long refractory periods compared to data (figure C.12 illustrates the effect of an increasing sequence of $\Delta\sigma$). As shown in the appendix, simulations where $\sigma_X \rightarrow \frac{1}{R_0}$ exhibit long periods of coexistence with old IAUs being maintained at low incidence.

In summary, realistic antigenic cluster replacement with the *SIRX* model appears possible only for a small range of cross-immunity parameters (σ_X

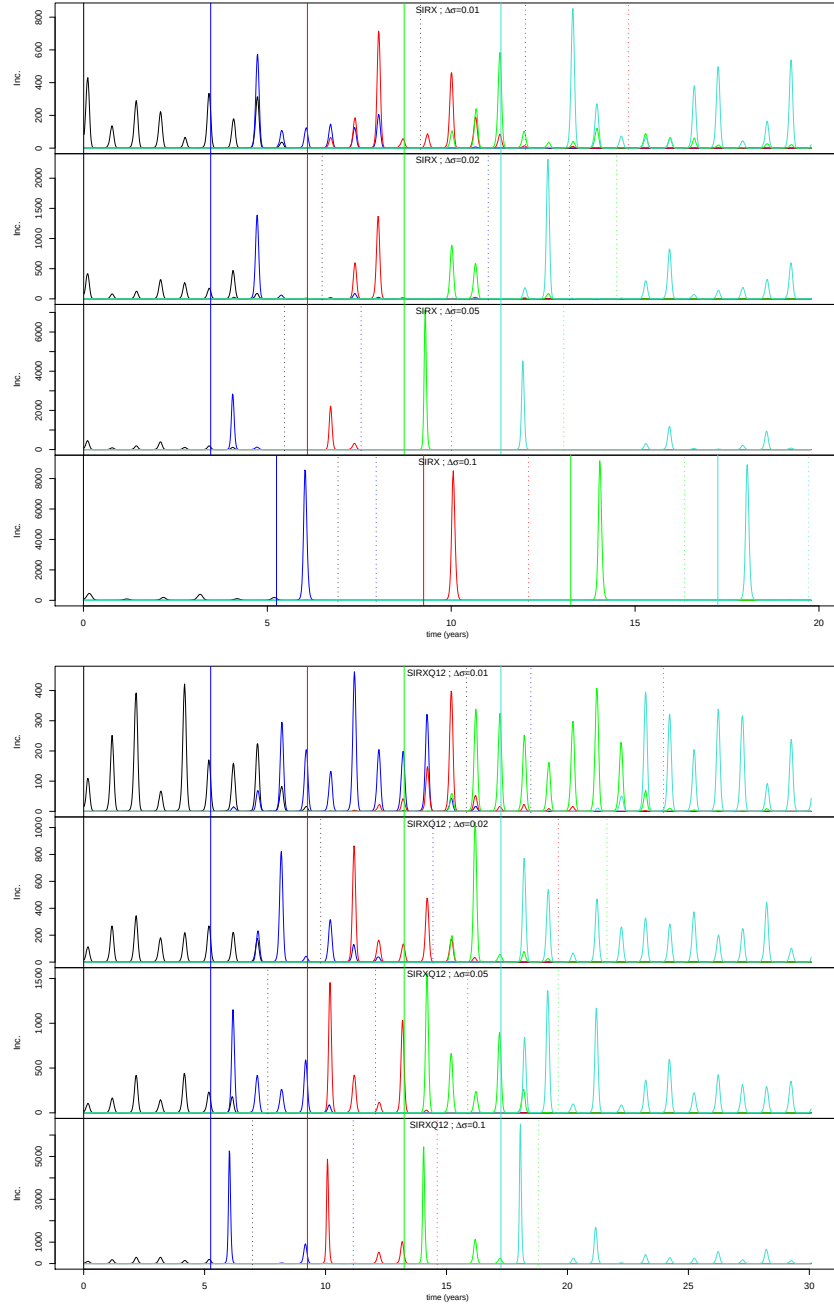


FIG. 4.6: Typical realisation of the *SIRX* model (top panel) and *SIRXQ12* model (bottom panel) with immune boosting in the stochastic metapopulation framework in the city of Paris. First IAU is at the endemic equilibrium and 4 other IAUs are sequentially introduced every 4 years in Shenzhen on april 1st with an initial seed of 100 infected hosts. y-axis is weekly incidence per 100 000 inhabitants. Parameters : $\sigma_X = 0.3$ and $\Delta\sigma \in \{0.01, 0.02, 0.05, 0.1\}$. Other parameters are identical to figure 4.5. Vertical plain (dotted) lines correspond to the introduction (worldwide extinction) times of the IAUs coded by colours. Corresponding annual attack rates are plotted in the appendix.

and $\Delta\sigma$). We have seen that to ensure recurrent epidemics with attack rates comparable to data, the reinfection parameter of each IAU (σ_X) must be smaller but close to $1/R_0$. Furthermore, for a fixed value of σ_X , the epidemic size of a newly introduced IAU is highly sensitive to its immune escape since $\Delta\sigma > 5\%$ results in unrealistic high epidemic size followed by too long refractory periods. On the other hand, when $\Delta\sigma < 5\%$ our *SIRX* model is able to reproduce the patterns observed in real data. Recently, Finkenstädt *et al.* (2005) have obtained similar estimates of immune escape intensity in a study using french influenza-like illness data as well as a model allowing for both gradual and punctuated renewal of susceptible. Despite conceptual differences between our two models, their punctuated immune escape estimates can be related to our $\Delta\sigma$ parameter. Their results show that punctuated immune escape are all smaller than 7% with 53% of the estimates $\leq 2\%$, 26.7% between 2 and 5 % and 20% between 5 and 7 %, which is in accordance with the values needed by the *SIRX* model. However, Finkenstädt *et al.* (2005) found 15 discrete antigenic jumps between the years 1985 and 2002, a pattern more related to noisy gradual antigenic drift than to rarer antigenic cluster transitions (on average, clusters remained dominant for 3.3 years (Smith *et al.*, 2004)).

From our side, the small amount of immune escape between IAUs when compared with the high amount of reinfection within IAU ($\Delta\sigma \ll \sigma_X$) seems not in agreement with previous studies on cross-protection and influenza A/H3N2 antigenic clusters. In 2004, Smith *et al.* have presented a 2D antigenic map of 273 viral isolates of human influenza A/H3N2. Their study reveals that strains tend to group in clusters rather than to form a continuous antigenic lineage. Since cross-immunity is closely related to antigenic distance, it is expected that cross-immunity within clusters is much higher than cross-immunity between clusters. For instance Koelle *et al.* (2009) considered a 60-80 % degree of cross-immunity between successive antigenic clusters and a full cross-immunity between strains belonging to the same cluster. With our notations, it amounts to considering $\sigma_X = 0$ and $\sigma_{ij} = \sigma_X + \Delta\sigma|i - j| = \Delta\sigma = 20 - 40\%$ where i and j are two successive IAUs. Figure 4.4 reveals that within this parameter range IAU replacement is impossible and complete extinction of both IAUs is observed (see also the appendix).

A more detailed discussion on the scale of Δ can be found in the discussion. In the next sections, we introduce factors that increase the range of immune escape leading to successful IAU replacement.

4.3.4 Functional constraints and evolutionary trade-off between immune escape and transmission

There is large evidence for functional constraints and evolutionary trade-off associated with IAU transitions (Rambaut *et al.*, 2008). Figure 4.2 reveals that $\alpha < 1$ impairs invasion of a mutant IAU even if $\sigma_{12} > \sigma_X$. Functional constraints can then result in higher values for $\Delta\sigma$ but it nevertheless remains to test to what extent a resident IAU can be replaced by an intrinsically less fit IAU mutant. The situation is all the more complicated to model as compensatory mutations are expected in nature. We address the question in a simple way by only examining the mutant invasion, assuming that the α parameter remains constant during the initial outbreak.

Figure 4.7 (see also the appendix) reveal that the functional constraints translate the RA into greater $\Delta\sigma$ values and allow higher antigenic distance between successive IAUs. In the other hand, the RA is significantly narrow comparing to figure 4.4 and new coexistence areas are observed. Given the existing variability observed in immune escape intensity such a situation can result in alternate periods of coexistence and replacement. However, the full study of this pattern will require a way to model compensatory mutations which is beyond the scope of this paper.

4.4 Temporary period of IAU-transcending immunity

4.4.1 Biological hypothesis

The existence of a period of temporary full protection against infection by any strain was originally proposed by Webster *et al.* (1992) to explain subtype replacement during pandemics *i.e.* when partial cross-protection ensured by anti-HA and NA antibodies is low. Webster *et al.* (1992) suggested that such full protection could be mediated by CD8+ T-lymphocyte response to the shared internal proteins among human influenza A virus.

Webster *et al.* (1992) prediction was confirmed by Ferguson *et al.* (2003) who also revealed that this period was of tremendous importance to restrict strain diversity during seasonal influenza in absence of antigenic clusters. These results were analysed by Tria *et al.* (2005) who argued that temporary strain-transcending immunity could only restrict strain diversity if it

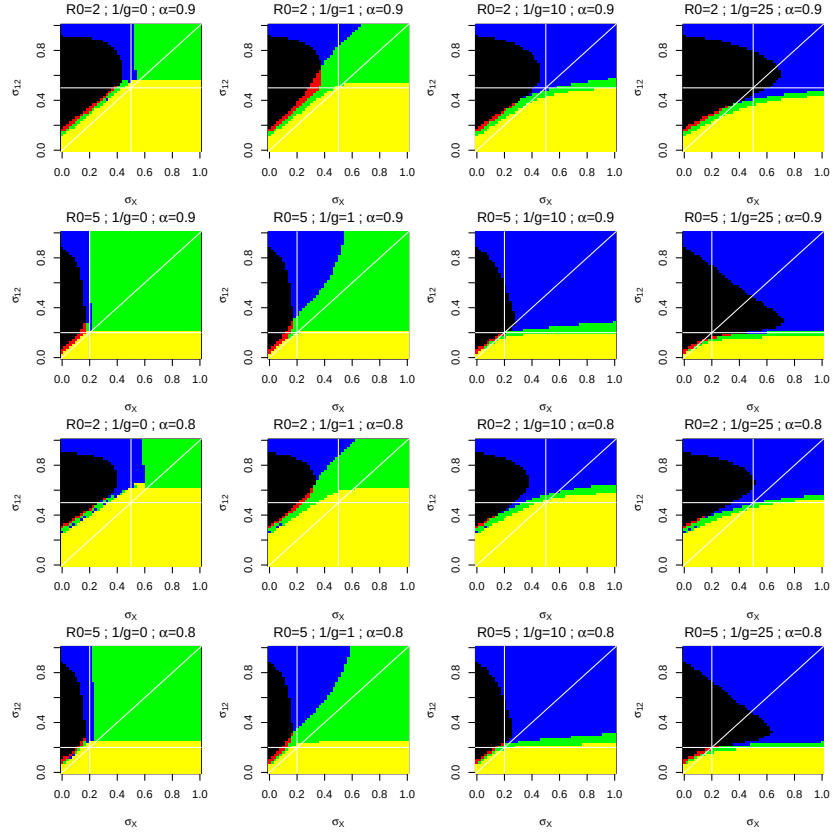


FIG. 4.7: Effect of functional constraints ($\alpha \in \{0.9, 0.8\}$) on the invasion outcome of a mutant IAU within a population where a resident IAU is at the endemic equilibrium for the *SIRX* model. Color legend is identical as figure 4.4

was coupled with a source of heterogeneity. One important difference between Ferguson *et al.* (2003) and Tria *et al.* (2005) individual based model was the way this period was introduced. In Ferguson *et al.* (2003) study, following exposure to a strain s (due to a close contact with an infectious host) the probability of becoming infected depends on the strain s and the host's immune repertoire H . But whatever the outcome of the exposure, the host acquires a short-lived strain-transcending immunity that we can mechanistically represent by a new class Q of expected duration $1/q = 6$ months. However, for a better understanding of what is “doing” the Q class we must detail the three ways a host enters it following exposure :

1. if $s \notin H$ and H fails to confer sufficient cross-protection, the host becomes infected, updates $H \rightarrow H \cup \{s\}$ and enters the Q class (case Q_1)
2. if $s \notin H$ and H confers sufficient cross-protection, the host escapes infection he does not updates H and enters the Q class (case Q_2)
3. if $s \in H$ the host escapes infection and enters the Q class (case Q_3)

The biological justification of Q_1 implies triggering of cellular immunity following infection, a process confirmed in various animals models (Grebe *et al.*, 2008) whereas Q_2 and Q_3 refer to the immune boosting assumption (Ferguson *et al.*, 2003). This interpretation is discussed further in the discussion. By contrast, Tria *et al.* (2005) implemented only the case Q_1 . As we show in the following, this could be responsible for the differing conclusions between the two models.

Figure 4.8 illustrates the three assumptions on the Q class in the context of IAU instead of strains as used in this paper.

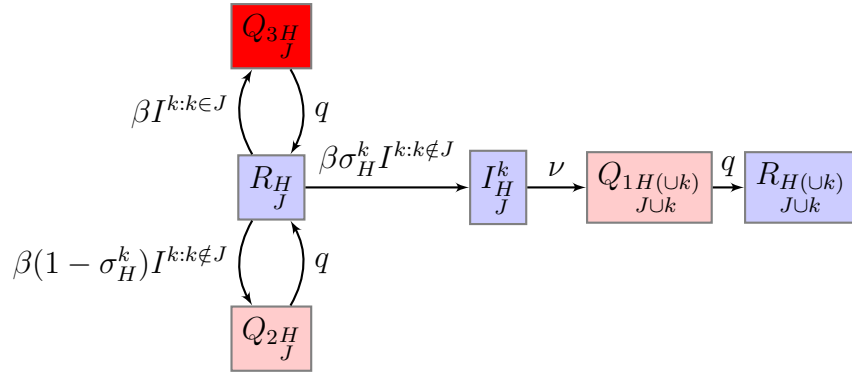


FIG. 4.8: Three mechanisms for the temporary period of IAU-transcending immunity (red boxes). When exposed to an IAU k that does not belong to the effective immune repertoire J ($k \notin J$), hosts enter Q_1 after infection whereas they enter Q_2 if their immune history H succeed in conferring immunity against k (and therefore avoid the infection). Hosts protected to k due to effective immunity ($k \in J$) always escape infection but nevertheless enter Q_3 after an exposure.

4.4.2 Extension of the simple *SIRX* model

Eq. (4.4) extends eq. 4.1 to incorporate the assumption of temporary IAU-transcending immunity under case Q_1 . Note also that co-infection is not allowed anymore. This model is labeled *SIRX* Q_1 .

$$\begin{aligned}
\dot{R}_\emptyset &= \mu N - \sum_k \beta_k(t) R_\emptyset \frac{I^k}{N} - \mu R_\emptyset \\
\dot{I}_{H \setminus k}^k &= \beta_k(t) \sigma_{Hk} R_H \frac{I^k}{N} - \nu I_{H \setminus k}^k - \sum_{m \in J \setminus k} g_m I_{H \setminus k}^k + \sum_{m \in (H \setminus (J \cup k))} g_m I_{(J \setminus k) \cup m}^k - \mu I_{H \setminus k}^k \\
\dot{Q}_J &= \sum_{k \in J} \nu I_{H \setminus k}^k + \sum_{k \in J} \nu I_{H \setminus k}^k - q Q_J - \sum_{m \in J} g_m Q_J + \sum_{m \in (H \setminus J)} g_m Q_{J \cup m} - \mu Q_J \\
\dot{R}_J &= q Q_J - \sum_{k \notin J} \beta_k(t) \sigma_{Hk} R_H \frac{I^k}{N} - \sum_{m \in J} g_m R_J + \sum_{m \in (H \setminus J)} g_m R_{J \cup m} - \mu R_J
\end{aligned} \tag{4.4}$$

where

$$I^k = \sum_{\substack{H \subseteq \mathbf{K} \\ J \subseteq H}} I_{H \setminus k}^k$$

and the number of equations is given by :

$$2 \sum_{k=0}^{N_K} \left(\binom{N_K}{k} \sum_{p=0}^k \binom{k}{p} \right) + \sum_{k=0}^{N_K} \left(\binom{N_K}{k} \sum_{p=0}^k \binom{k}{p} (N_K - p) \right)$$

In order to investigate the additional effect of assumption Q_2 we modify eq (4.4) and obtain eq (4.6). The corresponding model is labeled *SIRX* Q_{12} .

$$\begin{aligned}
\dot{R}_\emptyset &= \mu N - \sum_k \beta_k(t) R_\emptyset \frac{I^k}{N} - \mu R_\emptyset \\
\dot{I}_{H \setminus k}^k &= \beta_k(t) \sigma_{Hk} R_H \frac{I^k}{N} - \nu I_{H \setminus k}^k - \sum_{m \in J \setminus k} g_m I_{H \setminus k}^k + \sum_{m \in (H \setminus (J \cup k))} g_m I_{(J \setminus k) \cup m}^k - \mu I_{H \setminus k}^k \\
\dot{Q}_J &= \sum_{k \in J} \nu I_{H \setminus k}^k + \sum_{k \in J} \nu I_{H \setminus k}^k - q Q_J - \sum_{m \in J} g_m Q_J + \sum_{m \in (H \setminus J)} g_m Q_{J \cup m} - \mu Q_J \\
\dot{Q}'_J &= \sum_{k \notin J} -\beta_k(t) (1 - \sigma_{Hk}) R_H \frac{I^k}{N} - q Q'_J - \sum_{m \in J} g_m Q'_J + \sum_{m \in (H \setminus J)} g_m Q'_{J \cup m} - \mu Q'_J \\
\dot{R}_J &= q Q_J + q Q'_J + \sum_{k \notin J} -\beta_k(t) R_H \frac{I^k}{N} - \sum_{m \in J} g_m R_J + \sum_{m \in (H \setminus J)} g_m R_{J \cup m} - \mu R_J
\end{aligned} \tag{4.5}$$

As in the *SIRX* model, the reinfection limit of eq (4.4) (*SIRIQ*₁) and eq (4.6) (*SIRIQ*₁₂) is obtained as $g \rightarrow \infty$ (see the appendix).

$$\begin{aligned}
\dot{R}_\emptyset &= \mu N - \sum_k \beta_k(t) R_\emptyset \frac{I^k}{N} - \mu R_\emptyset \\
\dot{I}_{H/J \setminus k}^k &= \beta_k(t) \sigma_H^k R_H \frac{I^k}{N} - \nu I_{H/J \setminus k}^k - \sum_{m \in J \setminus k} g_m I_{H/J \setminus k}^k + \sum_{m \in H \setminus (J \cup k)} g_m I_{H/(J \setminus k) \cup m}^k - \mu I_{H/J \setminus k}^k \\
\dot{Q}_{1H} &= \sum_{k \in J} \nu I_{H/J \setminus k}^k + \sum_{k \in J} \nu I_{H/J \setminus k}^k - q Q_{1H} - \sum_{m \in J} g_m Q_{1H} + \sum_{m \in H \setminus J} g_m Q_{1H/J \cup m} - \mu Q_{1H} \\
\dot{Q}_{2H} &= \sum_{k \in K \setminus J} -\beta_k(t) (1 - \sigma_H^k) R_H \frac{I^k}{N} - q Q_{2H} - \sum_{m \in J} g_m Q_{2H} + \sum_{m \in H \setminus J} g_m Q_{2H/J \cup m} - \mu Q_{2H} \\
\dot{R}_H &= q Q_{1H} + q Q_{2H} + \sum_{k \in K \setminus J} -\beta_k(t) R_H \frac{I^k}{N} - \sum_{m \in J} g_m R_H + \sum_{m \in H \setminus J} g_m R_{H/J \cup m} - \mu R_H
\end{aligned} \tag{4.6}$$

We did not however investigate the effects of the three cases Q_{123} together (see the discussion for a justification).

4.4.3 Invasion threshold for the *SIRXQ*_{1/12} model

The general sufficient condition (SC) established in the appendix still holds and ensures that invasion of a mutant IAU (with the same basic reproduction number as the resident) whenever $\sigma_{12} > \sigma_X$. Otherwise, the invasion threshold is given by :

$$\sigma_{12} \geq \frac{1 - r_2 R_\emptyset^*}{r_2 (R_1^* + R_1^*)}$$

and show the large impact of functional constraints. As illustrated in figure 4.2 : compared to the simple *SIRX* model, σ_{12} values greater than one are needed to overcome the effects of functional constraints for low $1/g$ values.

4.4.4 Transient dynamics

Figure 4.4 (see also the appendix) illustrates the effects of a 6 month period of temporary IAU-transcending immunity on the invasion outcomes

of a mutant IAU in a population where a resident IAU is at the endemic equilibrium (see section 4.3.2 for protocol details). As a general consequence of both Q_1 and Q_2 classes is the significant increase of the $\Delta\sigma$ parameter range where IAU replacement occurs. This effect is achieved by transforming coexistence area (green) of figure 4.4 in replacement area (red) but also by enabling persistence of the mutant for parameter range where the invasion would have resulted in the extinction of both IAUs (black areas). This latter effect is particularly present for the $SIRXQ_{12}$ model except close to the reinfection limit where few effect of the Q_2 assumption can be detected. As already noticed by Ferguson *et al.* (2003) immune boosting (Q_2) therefore acts as an important density dependent constraint reducing incidence. This can be further confirmed in the appendix where attack rates increase slower as a function of immune escape $\Delta\sigma$ in the presence of immune boosting. As a last point, the effects of the $Q_{1/2}$ classes increases with R_0 (Figure 4.4).

Given the high sensibility of the $SIRX$ model to immune escape intensity, we will focus on the $SIRXQ_{12}$ model with immune boosting in the following.

4.4.5 Metapopulation dynamics

Figure 4.5 (see also the appendix) reveals that the conclusions of the analysis of the simple deterministic framework remain valid in the more realistic context of a worldwide metapopulation with seasonal forcing. Compared to the $SIRX$ model, the $SIRXQ_{12}$ model exhibit replacements for larger values of immune escape $\Delta\sigma$.

Sequential introduction of IAUs also corroborate the previous analysis. Figure C.12 (see also the appendix) illustrates successful IAU replacements for degree of immune escape where the $SIRX$ model exhibits too high peaks and too long refractory periods. However, these simulations where $R_0 = 2$ also confirm the high sensitivity of the attack rate to $\Delta\sigma$: at a given value of σ_X the RA is much greater in the $SIRXQ_{12}$ model than in the $SIRX$ model but the actual $\Delta\sigma$ value must remain of the order of 5% to reproduce empirical seasonal attack rates. Increasing R_0 can improve this situation as revealed by figure 4.9 where realistic annual attack rates are reproduced for $\Delta\sigma = 0.1$ and $R_0 = 5$.

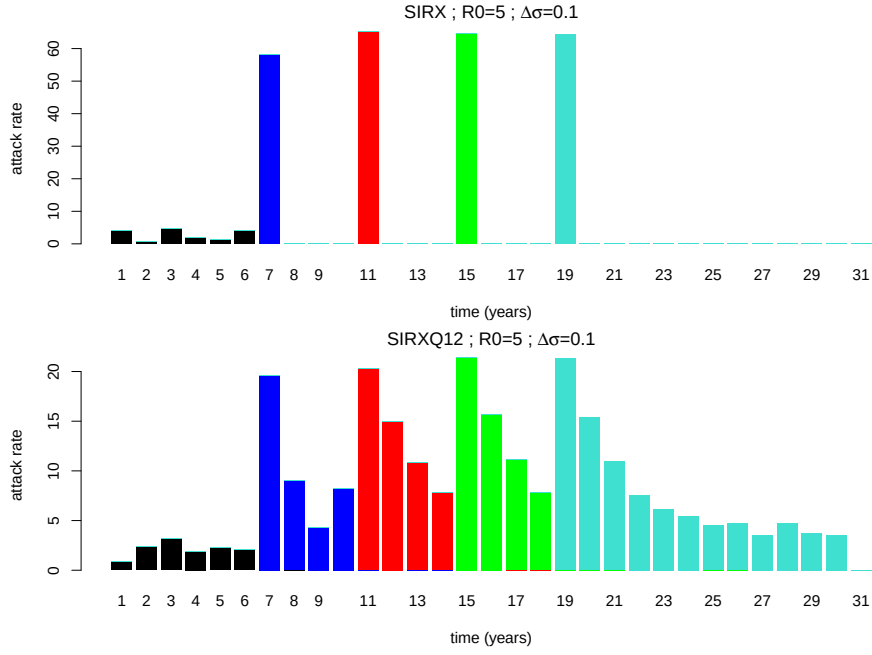


FIG. 4.9: Evolution of the annual attack rates in Paris for a typical realisation of the *SIRX* (top) and *SIRXQ12* with immune boosting (bottom) stochastic metapopulation models. Parameters are identical to figure C.12 except for $R_0 = 5$; $\sigma_X = 0.1$; $\Delta\sigma = 0.1$.

4.5 Discussion

The current H1N1 pandemics illustrates the continuous intrusion of avian (and swine) influenza genes into the human population. For instance Day *et al.* (2006) report that if evolutionary emergence of past pandemics had primarily occurred through viral reassortment in humans, then thousands of avian influenza virus infections of humans should have occurred each year for the past 250 years. In this study, we have proposed a general framework to handle the dynamics of these successful perturbations resulting generally in influenza subtype replacement. At the subtype level, a similar replacement dynamics takes place, antigenic clusters replacing each other every 1 to 8 years. As antigenic clusters replacement induce strong selective sweeps (Koelle *et al.*, 2006; Rambaut *et al.*, 2008), this process has recently been proposed as a key factor to restrict an otherwise ever-growing strain diversity.

At the heart of our framework is the recognition that influenza antigenic unit (IAU, either antigenic cluster or subtype) are subject to gradual antigenic drift (Suzuki, 2008; Shih *et al.*, 2007; Russell *et al.*, 2008). We coupled an implicit treatment of IAU gradual antigenic drift with Koelle *et al.* (2009) proposal of modelling rapidly evolving pathogens by focusing on the tempo of antigenic change instead of genetic changes. The resulting model called *SIRX* allows to track the dynamics of a considerably lower set of IAU than the previously used multi-strains models. The few number of IAUs enable us to use the comparatively less restrictive history-based framework with a state space scaling exponentially with the number of IAUs.

4.5.1 The *SIRX* framework for drifting co-circulating IAUs

The *SIRX* model represents an intermediate choice between the *SIRI* “reinfection” model of Gökyaydin *et al.* (2007) and the *SIRS* “gradual loss of immunity” model of (Pease, 1987).

We have shown that this model present an invasion threshold and have derived a sufficient condition (relevant for a large class of model allowing a flexible shape of the evolution of the probability of reinfection due to gradual antigenic drift) that ensures the invasion of a mutant IAU in a population where a resident IAU is at the endemic equilibrium. In the absence of functional constraints, this sufficient condition (SC) states that the inva-

sion threshold occurs only if infection by a given IAU confers less protection against strains belonging to the same IAU than against a new IAU. Since this condition seems like paradoxical we have mostly considered parameter range where this threshold was absent.

We have then shown that IAU replacement area was maximised for parameters close to the *SIRI* limit as $g \rightarrow \infty$. Particularly, absolutely no replacement areas were found for the *SIRS* limit ($\sigma_X = 1$). Further analysis will be necessary to establish to what extent (Gökaydin *et al.*, 2007) reinfection model can constitute a sufficient representation of an IAU subject to gradual antigenic drift.

The investigation of the transient dynamics of IAUs replacement using the *SIRX* model in a realistic worldwide metapopulation context has largely confirmed our preliminary determinist analysis. Successful IAU replacement are possible only for a small range of parameters. In particular, our analysis corroborate (Gökaydin *et al.*, 2007) results that within IAU the susceptible reduction factor must be smaller but close to the reinfection threshold $\sigma_X \lesssim 1/R_0$. Our most striking result is the high effect of the mutant IAU immune escape ($\Delta\sigma$) on the attack rate of the first outbreak as well as on the post-outbreak refractory period. Successful IAU replacement followed by realistic recurring epidemics occurred only for small immune escape values ($\Delta\sigma \approx 5\%$). As we show below in table 4.1 current estimates for antigenic cluster change are higher, on the order of 15%. For such high values, the *SIRX* model leads to dynamics close to pandemic situation with unrealistic high attack rates at cluster transitions.

Various factors can mitigate this high sensitivity to $\Delta\sigma$ and we have shown that a functional trade-off between transmission rate and immune escape ability could greatly help to reduce this gap. However, this trade-off hypothesis is more difficult to model and will necessitate additional processes to account for compensatory mutations. In this context the model of Gog (2008) is a significant improvement but should be re-analysed without the limitation induced by the *SBRI* framework.

We have also shown that the addition of a temporary period of full protection with immune boosting, as suggested by Ferguson *et al.* (2003), could improve the situation mostly by reducing the sharpness of the epidemics and transforming area where both the invading and the resident IAUs go extinct into successful replacement area. From a more biological standpoint we have shown that there were three ways to introduce this temporary period. Referring to section 4.4.1 we think that assumption Q_1 is biologically reasonable

	Smith <i>et al.</i> (2004)	Russell <i>et al.</i> (2008)
Pease (1987)	8.3 18.7	4.7 10.5
Finkenstädt <i>et al.</i> (2005)	12.3 27.7	6.9 15.6

TAB. 4.1: Percentage of immunity escape corresponding to : left value : 2 antigenic units change (equivalent to a fourfold difference in hemagglutination inhibition (HI) assay titer which is considered as a sufficient antigenic difference to warrant a vaccine update) right value : the average antigenic distance between the center of consecutive clusters (4.5 ± 1.3 in Smith *et al.* (2004)). Calculation were performed by using Smith *et al.* (2004) and Russell *et al.* (2008) estimates of the rate of evolution of antigenic drift at the phenotypic level (using hemagglutination inhibition (HI) assay titer) (resp. 1.2 and 2.13 unit per year) as well as Pease (1987) and Finkenstädt *et al.* (2005) inference of the rate of loss of immunity following an influenza infection (resp. 5% and 7.4% per year).

and empirically supported since it occurs after infection and that cellular immunity targeted toward conserved proteins is well known to participate viral clearance (Grebe *et al.*, 2008). By contrast, assumption Q_2 is less evident as it is unknown to what extent exposure that do not lead to infection can trigger a cellular immune response. For the same reason, we doubt on the relevance of assumption Q_3 as it concern host with an effective immunity where efficient long lived antibodies can repress the virus before viral replication ensure sufficient stimulation to trigger a cellular immune response. Recent studies tacking influenza A replacement patterns have emphasized the need for such temporary full-protective period (Ferguson *et al.* (2003); Minayev & Ferguson (2009a,b); Tria *et al.* (2005)) without precisely explaining the underlying biological assumptions. Our study reveals a significant effect of assumption Q_2 , and calls for better clarifications before using Q_2 and especially Q_3 .

Recent analysis (Kryazhimskiy *et al.* (2007); Ballesteros *et al.* (2009)) have revealed a similar issue with the multi-strains status-based model with reduced infectivity (*SBRI*) as introduced by Gog & Grenfell (2002); Koelle *et al.* (2006). Ballesteros *et al.* (2009) have for instance showed that the *SBRI* model results in significant cross immune boosting in contradiction with the original antigenic sin (Kim *et al.*, 2009). The Q_2 and Q_3 mechanism discussed previously are somewhat comparable to the cross immune boosting induces

by the *SBRI* with the important difference that boosting is only temporary (but strain transcending) and not mediated by a lifelong acquisition of effective immunity to antigenically distant strain in better agreement with the original antigenic sin.

In summary, our analysis reveals that the core of the replacement dynamics of drifting IAU (and therefore of selective sweep as the main mechanism of strain diversity reduction (Koelle *et al.*, 2006)) is already present in the simple *SIRX* model but that this model lacks a mechanism to reduce the sharpness of the epidemics following IAUs transitions. Such mechanisms could refer to functional constraints or short-lived strain-transcending immunity with immune boosting although this latter assumption call for more empirical evidence.

We also suggest that introducing an additional source of heterogeneity in our model would greatly improve its ability to reproduce IAU replacement as observed in data. It will be necessary for instance to relax the assumption of global mixing at the patch (city) level. Before such an analysis we think that our results cannot be used to infer level of heterotypic partial cross-immunity as the previously highlighted strong sensitivity to immune escape can induce important overestimation of this parameter of tremendous importance for public health and pandemic preparedness. By focusing on the phenotype level, the *SIRX* framework presented here and its mathematical structure is particularly adapted to be used with recently developed “plug and play” inference technique (Ionides *et al.*, 2006; Toni *et al.*, 2009). Such an analysis will be valuable to disentangle between the various process previously described. Particularly, we wonder to what extent complex immune boosting mechanisms (*SBRI* model or Q_{123}) are still necessary in a more heterogeneous local spatial context.

4.5.2 Noisy gradual antigenic drift or punctuated immune escape

As a last point, in its current form the presented models given their high sensitivity to immune escape of the mutant tends to support noisy gradual antigenic drift instead of strong punctuated immune escape. It is striking to observe how the *SIRX* model or especially the *SIRX* Q_{12} model with immune boosting perturbed with small immune escape (of the order of 5%) produced by IAU transitions are able to successfully reproduce observed in-

fluenza time series both qualitatively and quantitatively. Finkenstädt *et al.* (2005) analysis of French ILI data tends also to support this conclusion of noisy gradual antigenic drift as their inferred immune escape parameters are far lower than values expected during antigenic cluster transitions even with the presence of a scaling exponent to handle deviation from homogeneous mixing. Given the recent discussion on the fact that influenza antigenic evolution is punctuated or gradual (*e.g.* (Wolf *et al.*, 2006; Shih *et al.*, 2007; Suzuki, 2008)) and the recent discovery that purely gradual antigenic drift is sufficient to induce strong epidemic variability due to non linear dynamics effects (Ballesteros *et al.* 2009, submitted), the use of the statistical framework described above will be of tremendous interest to gain definitive insights with a mechanistic basis on these long standing questions.

Acknowledgements

This work was partially funded by the Région Ile-de-France and the “ANR-Agence Nationale de la Recherche – The French National Research Agency” under the project ANR 05SEST01802 BIOSCOPE.

Chapitre 5

Discussion

“I am sure that what any of us do, we will be criticized either for doing too much or for doing too little... If an epidemic does not occur, we will be glad. If it does, then I hope we can say... that we have done everything and made every preparation possible to do the best job within the limits of available scientific knowledge and administrative procedure.”

—US Surgeon General Leroy Burney, Meeting of the Association of State and Territorial Health Officers, August 28, 1957

Nous avons vu en introduction que la prise en compte de la variation antigénique à l'échelle d'une infection humaine permettait d'appréhender les différentes trajectoires évolutives ayant mené aux principales maladies infectieuses humaines. Une des questions à l'origine de ce travail concernait les conséquences populationnelles de la variation antigénique en s'appuyant sur le cas des épidémies de grippe A dans la population humaine. Nous avons vu qu'à cette échelle, l'immunité de la population est le principal facteur qui structure cette diversité antigénique et avons cherché à développer des modèles, les plus simples possibles, pour pouvoir étudier de manière précise la boucle de rétro-action entre immunité des populations, évolution virale et dynamique épidémiologique.

5.1 Résumé des principaux résultats

Notre première étude s'est ainsi intéressée aux répercussions des hypothèses effectuées pour décrire les systèmes multi-souches. Elle a été largement motivée par le changement de paradigme concernant le mode d'évolution des propriétés antigéniques de la grippe introduit par l'article de Koelle *et al.* (2006) et le débat qui a suivi visant à déterminer si cette évolution était ponctuelle ou plus graduelle. D'une manière remarquable, l'échappement ponctué à l'immunité de la population induit des balayages sélectifs capables de rendre compte des phylogénies observées pour HA1 ainsi que des dynamiques épidémiologiques. De plus, dans ce contexte, une période d'immunité temporaire totale agissant quelles que soient les souches ou les sous-types rencontrés n'est pas nécessaire pour réduire la diversité virale. D'un point de vue théorique, le changement est considérable car on passe d'un système où la diversité virale est contrôlée par un mécanisme de densité dépendance directe à un système où elle est contrôlée par les dynamiques transitoires de remplacements. Nous avons montré qu'en réalité cette différence était un peu moins marquée. En particulier, nous avons mis en évidence que les dynamiques du modèle utilisé par Koelle *et al.* (2006) (SBRI) différaient grandement de celles produites par les autres modèles utilisés pour décrire les systèmes multi-souches. Au coeur de cette divergence se trouve la combinaison de l'hypothèse d'une immunité polarisée avec le postulat que l'immunité croisée agit en réduisant totalement l'infectiosité. Cette combinaison implique que des individus complètement immunisés pour une souche donnée peuvent tout de même se faire réinfecter par celle-ci (il ne deviennent néanmoins pas infectieux) et ainsi, qu'ils bénéficient à chaque fois d'une chance d'acquérir une protection totale pour les souches immunologiquement réactives avec la souche rencontrée. Ce processus (absent dans tous les autres modèles étudiés) induit une immunité croisée beaucoup plus prononcée et tempère alors l'échappement à l'immunité ayant lieu lors d'un changement de cluster antigénique. Cette immunité additionnelle acquise grâce aux réinfections favorise le remplacement de l'ancien cluster résidant par le cluster émergent. Nous avons montré que ce processus de réinfection avec extension du répertoire immunitaire lors d'exposition aux souches auxquelles l'hôte est totalement immunisé (sans qu'il devienne infectieux) est largement contradictoire avec le péché antigénique originel (OAS). L'importance du péché antigénique originel a par ailleurs été soulignée récemment dans un article de Kim *et al.* (2009) mettant fin à la polémique soulevée par les

travaux de Wrammert *et al.* (2008). Devant l'incapacité des autres modèles n'incorporant pas ce processus à reproduire des dynamiques transitoires mimant qualitativement des changements de clusters, nous avons voulu savoir dans quelle mesure un modèle basé sur un scénario de dérive antigénique graduelle permettait de décrire d'une manière satisfaisante les données dont on dispose.

La théorie de l'échappement de l'immunité ponctuée offre un mécanisme intuitif pour expliquer la variabilité des épidémies de grippe observées dans la zone tempérée, les plus grands échappements à l'immunité induisant de plus grandes épidémies. Étant donnés nos résultats précédents, nous avons cherché à déterminer dans quelle mesure ce signal épidémiologique pouvait être un indicateur fiable des variations ponctuelles d'échappement à l'immunité. Nous avons donc regardé si le modèle le plus simple possible, mimant une dérive antigénique graduelle pouvait générer des dynamiques similaires à celles observées dans la zone tempérée. Cette étude a révélé que ce modèle déterministe produisait des dynamiques chaotiques mais avec la propriété remarquable d'être régulière. Ainsi notre modèle minimal génère des épidémies de tailles différentes chaque année, avec une légère variabilité dans la date de départ de l'épidémie, et ce avec un échappement à l'immunité parfaitement graduel, chaque individu ayant une probabilité constante par unité de temps de redevenir susceptible. Le caractère chaotique de la dynamique illustre en outre que même dans ce cas idéal, où la dérive antigénique est parfaitement prévisible, il existe un niveau d'indétermination fondamentale à notre capacité à prédire l'état du système. De manière intrigante, cet horizon de prédictabilité (déterminé par l'exposant de Lyapunov dominant) est de l'ordre de grandeur de 3 ans, durée moyenne de changement des clusters antigéniques. Nous avons également montré que cette dynamique, dite UPCA (pour Uniform Phase with Chaotic Amplitude), se produisait dans de larges zones de paramètres réalistes pour la grippe, y compris pour les paramètres que nous avons inférés à partir de deux jeux de données et qu'elle était robuste à différentes formes de perturbations (y compris la co-circulation de différents sous-types dans un contexte spatial réaliste). Ce modèle pourrait être en mesure de fournir une explication au constat que les saisons les plus sévères de grippe saisonnière ne sont pas toujours associées à des nouveautés antigéniques marquées et peuvent avoir lieu durant des années où un même cluster antigénique reste présent. Les épidémies de 1989-1990 au Royaume Uni ou de 1999-2000 aux USA en sont des illustrations remarquables (Viboud *et al.*, 2006b) et restent à ce jour à notre connaissance inexplicables.

Ce résultat, nous a amené à revisiter la théorie de l'évolution antigénique ponctuée de la grippe et à développer un formalisme suffisamment tractable et général pour pouvoir être utilisé dans un cadre d'inférence statistique. Pour ce faire nous avons utilisé l'approche de Koelle *et al.* (2009) qui se focalise uniquement au niveau du phénotype. Dans le contexte de la grippe, les clusters antigéniques constituent alors un niveau d'abstraction privilégié. Toutefois, étant donné l'importance de la dérive antigénique graduelle au sein d'un cluster antigénique (Shih *et al.*, 2007; Russell *et al.*, 2008), nous l'avons incorporée. Nous avons choisi de le faire d'une manière implicite, évitant encore de décrire de nombreuses souches. Ces simplifications nous ont permis de réduire considérablement le nombre de variables d'état nécessaires pour définir le système et ainsi de nous affranchir de la nécessité de devoir se limiter à des formalismes où le nombre d'équations augmente linéairement avec le nombre de souches (typiquement le modèle SBRI). A une autre échelle, ce formalisme permet aussi de décrire la dynamique de sous-types de grippe et donc d'étudier les conditions menant à leur remplacement durant les pandémies. L'analyse de ce système nous a conduit à un résultat surprenant. Il est en effet apparu impossible de pouvoir reproduire des remplacements de clusters antigéniques pour les distances antigéniques réalistes qui séparent ces clusters. Ce résultat pourrait signifier que l'évolution antigénique de la grippe est plus graduelle qu'on ne le pense car des échappements ponctués à l'immunité de la population produisent des épidémies trop violentes suivies de trop longues périodes réfractaires pour être comparable aux données. L'étude de Russell *et al.* (2008) utilisant un nombre beaucoup plus élevé de prélèvements que celle de Smith *et al.* (2004) (plus de 13000 face à 273) fournit quelques éléments de réponse allant dans le sens d'une dérive antigénique essentiellement graduelle bien que la période de leur étude (2002-2007) ne soit pas marquée par des changements de clusters antigéniques conséquents. Ce résultat surprenant peut aussi traduire l'importance des contraintes fonctionnelles, largement reconnue que ce soit sur le plan théorique (Belshaw *et al.*, 2008) ou sur le plan empirique (Rambaut *et al.*, 2008). Ces contraintes pourraient compenser le gain de fitness relative acquis par un nouveau cluster antigénique échappant à l'immunité de la population et ainsi éviter de trop grandes épidémies. Nous avons aussi considéré d'autres hypothèses et montré qu'une période temporaire d'immunité totale (classe Q) pouvait améliorer la capacité de notre modèle à reproduire les données, particulièrement si celle-ci est associée à un mécanisme de "boosting" immunitaire et des R_0 suffisant élevé pour que ce "boosting" ait un effet considérable. Dans ces conditions, les

individus partiellement protégés chez qui la protection partielle suffit à éviter l’infection se retrouvent quand même dans la classe Q . D’une manière plus classique, tous les individus infectés se retrouvent temporairement dans cette classe après guérison. Ce processus permet ainsi de réduire le nombre de susceptibles disponibles pour les nouveaux variants antigéniques et tempère alors l’intensité de l’épidémie faisant suite à un changement de cluster. La classe Q avec mécanisme de “boosting” rend donc les remplacements possibles de deux façons : en augmentant l’interaction compétitive entre les souches mais surtout, en tempérant les épidémies. Introduit sous cette forme, la classe Q n’est pas si différente du processus “caché” induit par le modèle *SBRI* mis en évidence au chapitre 2. Une différence de taille existe cependant entre ces 2 façons de “booster” l’immunité : la classe Q ne la “boost” que temporairement et sans mise à jour du répertoire immunitaire des hôtes ne succombant pas à l’infection, tandis que le modèle *SBRI* induit des extensions du répertoire immunitaire définitives lors d’expositions aux souches auxquelles l’hôte est totalement immunisé sans qu’il devienne infectieux, en désaccord avec l’OAS. Par ailleurs, là où le “boosting” est systématique avec la classe Q , il devient dépendant de la distance antigénique pour le modèle *SBRI*. Si la mise en évidence de ces mécanismes de “boosting immunitaire” constitue un résultat intéressant, on ne peut toutefois pas exclure un rôle important de l’hétérogénéité spatiale pour tempérer l’intensité des épidémies.

5.2 Perspectives

Le formalisme développé dans le chapitre 4 est suffisamment tractable pour être couplé à une approche d’inférence statistique et de sélection de modèles. Nous pensons donc qu’il permettra de mettre en avant les processus clés impliqués dans la phylodynamique de la grippe. En particulier, nous espérons pouvoir déterminer dans quelle mesure les processus complexes de “boosting” immunitaires sont nécessaires en présence d’une hétérogénéité spatiale locale accrue. Cela nous semble particulièrement important étant donné que, dans le contexte de la théorie de l’échappement à l’immunité ponctué, le rôle primordial des processus de “boosting” immunitaire (classe Q , modèle *SBRI*), semblent être de tempérer les épidémies. En effet, les modèles sans “boosting” immunitaire induisent suffisamment de compétition entre les clusters antigéniques pour provoquer des balayages sélectifs lors de l’apparition de nouveaux clusters, mais ils produisent alors des épidémies trop

violentes suivies de trop longues périodes réfractaires pour être réalistes. A ce titre, les approches visant à prendre en compte simplement l'hétérogénéité spatiale à une échelle locale sous la forme d'exposants sur les termes de la loi d'action de masse sont un outil précieux (Liu *et al.*, 1987; Roy & Pascual, 2006). De plus amples travaux sont nécessaires dans ce domaine pour mieux comprendre le rôle de ces exposants et déterminer s'ils sont à même de mimer implicitement l'effet des réseaux de contacts complexes de la population humaine.

En attendant ces confirmations, nos résultats révèlent que les processus d'acquisition de l'immunité à l'échelle individuelle peuvent avoir une importance considérable à l'échelle de la population. En particulier il nous apparaît essentiel que les possibilités d'un "boosting" immunitaire régi par la classe Q soient clarifiées empiriquement. Notre travail suggère spécialement la nécessité d'une meilleure compréhension de la façon dont interagissent les mécanismes du péché antigénique originel (OAS) et les processus immunitaires aboutissant à la mise en place d'une immunité cellulaire conférant une protection totale hétéro-sous-typique mais limitée dans le temps. Si ces 2 processus sont bien reconnus, que ce soit chez les modèles animaux (Grebe *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2009) ou lors d'études épidémiologiques chez l'homme (Slepshkin, 1959; Epstein, 2006), les mécanismes impliqués pour leur élicitation restent en partie à découvrir.

L'étude de Kim *et al.* (2009) offre une perspective intéressante à ce sujet car les auteurs proposent un mécanisme pour l'OAS. Leur étude suggère en effet que l'OAS pourrait être dû à une compétition entre les lymphocytes B mémoires partiellement réactifs et les lymphocytes B naïfs. Ceci se comprend en considérant une infection séquentielle par deux souches ($s1$ et $s2$) immunologiquement partiellement réactives. Comme le révèle l'étude de Kim *et al.* (2009), la première infection génère des anticorps spécifiques à $s1$ seulement, ainsi que des anticorps partiellement réactifs à $s2$. Cependant, la situation est différente lors de la seconde infection par la souche $s2$ car à présent, les anticorps partiellement réactifs envers $s2$, générés lors de l'infection par $s1$, dominent la réponse immunitaire et pénalisent le déclenchement d'une nouvelle réponse spécifique à $s2$. Ce phénomène pourrait s'expliquer par le fait que l'hémagglutinine permet un accrochage des virus à l'ensemble des lymphocytes B quel que soit leur récepteur caractéristique (BCR) via l'acide sialique. Cela pourrait favoriser la capacité des lymphocytes B à présenter les antigènes spécifiques des virus entrés en contact avec eux et ainsi biaiser la présentation des antigènes spécifiques en faveur des lymphocytes B, au

détriment des cellules dendritiques. Ce mécanisme pourrait conduire à des signaux d'activation sub-optimaux favorisant la réponse immunitaire médiée par les lymphocytes B mémoires seulement partiellement adaptés à s_2 par rapport à l'activation de lymphocytes B naïfs. Dans ce contexte, l'infection par s_2 conduira à une charge virale considérable au sein de l'hôte, bien que réduite par rapport à celle ayant lieu dans un hôte naïf (Kim *et al.*, 2009).

Au vu de ce mécanisme, dans le cas où l'OAS favorise une infection, il est réaliste de considérer que la composante cellulaire de la réponse immunitaire sera déclenchée pour éliminer le virus, conférant ainsi une protection totale de courte durée (Grebe *et al.*, 2008). La combinaison de l'OAS et de la classe Q sans “boosting” immunitaire, se comprend donc relativement bien lorsqu'une exposition par une souche proche se traduit par une infection. La situation est plus délicate dans le cas du “boosting” immunitaire ayant lieu lorsque l'exposition ne conduit pas à l'infection. Dans ce dernier cas, étant donné que l'hôte ne sera pas infectieux, on sait que sa charge virale sera relativement faible voire nulle si les anticorps présents chez l'hôte parviennent à neutraliser les virus très tôt. On peut donc se demander dans quelle mesure une telle infection est capable de déclencher une réponse immunitaire cellulaire. S'il a été montré qu'une vaccination pouvait suffire à déclencher la classe Q (Slepishkin, 1959), il est difficile de savoir dans quelle mesure une exposition n'engendrant pas d'infection peut être comparable à une vaccination. Lorsque l'OAS s'applique, peut-être que la charge virale est suffisamment élevée pour tout de même déclencher la classe Q , mais dans ce cas, l'hôte peut-il toujours être considéré non infectieux ? Une description plus fine entre charge virale et niveau d'infectiosité serait particulièrement précieuse dans ce contexte. Nous avons vu en introduction que l'emploi de modèles intra-hôtes relativement simples pouvait permettre de décrire cette relation avec un rôle important de la fonction de transmission (King *et al.*, 2009). La présence de nombreux individus asymptomatiques est en outre une incitation de plus pour regarder plus précisément dans cette direction (Carrat *et al.*, 2008).

Nous avons par ailleurs mis en évidence (annexe D) que les processus d'acquisition de la réponse immunitaire pouvaient être fortement variables selon que les hôtes soient naïfs ou pas. Pour se faire, nous nous sommes intéressés à la première apparition de H3N2 sur l'île isolée de Tristan da Cunha. Cette population où H3N2 est apparu seulement en 1971, soit 3 ans après la pandémie de ce sous-type, présente la particularité remarquable d'être exceptionnellement susceptible à la grippe, principalement en raison du très faible nombre

d'expositions des habitants de cette île isolée. De façon tout à fait surprenante, l'introduction de H3N2 dans cette île a produit deux épidémies successives de grippe (confirmée par des analyses sérologiques) séparées de moins d'un mois. Parmi les 284 habitants, 96% ont subi au moins une infection et 32% ont été infectés à deux reprises, l'essentiel des réinfections ayant lieu lors de la seconde vague. Nous avons cherché à déterminer quels processus étaient à même de rendre compte de cette situation. Nous avons adopté une approche de comparaison de modèles en mettant en contraste trois processus :

- La nécessité d'infections multiples avant de développer une immunité protectrice de longue durée (comme mise en évidence par Mathews *et al.* (2007)).
- Une protection seulement partielle après la première infection.
- Une mutation permettant au virus d'échapper à l'immunité contractée lors de la première vague.

Les résultats de cette analyse, décrits en détail en annexe D, nous ont permis de valider la première de ces hypothèses. Ainsi, ces deux vagues pandémiques sont en accord avec un modèle où seulement 50% des individus développent une immunité de longue durée après la première attaque. Il est difficile de savoir dans quelle mesure ce résultat est généralisable, cependant, nous pensons qu'un processus similaire pourrait avoir lieu de manière courante chez les individus immunologiquement naïfs et donc typiquement chez les enfants.

Ce résultat incite à prendre en considération le rôle des infections répétées. Si nous avons beaucoup parlé de distance antigénique dans ce travail de thèse, il nous semble important de clarifier par la suite le rôle du nombre d'infections dans l'acquisition d'une réponse immunitaire de plus en plus protégeante et robuste à la dérive antigénique virale. La réponse immunitaire cellulaire, dirigée contre des protéines conservées à un rôle considérable dans ce domaine et les infections multiples, en stimulant de plus en plus cette immunité, pourraient peut-être à terme la rendre plus persistante, contrecarrant ainsi l'échappement viral dû à la dérive antigénique (et favorisé par l'OAS favorisant à son tour les infections répétées et donc la possibilité d'augmenter une réponse immunitaire fortement réactive...). La suggestion que des infections naturelles (par opposition au vaccin) répétées par la grippe dans le jeune âge permettent une meilleure protection contre la grippe une fois âgé (en plus de poser des questions passionnantes sur les politiques vaccinales à adopter) incite fortement à regarder de plus près ces questions (Carrat *et al.*, 2006).

Une description fine des processus immunologiques peut avoir des répercussions importantes à l'échelle de la population. La complexité des modèles prenant en compte l'interaction de différents types antigéniques à l'échelle de la population rend pour le moment cependant difficile leur couplage avec des modèles décrivant la relation entre le système immunitaire et la population virale au niveau intra-hôte. A terme on peut toutefois espérer parvenir à trouver un formalisme adapté à cette tâche, peut-être sous la forme intermédiaire entre modèles individus centrés et systèmes dynamiques. Un tel cadre unifié nous permettrait alors d'appréhender de façon globale les interactions complexes et multi-échelles entre processus immunologiques, épidémiologiques et évolutifs.

Annexe A

Supporting Information : Influenza A gradual and epochal evolution : insights from simple models

Sébastien Ballesteros^{1,*}, Elisabeta Vergu², Bernard Cazelles^{1,3}

¹UMR 7625 (UPMC, ENS, AgroParisTech, CNRS), Ecole Normale Supérieure, Unit of Eco-Evolutionary Mathematics, 46 rue d'Ulm, F-75230 Paris Cedex 05, France.

² INRA, UR341 Mathématiques et Informatique Appliquées, F-78352 Jouy en Josas, France

³ UMMISCO UMI 209 IRD-UPMC, 93142 Bondy, France

**Corresponding author :*

E-mail : sebastien.ballesteros@biologie.ens.fr

A.1 Reaction scheme for the *SBRI* model

In the case of reduced susceptibility (*SBRS* model), the reaction scheme of table SA.1 remains the same except that the last 2 reactions do not occur.

reaction	rate
birth	
$R_\emptyset \rightarrow R_\emptyset + 1$	μN
death	
$R_\emptyset \rightarrow R_\emptyset - 1$	$\mu R_\emptyset$
$R_1 \rightarrow R_1 - 1$	μR_1
$R_1 \rightarrow R_2 - 1$	μR_2
$R_{12} \rightarrow R_{12} - 1$	μR_{12}
$I^1 \rightarrow I^1 - 1$	μI^1
$I^2 \rightarrow I^2 - 1$	μI^2
recovery	
$I^1 \rightarrow I^1 - 1$	νI^1
$I^2 \rightarrow I^2 - 1$	νI^2
I^1 production and R_1 only immunisation from $R_\emptyset$	
$R_\emptyset \rightarrow R_\emptyset - 1; R_1 \rightarrow R_1 + 1; I^1 \rightarrow I^1 + 1$	$(1 - \sigma)\beta_1 R_\emptyset I^1 / N$
I^2 production and R_1 only immunisation from $R_\emptyset$	
$R_\emptyset \rightarrow R_\emptyset - 1; R_1 \rightarrow R_1 + 1; I^2 \rightarrow I^2 + 1$	$(1 - \sigma)\beta_2 R_\emptyset I^2 / N$
I^1 production and R_{12} only immunisation from $R_\emptyset$	
$R_\emptyset \rightarrow R_\emptyset - 1; R_{12} \rightarrow R_{12} + 1; I^1 \rightarrow I^1 + 1$	$\sigma\beta_1 R_\emptyset I^1 / N$
I^2 production and R_{12} only immunisation from $R_\emptyset$	
$R_\emptyset \rightarrow R_\emptyset - 1; R_{12} \rightarrow R_{12} + 1; I^2 \rightarrow I^2 + 1$	$\sigma\beta_2 R_\emptyset I^2 / N$
I^1 production and R_{12} only immunisation from R_1	
$R_1 \rightarrow R_1 - 1; R_{12} \rightarrow R_{12} + 1; I^1 \rightarrow I^1 + 1$	$\beta_1 R_1 I^1 / N$
I^2 production and R_{12} only immunisation from R_1	
$R_1 \rightarrow R_1 - 1; R_{12} \rightarrow R_{12} + 1; I^2 \rightarrow I^2 + 1$	$\beta_2 R_1 I^2 / N$
R_{12} immunity acquisition from R_1 by I^1	
$R_{12} \rightarrow R_{12} + 1; R_1 \rightarrow R_1 - 1$	$\sigma\beta_1 R_1 I^1 / N$
R_{12} immunity acquisition from R_1 by I^2	
$R_{12} \rightarrow R_{12} + 1; R_1 \rightarrow R_1 - 1$	$\sigma\beta_2 R_1 I^2 / N$

TABLE A.1: Reaction scheme for the *SBRI* model

A.2 Critical community size for influenza

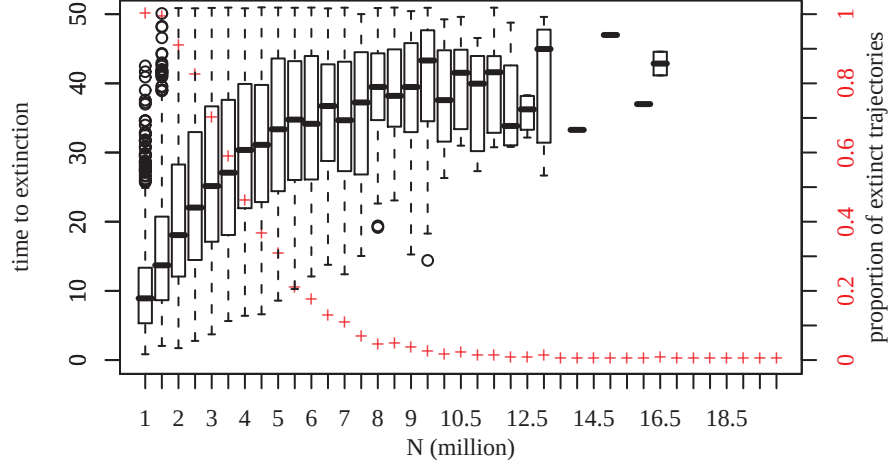


FIG. A.1: Endemic fadeouts obtained using the *SIR* stochastic model estimated by the distribution of the time to extinction. Red crosses represent the proportion of extinct trajectories after $T_{max} = 50$ years calculated on 1000 simulations. Initial conditions correspond to the endemic equilibrium of the deterministic model : $S = 200000$, $I = 250$ and $R = 799750$. Parameter values are given in Table 1 (theoretical set).

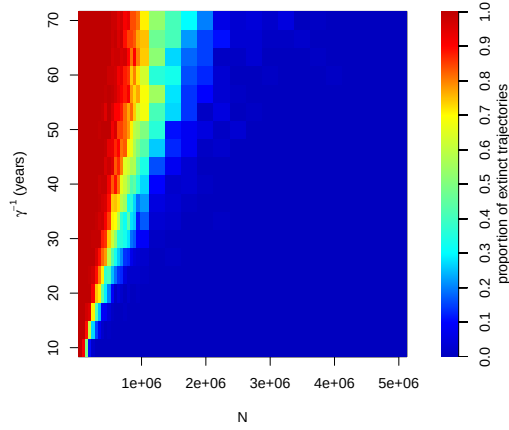


FIG. A.2: Effects of gradual antigenic drift on the CCS. We do not explicitly model mutant strains resulting from within gradual antigenic drift but consider that the emergence of new viral strains can be captured by introducing into the model a loss of immunity by the host, as originally suggested by Pease (1987). Gradual antigenic drift is therefore modelled by a *SIRS* model with demography. Parameter γ governs the transition from R to S , reproducing gradual immune escape. The proportion of extinct trajectories after $T_{max} = 50$ years calculated on 100 simulations is plotted. Initial conditions correspond to the endemic equilibrium of the deterministic model. Parameter values are given in Table 1 (theoretical set).

A.3 Complementary results for the theoretical parameters set

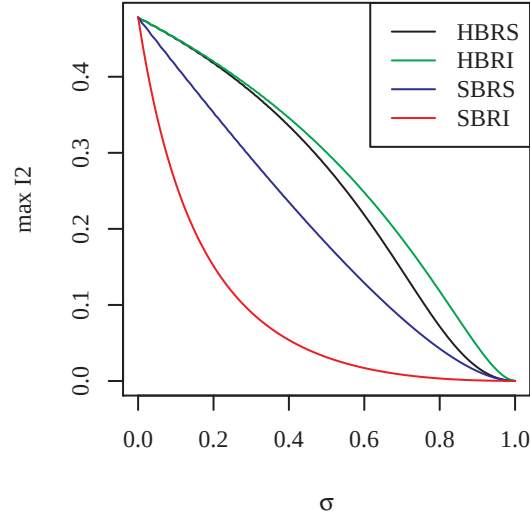


FIG. A.3: Peak value of the first outbreak of the mutant cluster as a function of partial cross-immunity (σ) for the four models studied. Parameter values are given in Table 1 (theoretical set). Initial conditions are : $I^1(0) = I^{1*} = 250.4 * 10^{-6}$, $I^2(0) = 10^{-6}$.

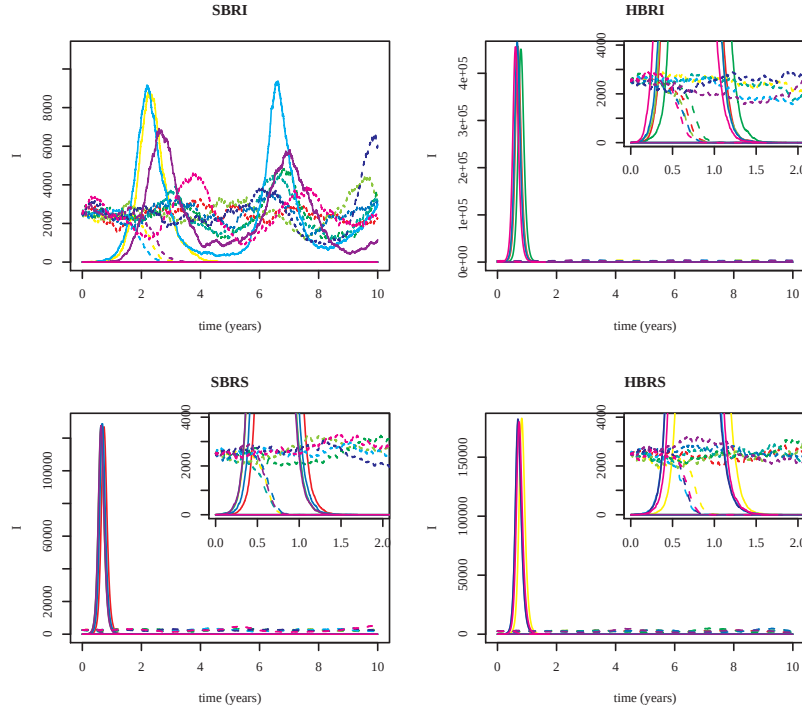


FIG. A.4: Ten realisations of the four stochastic models for $\sigma = 0.9$ (punctuated immune escape). Realisations are distinguished by different colours. Plain lines correspond to infectious hosts for the invader antigenic cluster and dashed lines to infectious hosts for the resident antigenic cluster.

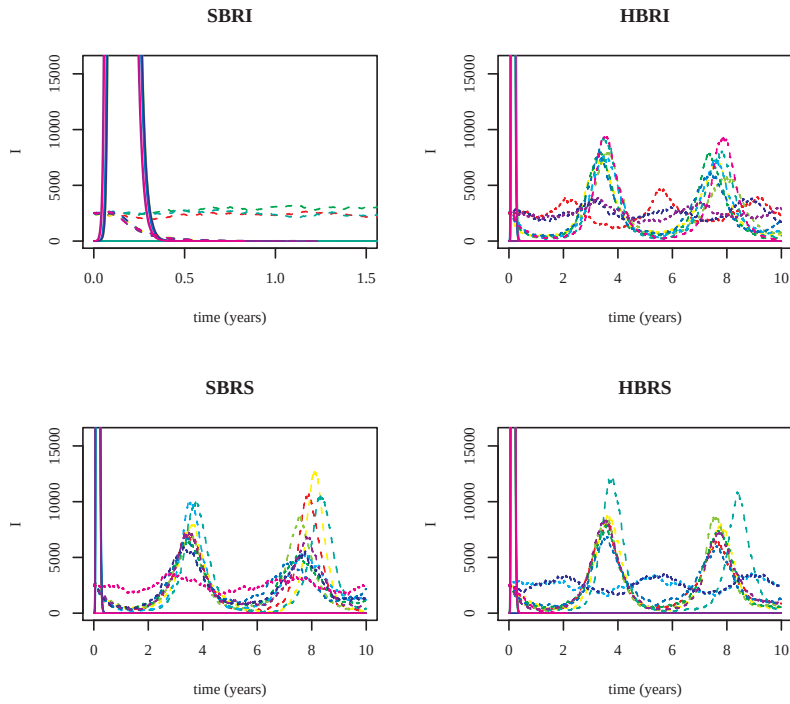


FIG. A.5: Ten realisations of the four stochastic models for $\sigma = 0.05$ (antigenic shift). Realisations are distinguished by different colours. Plain lines correspond to infectious hosts for the invader antigenic cluster and dashed lines to infectious hosts for the resident antigenic cluster.

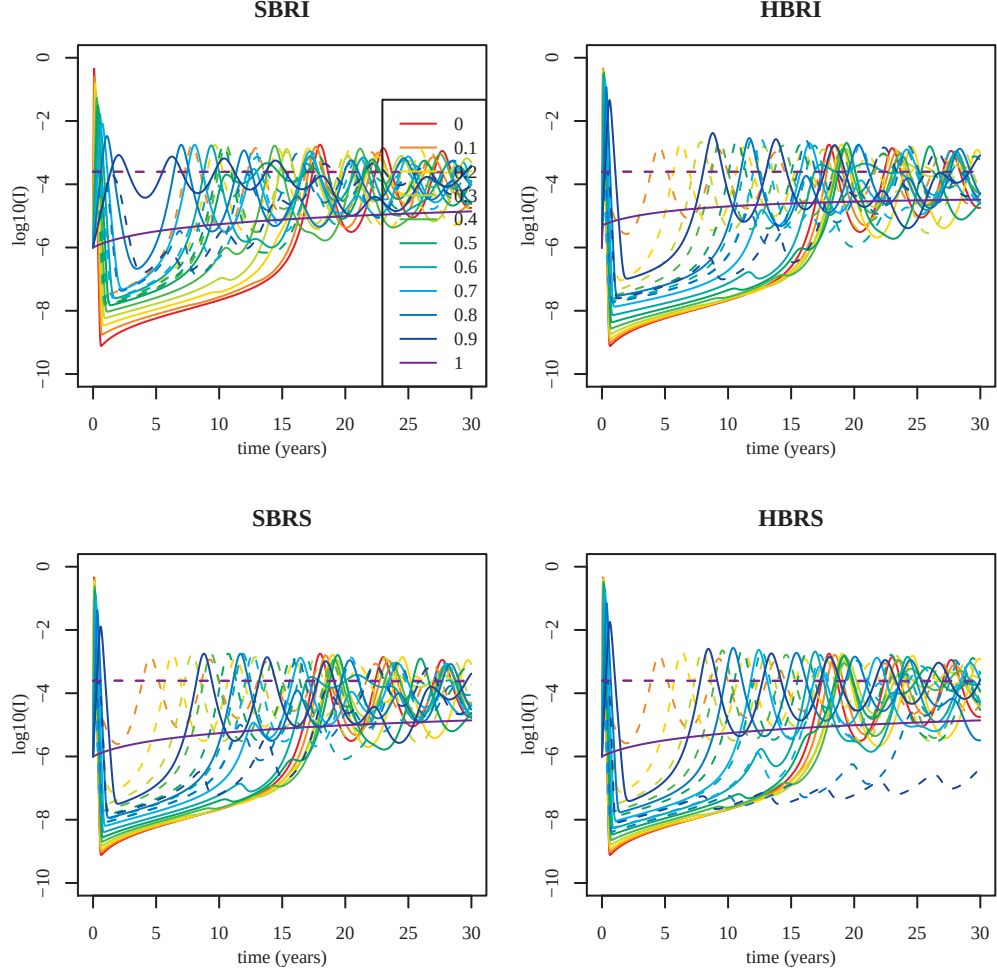


FIG. A.6: Transient invasion dynamics for the four two-cluster models studied in the presence of external reintroductions of infectious hosts. The decimal logarithm of the proportion of infectious hosts for the mutant antigenic cluster (plain lines) and for the resident cluster (dashed lines) is represented as a function of σ . Colours correspond to different partial cross-immunity (σ) values : from $\sigma = 0$ (antigenic shift, no cross-immunity) to $\sigma = 1$ (antigenic drift, full cross-immunity). Parameter values are given in Table 1 (theoretical set), $mp_i = 10^{-8}$. Initial conditions are : $I^1(0) = I^{1*} = 250.4 * 10^{-6}$, $I^2(0) = 10^{-6}$.

A.4 A model for within cluster antigenic drift

Within cluster antigenic drift is introduced by assuming that viruses present two parts :

- a conserved part, identical for both clusters whose phenotype cannot evolve.
- a specific part, subject to slight phenotypic variation following quasi-neutral mutation.

Partial cross-immunity is provided by the conserved part. Gradual antigenic drift induces continuous changes of the specific part and, new specific parts are introduced following immune escape mutations. We further assume that a primary immune response results in the acquisition of immune memory toward both the conserved and the specific parts.

We note σ and σ_s ($\sigma, \sigma_s \in [0, 1]$) the degrees of protection provided respectively by immunity to the conserved and the specific part of the virus. We assume additivity of cross protection with the constraint that $\sigma + \sigma_s \leq 1$.

In case where we assume that within cluster antigenic drift results in strains diversity rendering intra-cluster immunity only partial, the previous assumption enables to recover Gökaydin *et al.* (2007) *SIRI* model. Reinfections with strains belonging to a cluster for which hosts have been immunised occur with a reduced probability $(1 - (\sigma + \sigma_s))$. Infections by strains belonging to a mutant cluster never encountered by the hosts occur with a reduced probability $(1 - \sigma)$

In case where we assume that within antigenic clusters evolution results in a progressive loss of immunity as proposed by Pease (1987) (*SIRS* framework) we introduce a parameter (γ) governing the rate of antigenic drift. Infections of naive hosts by strains belonging to cluster i confer full immunity toward strains of cluster i ($\sigma + \sigma_s = 1$, R_{Ci} hosts in figure 8 of the main text). Antigenic drift affects the specific part of the virus belonging to cluster i and induces a loss of immunity toward the specific part after a time governed by a rate γ ($R_{Ci} \rightarrow R_C$). R_C hosts can then be reinfected by strains belonging to cluster i but with a reduced probability $(1 - \sigma)$ due to immunity provided by the conserved part. The conserved part also ensures that R_{Ci} and R_C hosts have a reduced probability $(1 - \sigma)$ to be infected by strains belonging to cluster j (partial cross-immunity).

We formulate the model of figure 7 (main text) using an *HBRS* framework and neglecting co-infections in order to compare it to Gökaydin *et al.* (2007) model. These assumptions lead to the following equations :

$$\begin{aligned}
\dot{R}_\emptyset &= \mu - \beta_1 R_\emptyset(I_\emptyset^1 + I_2^1) - \beta_2 R_\emptyset(I_\emptyset^2 + I_1^2) - \mu R_\emptyset \\
\dot{I}_\emptyset^1 &= \beta_1 R_\emptyset(I_\emptyset^1 + I_2^1) + (1 - \sigma)\beta_1 R_C(I_\emptyset^1 + I_2^1) - \nu_1 I_\emptyset^1 - \mu I_\emptyset^1 \\
\dot{I}_\emptyset^2 &= \beta_2 R_\emptyset(I_\emptyset^2 + I_1^2) + (1 - \sigma)\beta_2 R_C(I_\emptyset^2 + I_1^2) - \nu_2 I_\emptyset^2 - \mu I_\emptyset^2 \\
\dot{R}_{C1} &= \nu_1 I_\emptyset^1 - (1 - \sigma)\beta_2 R_{C1}(I_\emptyset^2 + I_1^2) - \gamma_1 R_{C1} + \gamma_2 R_{C12} - \mu R_{C1} \\
\dot{R}_{C2} &= \nu_2 I_\emptyset^2 - (1 - \sigma)\beta_1 R_{C2}(I_\emptyset^1 + I_2^1) - \gamma_2 R_{C2} + \gamma_1 R_{C12} - \mu R_{C2} \\
\dot{R}_C &= \gamma_1 R_{C1} + \gamma_2 R_{C2} - (1 - \sigma)\beta_1 R_C(I_\emptyset^1 + I_2^1) - (1 - \sigma)\beta_2 R_C(I_\emptyset^2 + I_1^2) - \mu R_C \\
\dot{I}_2^1 &= (1 - \sigma)\beta_1 R_{C2}(I_\emptyset^1 + I_2^1) - \nu_1 I_2^1 - \mu I_2^1 \\
\dot{I}_1^2 &= (1 - \sigma)\beta_2 R_{C1}(I_\emptyset^2 + I_1^2) - \nu_2 I_1^2 - \mu I_1^2 \\
\dot{R}_{C12} &= \nu_1 I_2^1 + \nu_2 I_1^2 - \gamma_2 R_{C12} - \gamma_1 R_{C12} - \mu R_{C12}
\end{aligned}$$

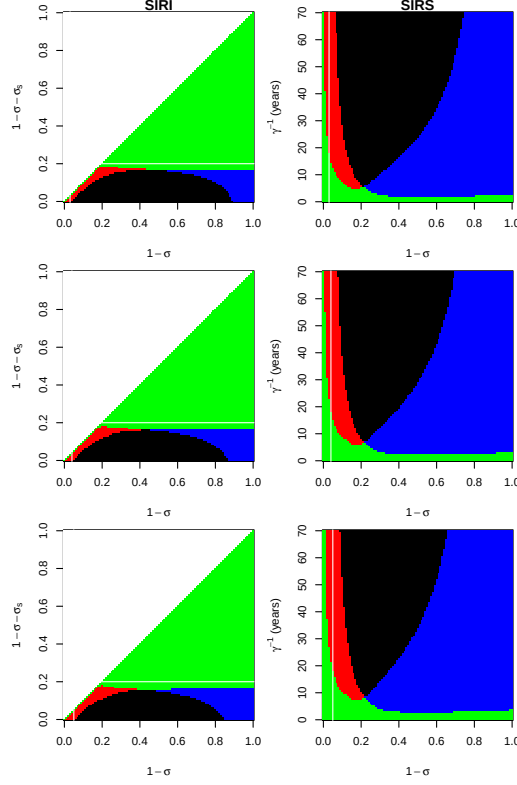


FIG. A.7: Effect of the introduction of within cluster gradual antigenic drift on the outcome of the invasion of a new antigenic cluster. Comparison of the *SIRS* model (right) described in figure 7 and section 4 of the appendix with the *SIRC* model of Gökyaydin *et al.* (2007) (left). x-axis scale the amount of immune escape achieved by the mutant antigenic cluster. y-axis represent a measure of within cluster antigenic drift (see section 3 of the appendix for details). Colours : both antigenic clusters go extinct (black), the resident cluster only goes extinct (successful replacement, red) ; the mutant cluster only goes extinct (blue) ; no cluster goes extinct (coexistence, green). Extinction threshold is set at $N = 10^{-6}$ (top panels), $N = 10^{-7}$ (middle panels) and $N = 10^{-8}$ (bottom panels). Parameter values are given in Table 1 (theoretical set). The horizontal white lines of the right graphs situates the reinfections thresholds of the *SIRC* models ($1 - \sigma - \sigma_s = \frac{1}{R_0}$). The vertical white lines set the highest immune escape intensity ($1 - \sigma$) for which the same model without within cluster antigenic drift predicts replacements.

A.5 Functional constraints

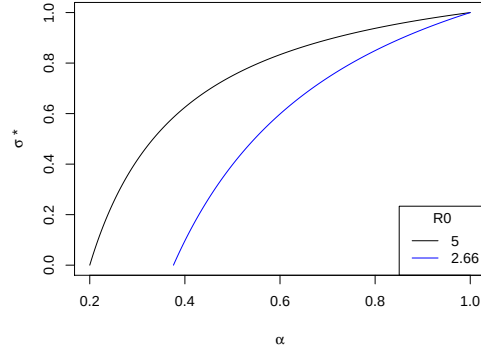


FIG. A.8: Effect of the fitness reduction (mutant transmission rate β reduced by a factor α) associated with immune escape plotted for different values of the resident cluster R_0 . The threshold value of σ (σ^*) needed to ensure the mutant cluster invasion is plotted against α .

Annexe B

Supporting Information : Chaotic but regular recurrent influenza epidemics : from theory to observation

Sébastien Ballesteros^{1,*}, Lewi Stone², Anton Camacho¹, Elisabeta Vergu³,
Bernard Cazelles^{1,4}

¹UMR 7625 (UPMC, ENS, AgroParisTech, CNRS), Ecole Normale Supérieure, Unit of Eco-Evolutionary Mathematics, 46 rue d'Ulm, F-75230 Paris Cedex 05, France.

²Biomathematics Unit, Faculty of Life Sciences, Tel Aviv University, Ramat Aviv 69978, Israel

³INRA, UR341 Mathématiques et Informatique Appliquées, F-78352 Jouy en Josas, France

⁴ UMMISCO UMI 209 IRD-UPMC, F-93142 Bondy, France.

**Corresponding author :*

E-mail : sebastien.ballesteros@biologie.ens.fr

B.1 Models

B.1.1 A minimal model for two subtypes of influenza A interacting via a short period of full cross-immunity

Fig. B.1 presents a schematic representation of the model described by eq. 2 in the main manuscript, for the two-subtype case.

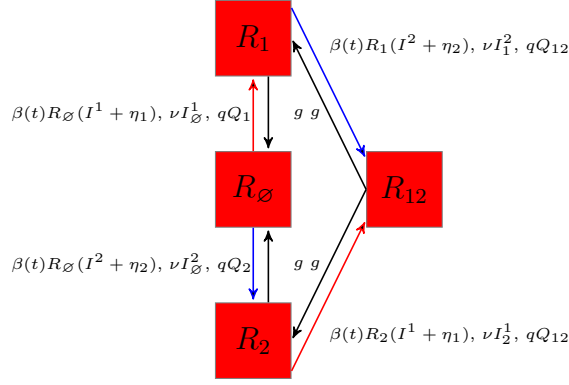


FIG. B.1: A minimal model for two subtypes of influenza A interacting via a short period of full cross-immunity (Q) of average duration $1/q$. With the notation of eq. 2 of the main manuscript, $J = \{\{\emptyset\}, \{1\}, \{2\}, \{1, 2\}\}$ and indicates the current level of immunity; k indexes the co-circulating subtypes ($k = 1, 2$). Infection (transition from states $R_{J \setminus k}$ to R_J) are represented by red and blue arrows for subtypes 1 and 2. During the transition, hosts pass through states $I_{J \setminus k}^k$ and Q_J as indicated on the arrows. As the viral population evolves, hosts can loose immunity (black arrows).

B.1.2 Stochastic metapopulation model with age structure

Eq. 2 (main manuscript) was extended to a stochastic metapopulation model of 52 cities depicted in Fig. B.2 and indexed by c_l in the equations below.

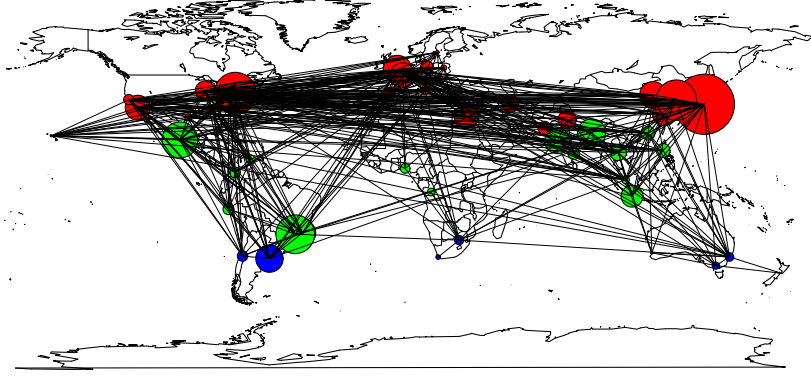


FIG. B.2: Overview of the network of 52 major cities used in the stochastic metapopulation model. Circle areas and connection lines width are proportional to city sizes and air transportation flows respectively. Red, green and blue indicate the three geographic area used (North, Tropics, South respectively).

$$\begin{aligned}
\dot{R}_{a_i, c_l}^J &= qQ_{a_i, c_l}^J - \sum_{k \notin J} \sigma_{a_i}^k \beta_k(t) \frac{R_J}{p_{a_i} N_{c_l}} \sum_j M_{ij} I_{a_j, c_l}^k - \sum_{k \in J} g_k R_{a_i, c_l}^J + \sum_{k \notin J} g_k R_{a_i, c_l}^{J \cup k} \\
\dot{E}_{a_i, c_l}^{J \setminus k} &= \sigma_{a_i}^k \beta_k(t) \frac{R_{J \setminus k}}{p_{a_i} N_{c_l}} \sum_j M_{ij} I_{a_j, c_l}^k - 2\gamma E_{a_i, c_l}^{J \setminus k} - \sum_{m \neq l} \frac{p_{a_i} \tau_{c_l c_m}}{N_{c_l}} E_{a_i, c_l}^{J \setminus k} - \sum_{m \in J \setminus k} g_m E_{a_i, c_l}^{J \setminus k} + \sum_{m \notin J \setminus k} g_m E_{a_i, c_l}^{(J \setminus k) \cup m} \\
\dot{E}_{a_i, c_l}^{J \setminus k} &= 2\gamma E_{a_i, c_l}^{J \setminus k} - 2\gamma E_{a_i, c_l}^{J \setminus k} + \sum_{m \neq l} \frac{p_{a_i} \tau_{c_l c_m}}{N_{c_l}} E_{a_i, c_l}^{J \setminus k} - \sum_{m \neq l} \frac{p_{a_i} \tau_{c_l c_m}}{N_{c_l}} E_{a_i, c_l}^{J \setminus k} - \sum_{m \in J \setminus k} g_m E_{a_i, c_l}^{J \setminus k} + \sum_{m \notin J \setminus k} g_m E_{a_i, c_l}^{J \setminus k} \\
\dot{I}_{a_i, c_l}^{J \setminus k} &= 2\gamma E_{a_i, c_l}^{J \setminus k} - 2\nu I_{a_i, c_l}^{J \setminus k} + \sum_{m \neq l} \frac{p_{a_i} \tau_{c_l c_m}}{N_{c_l}} E_{a_i, c_l}^{J \setminus k} - \sum_{m \in J \setminus k} g_m I_{a_i, c_l}^{J \setminus k} + \sum_{m \notin J \setminus k} g_m I_{a_i, c_l}^{(J \setminus k) \cup m} \\
\dot{I}_{a_i, c_l}^{J \setminus k} &= 2\nu I_{a_i, c_l}^{J \setminus k} - 2\nu I_{a_i, c_l}^{J \setminus k} - \sum_{m \in J \setminus k} g_m I_{a_i, c_l}^{J \setminus k} + \sum_{m \notin J \setminus k} g_m I_{a_i, c_l}^{(J \setminus k) \cup m} \\
\dot{Q}_{a_i, c_l}^J &= \sum_{k \in J} 2\nu I_{a_i, c_l}^{J \setminus k} - qQ_{a_i, c_l}^J - \sum_{k \in J} g_k Q_{a_i, c_l}^J + \sum_{k \notin J} g_k Q_{a_i, c_l}^{J \cup k}
\end{aligned}$$

where $\frac{p_{a_i} \tau_{cm c_l}}{N_{c_l}}$ are probabilities that a host of age class a_i situated in city c_l of size N_{c_l} travels from city c_l to city c_m (value given in (Grais *et al.*, 2003)). Three age classes (a_i) were considered, with $a_1 = 0-19$ years old, $a_2 = 20-59$ years old and $a_3 \geq 60$ years old. City specific population sizes (N_{c_l}) and age distributions p_{a_i} were taken from <https://www.cia.gov/library/publications/the-world-factbook/> and <http://unstats.un.org/unsd/demographic/>. To increase realism, exposed period was added (E) and exposed and infectious classes were doubled (E_1, E_2 and I_1, I_2) to ensure that the exposed and infectious period followed Erlang distributions (which are more realistic than memoryless exponential distributions usually employed for sojourn times). Following Cooper *et al.* (2006) it was assumed that only exposed individuals traveled.

B.1.3 Numerical Methods

Eq. 1 and 2 (of the main manuscript) were integrated by a Runge Kutta method of order 4-5 with adaptive time step algorithm provided by the C library GSL (Galassi *et al.*, 2003).

The stochastic metapopulation model was integrated using an Euler-multinomial approximation of the continuous-time Markov process (Breto *et al.*, 2009) written in C and using library GSL (Galassi *et al.*, 2003) for random number generation and distribution.

B.2 Parameter inference

B.2.1 Methods

To compare the UPCA model to real data, we have implemented a stochastic version of eq. 1 model described in the main manuscript using an Euler-multinomial approximation to the continuous-time Markov process. A dephasing term d was added to the seasonal forcing function : $\beta(t) = \beta_0(1 + e \cos(2\pi t + d2\pi))$.

We have contrasted the realisation of the process model (x_t) with weekly incidence data (y_t).

Two data sets were used : weekly incidence rates for Influenza Like Illness (ILI) of region Ile de France (Paris and its surrounding area) from the French Sentinelles network and daily ILI data for Israel (LEWI, source). The French Sentinelles data (<http://websenti.b3e.jussieu.fr/sentiweb/>) correspond to consultations for ILI declared by a network of volunteer general practitioners. As the data come normalised per 100 000 hosts, we have followed (Finkenstädt *et al.*, 2005) and kept the population size fixed to 100 000 hosts. For Israel, the population size was taken equal to 1822438 LEWI,source

Simulated weekly incidence rates were computed as $x_t = \int_{t-1}^t \nu I(t)dt$ and contrasted to the real weekly reported incidence, y_t , with an observation process characterized by a reporting rate (ρ). We set $Y_t|\rho_t, x_t \sim P(\rho_t, x_t)$ (where P stands for the Poisson distribution) and, to account for Overdispersion, we allow variability in the reporting rate by assuming that $\rho_t \sim \Gamma(\frac{1}{\phi}, \rho\phi)$ (where Γ is the gamma distribution). The observation process is then fully described by a negative binomial distribution (NB) : $Y_t|x_t \sim NB(\text{mean} = \rho x_t, \text{size} = \frac{1}{\phi})$.

Parameter inference was achieved through an implementation of a maximum likelihood approach via iterated filtering (MIF) (Ionides *et al.*, 2006; Breto *et al.*, 2009) written in C, using the standalone math library from R (R Development Core Team, 2008) for random number generation and distribution.

B.2.2 Results for Ile de France data

The results of the inference procedure are presented in Fig. B.3.

A strong correlation between β_0 and g was found as reported in Fig. B.4.

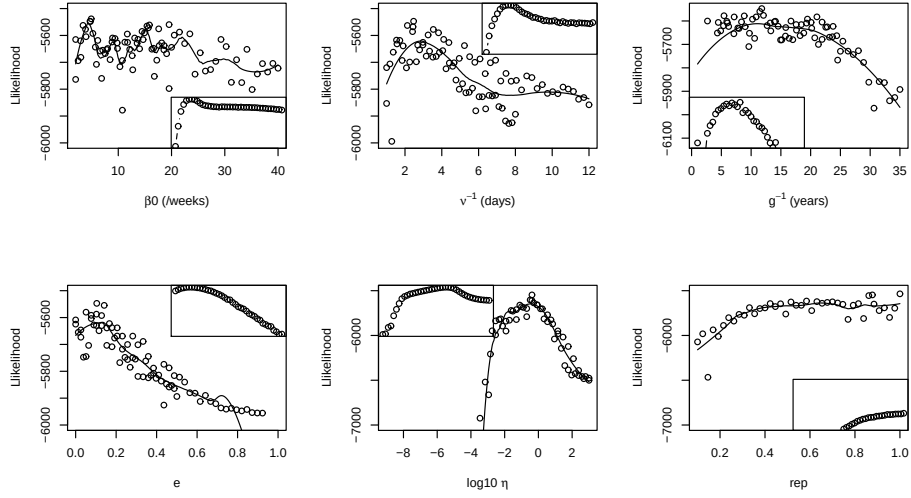


FIG. B.3: Likelihood profiles (likelihood value following the evolution of a focal parameter, the others parameters being re-estimated by MIF) and likelihood slices (likelihood value fixing the value of all but the focal parameter at their maximum likelihood estimate) (inset). A stochastic version of the single subtype model with an observation process following a negative binomial distribution is fitted to the ILI French Sentinelles network data for Ile de France region. Two replications with different initial condition and algorithm parameters are plotted and local quadratic regression is used to estimate the profile likelihood.

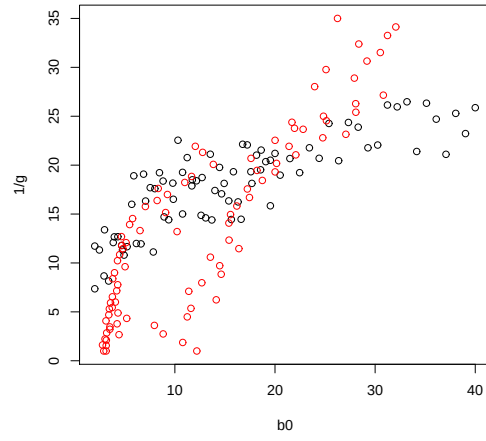


FIG. B.4: Correlation between β_0 and g calculated for two replications with different initial condition and parameters. Black : β_0 is fixed and the inferred value of g is plotted. Red : g is fixed and the inferred value of β_0 is plotted. For each case, the other parameters are re-estimated to their maximum likelihood value.

B.2.3 Results for Israel data

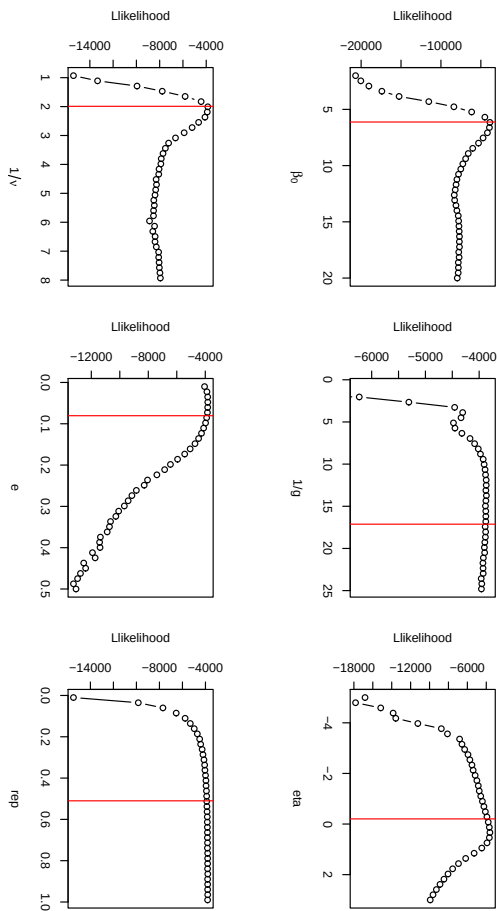


FIG. B.5: Likelihood slice

B.3 Additional figures

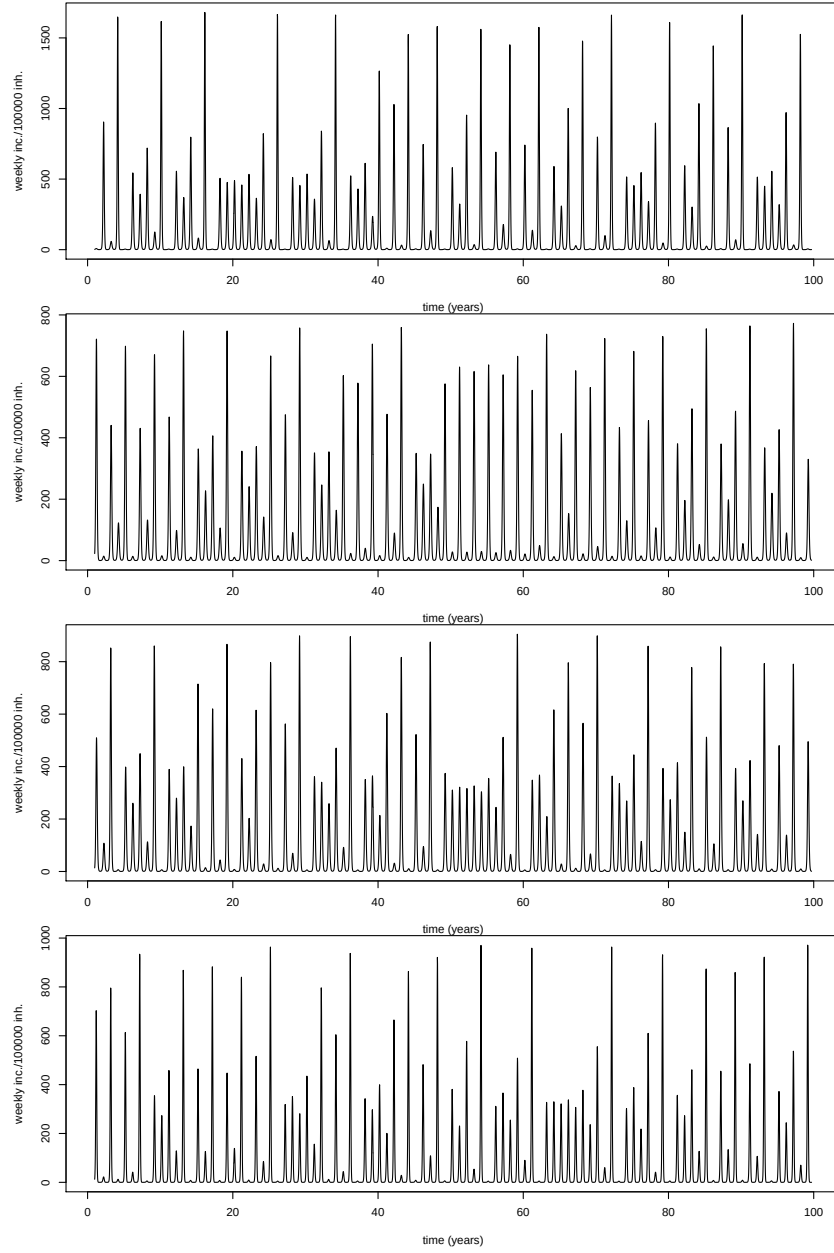


FIG. B.6: Additional trajectories for the single subtype deterministic UPCA model. Weekly incidences per 100 000 inhabitants are plotted. First line : $R_0 = 1.65$, $1/v = 2.47 \text{ days}^{-1}$, $1/g = 7 \text{ years}^{-1}$, $e = 0.104$, $\eta = 10^{-6.7}$; Second line : $R_0 = 1.65$, $1/v = 2.47 \text{ days}^{-1}$, $1/g = 11 \text{ years}^{-1}$, $e = 0.104$, $\eta = 10^{-7}$; Third line : $R_0 = 5$, $1/v = 8 \text{ days}^{-1}$, $1/g = 20 \text{ years}^{-1}$, $e = 0.35$, $\eta = 10^{-6}$; Fourth line : $R_0 = 2.66$, $1/v = 2.77 \text{ days}^{-1}$, $1/g = 20 \text{ years}^{-1}$, $e = 0.2$, $\eta = 10^{-7}$

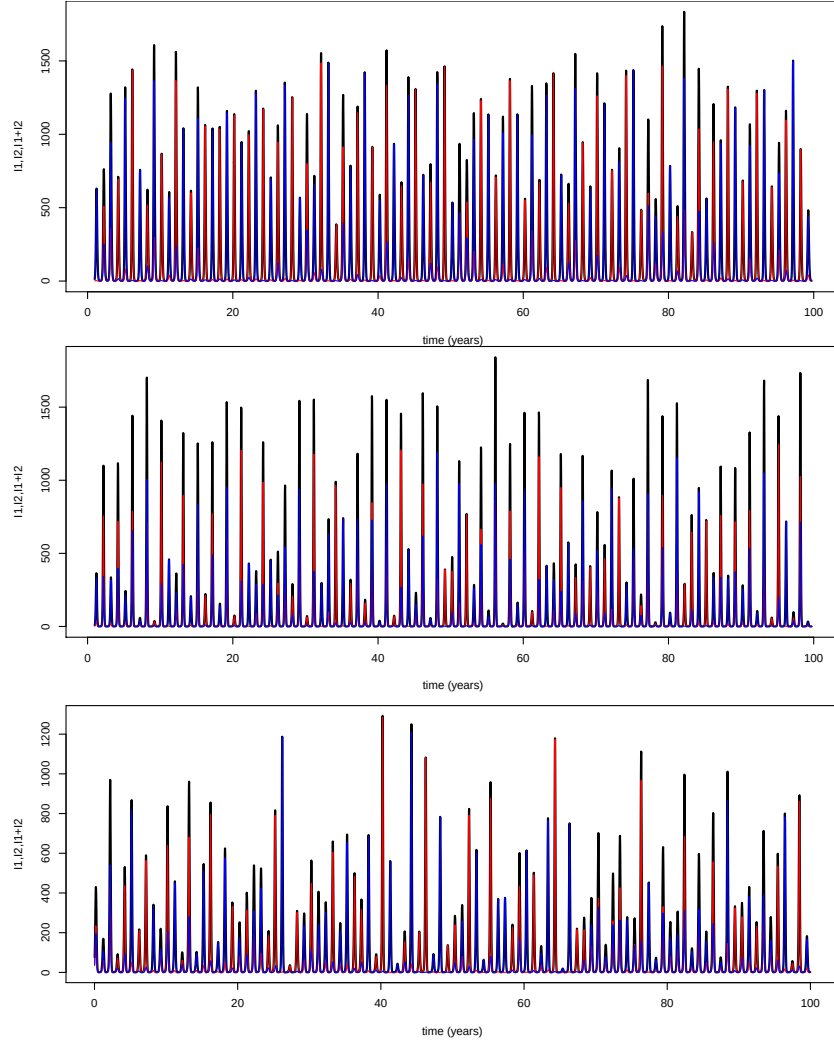


FIG. B.7: Additional trajectories for two-subtype deterministic (first and second line) and stochastic metapopulation UPCA model (third line). Blue and red lines are weekly incidence per 100 000 inhabitants for subtypes 1 and 2 and black lines correspond to the sum of both. First line : $R_0 = 5$, $1/v = 8 \text{ days}^{-1}$, $1/g = 15 \text{ years}^{-1}$, $1/q = 6 \text{ months}^{-1}$, $e = 0.35$, $\eta = 10^{-6}$; Second line : $R_0 = 2.66$, $1/v = 2.77 \text{ days}^{-1}$, $1/g = 20 \text{ years}^{-1}$, $1/q = 6 \text{ months}^{-1}$, $e = 0.2$, $\eta = 10^{-7}$; Third line : Typical realisation for the city of Paris $R_0 = 2.66$, $1/v = 2.77 \text{ days}^{-1}$, $1/\gamma = 1.5 \text{ days}^{-1}$, $1/g = 25 \text{ years}^{-1}$, $1/q = 6 \text{ months}^{-1}$, $e = 0.2$

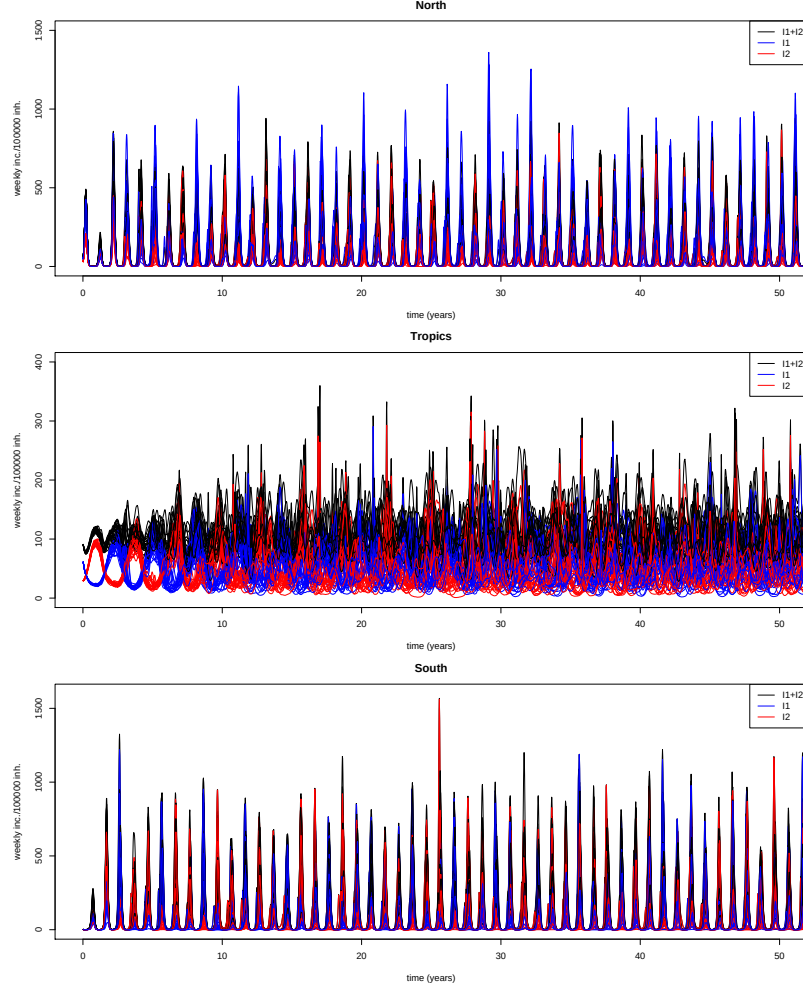


FIG. B.8: Twenty realisations of the stochastic metapopulation model aggregated by geographic areas. Blue and red lines are weekly incidence per 100 000 inhabitants for subtypes 1 and 2 and black lines correspond to the sum of both. Parameters are those of the empirical parameter set (Table 1 in the main manuscript). The remaining parameters are set equal to $1/g = 25 \text{ years}^{-1}$, $1/q = 6 \text{ months}^{-1}$, $1/\gamma = 1.5 \text{ days}^{-1}$. Seasonal forcing ($e = 0.2$) for Northern and Southern hemisphere are in phase opposition and Tropics do not present seasonality.

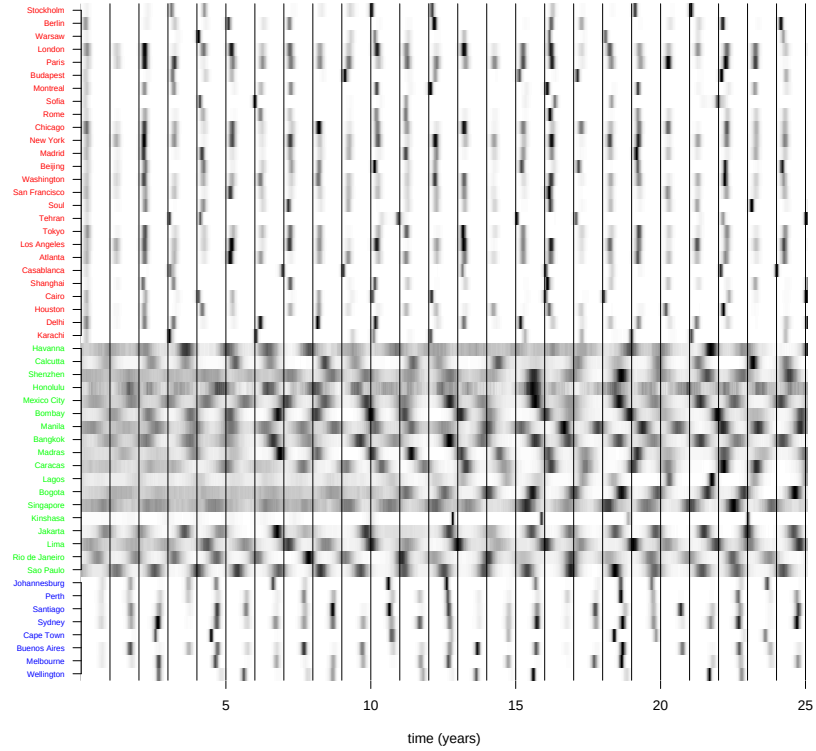


FIG. B.9: Realisations of the stochastic metapopulation model for each city in the metapopulation. City names are color coded by geographic area with red for North, green for Tropics and blue for South. Each line represents the ratio of weekly incidence per 100 000 inhabitant over its maximum value. Parameters are identical to Fig. B.8.

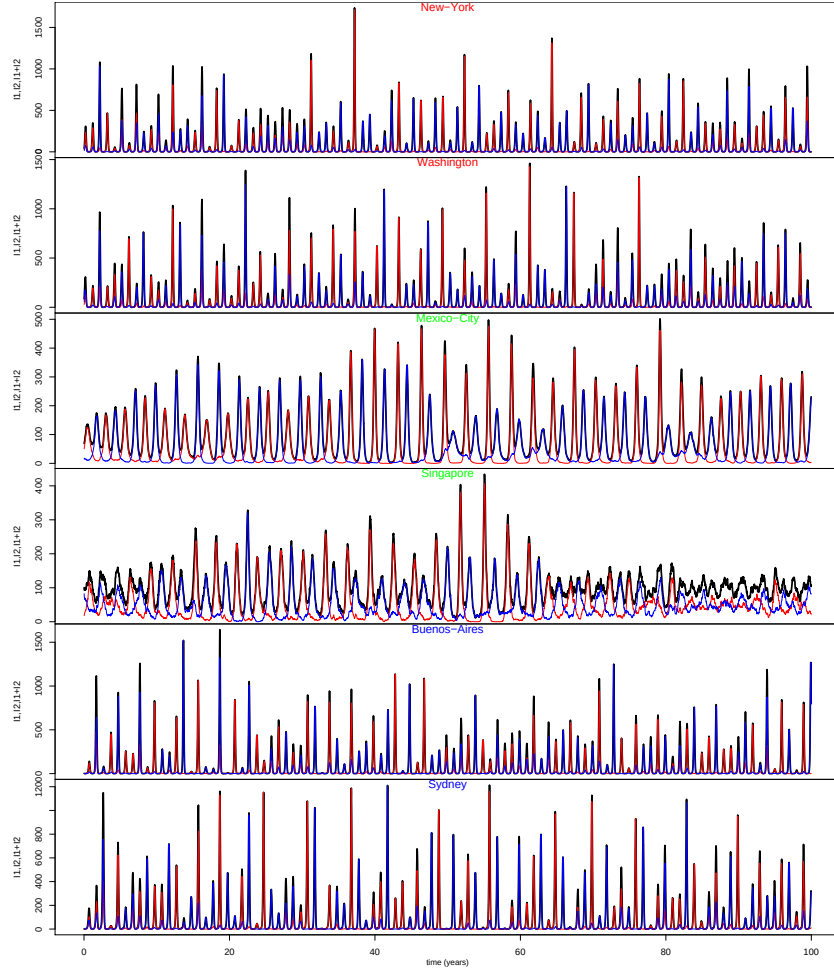


FIG. B.10: Example of trajectories obtained in different cities from the three geographic areas (North, Tropics and South). Blue and red lines are weekly incidence per 100 000 inhabitant for subtype 1 and 2 respectively and black lines represent the sum of both. Parameters are identical to figure B.8.

B.4 Periods bifurcations

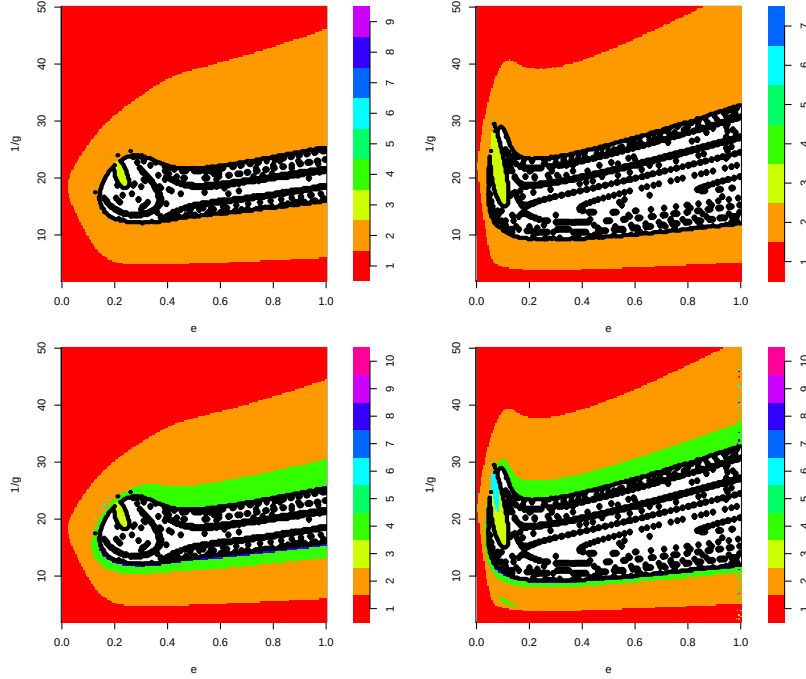


FIG. B.11: Bifurcation diagram for the single subtype model of Fig. 3 (main manuscript). Two different measures of periodicity are represented. Measure 1 : period bifurcation is determined as the smallest T for which $|\log(I(t+T)) - \log(I(t))| < \epsilon$, where ϵ is a small numerical tolerance. Measure 2 : period bifurcation is determined by the analysis of Fourier spectra. As the annual signature of seasonal forcing is always present, an arbitrary parameter ϵ' was used to consider that other periods are insignificant. Left and right graphs correspond to theoretical and empirical parameter sets respectively. Top and bottom graphs correspond to measures 2 and 1 respectively.

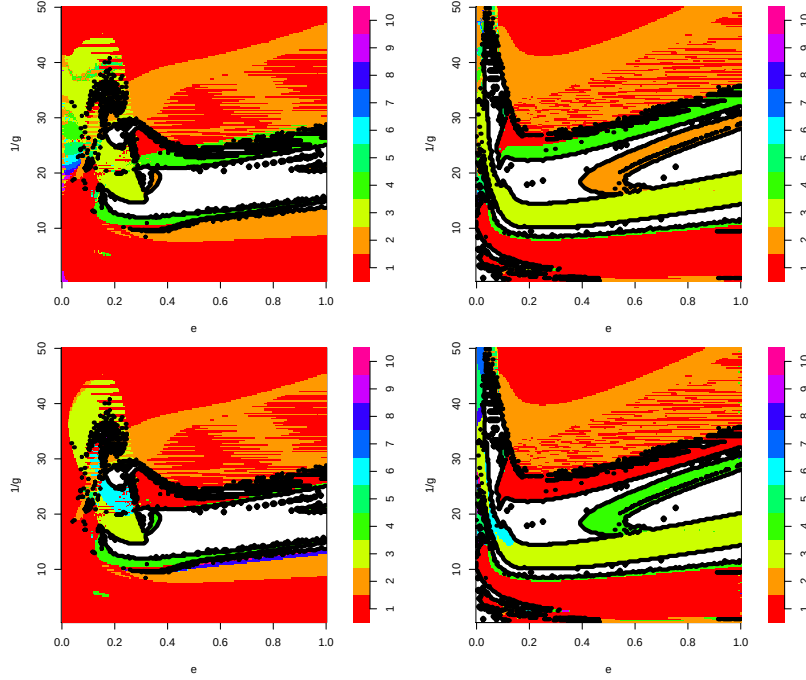


FIG. B.12: Same legend as for Fig. B.11 for the two subtypes model of Fig. 3 (main manuscript). The periodicity of I1+I2 is plotted.

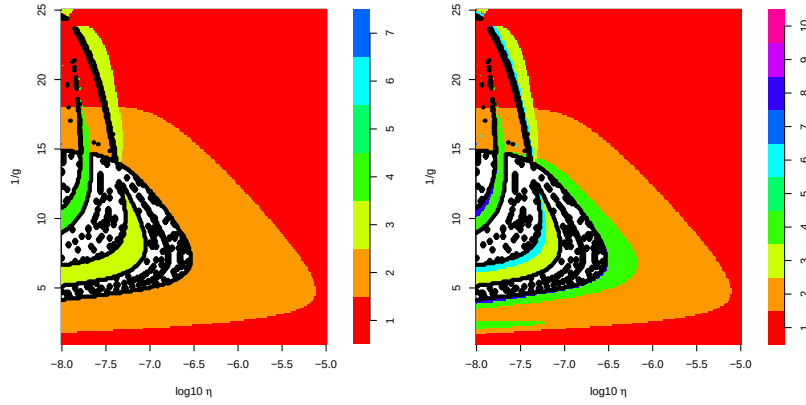


FIG. B.13: Same legend as for figure B.11 for the single subtype model of Fig. 4 (main manuscript). Left and right graphs illustrate periods as measured by measure 2 and 1 respectively (see caption of Fig. B.11 for measures definition).

Annexe C

Supporting Information : The transition from invasion to persistence for influenza antigenic units

Sébastien Ballesteros^{1,*}, Anton Camacho¹, Elisabeta Vergu², Bernard Cazelles^{1,3}

¹UMR 7625 (UPMC, ENS, AgroParisTech, CNRS), Ecole Normale Supérieure, Unit of Eco-Evolutionary Mathematics, 46 rue d'Ulm, F-75230 Paris Cedex 05, France.

² INRA, UR341 Mathématiques et Informatique Appliquées, F-78352 Jouy en Josas, France

³ IRD UR GEODES, 93142 Bondy, France

**Corresponding author :*

E-mail : sebastien.ballesteros@biologie.ens.fr

C.1 Justification of the *SIRX* model

Here we justify the use of the two levels *SIRX* model. We first introduce single level history based model, and then consider status based model as the choice of a given framework can have important consequences on both transient (Ballesteros *et al.*, 2009) and stationary (Dawes & Gog, 2002) dynamics.

C.1.1 History based models

Using the *SIRS* description of antigenic drift (Pease, 1987), we can incorporate gradual antigenic drift into a two IAU model starting from simple two strains *SIR* models and adding loss of immunity induced by viral evolution (figure C.1).

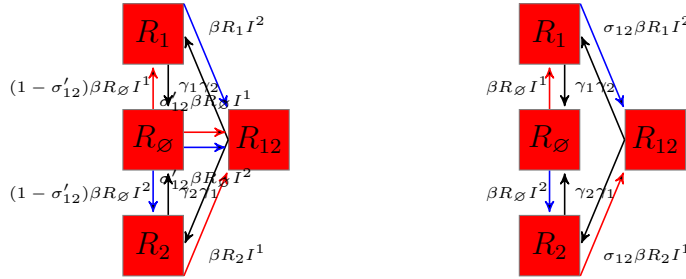


FIG. C.1: Drawbacks of introducing antigenic drift in simple status based (left) and history based (right) two strains (here IAU) models (reduced susceptibility assumption). Red (blue) arrows represent infection by IAU 1 (2). Black arrows represent within IAU antigenic evolution.

In a history based model with reduced susceptibility (figure C.1, right; eq (C.1)), infection of hosts naive to both IAU i and j ($R_\emptyset$) with IAU i results in all infected hosts acquiring immunity to i ($R_\emptyset \rightarrow R_i$) and a partial protection to j that will be determined at the encounter time with j . As IAU i evolves, the population loses immunity to IAU i .

This processes can be formalised by extending multi strain model of Andreasen *et al.* (1997) to include gradual antigenic drift within IAU (eq (C.1)) (note that we also allow coinfections)

$$\begin{aligned}
\dot{R}_\emptyset &= \mu N - \sum_k \beta_k R_\emptyset \frac{I^k}{N} + \sum_{k \in K} g_k R_k - \mu R_\emptyset \\
\dot{R}_J &= \sum_{k \in J} \beta_k \sigma_{J \setminus k}^k R_{J \setminus k} \frac{I^k}{N} - \sum_{k \notin J} \beta_k \sigma_J^k R_J \frac{I^k}{N} - \sum_{k \in J} g_k R_J + \sum_{k \notin J} g_k R_{J \cup k} - \mu R_J \\
\dot{I}^k &= \sum_{J \subseteq \{K \setminus k\}} \sigma_J^k \beta_k R_J \frac{I^k}{N} - \nu I^k - \mu I^k
\end{aligned} \tag{C.1}$$

where J denotes the set of all previous IAU (belonging to the set K) that have successfully infected and immunised the hosts.

At the single IAU level, model of eq (C.1) is reduced to the classical *SIRS* model. The addition of gradual antigenic drift increases the proportion of infectious hosts at the endemic equilibrium compared to the *SIR* model resulting in : $I_{SIRS}^* = \frac{e+\gamma}{1+\gamma}(1 - \frac{1}{r}) = I_{SIR}^* + \frac{\gamma}{1+\gamma} R_{SIR}^*$. The number of susceptible individuals ($R_\emptyset$) however remains the same as for the *SIR* model with an equilibrium value of $1/r$. In the absence of functional constraints, this condition renders the invasion of a second IAU always possible in a population where a resident IAU is at the endemic equilibrium.

One of the major drawbacks of the multi IAU *SIRS* model (*muSIRS*) is that if IAU i evolves we loose the fact that R_i hosts (now $R_\emptyset$) are partially protected to the second IAU. This assumption would be relevant for waning immunity but in our case contradicts the fact that influenza specific immune response appears to be long-lived. The memory of partial protection is important to take into account as the IAU can be considered separated by a fixed antigenic distance that remains constant despite within IAU evolution (Blackburne *et al.*, 2008). Only punctual events create new IAU.

Keeping track of partial cross protection despite within IAU gradual antigenic drift is possible by introducing a new compartment X (figure C.2).

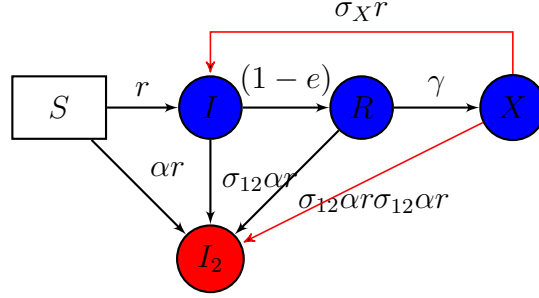


FIG. C.2: The *SIRX* model : new-borne (S) have full susceptibility, within IAU antigenic evolution results in the loss of full immunity toward strain of the IAU ($R \rightarrow X$). X host can retain a level of partial protection to reinfection (σ_X). Hetero unit partial protection is ensured by parameter σ_{12} .

This is the model used in main text.

Keeping track of partial protection despite within IAU antigenic evolution have important consequences on the invasion condition of a mutant IAU. Here we generalise the invasion threshold presented in main text to a population where K identical unrelated (and therefore non cross reactive) resident IAU are at the endemic equilibrium. This condition can be calculated with

$$\left. \frac{dI^{K+1}}{dt} \right|_{1^*, \dots, K^*} = (r_{K+1} R_{\emptyset}^* + \sigma_{12} r_{K+1} (1 - R_{\emptyset}^*) - 1) I^{K+1}$$

where we use non dimensional form of the models by rescaling natural time t in unit of duration of infection and note $r = \frac{\beta}{\mu + \nu}$, $e = \frac{\mu}{\mu + \nu}$; $\gamma = \frac{g}{\mu + \nu}$.

In the following, we assume that $r_{K+1} = \alpha r$ and expect $\alpha \leq 1$ due to functional constraints.

The invasion condition can be expressed as $\sigma_{12} > \frac{1 - \alpha r R_{\emptyset}^*}{\alpha r (1 - R_{\emptyset}^*)}$ and is determined only by $R_{\emptyset}^*$

This expression is also valid for the *muSIRS* model. For this latter model, when $K = 1$, the number of fully naive hosts is given by $1/r$. In the absence of functional constraints ($\alpha = 1$) fully naive hosts are always in a sufficient number to ensure the invasion of a mutant IAU ($1 - r R_{\emptyset}^* = 0$) and there is no invasion threshold. Situation changes with the *SIRX* model or when $K > 1$ unrelated IAU co-circulate. In these cases, $R_{\emptyset}^*$ can be calculated

from : $\frac{dR_{\emptyset}^*}{dt} = 0 = e - rR_{\emptyset} \sum_k I^k - eR_{\emptyset}.$

As there is no competition at all in the resident population, the endemic equilibrium of IAU $k \in [1, \dots, K]$, I^{k*} are all identical to the value I^* of the single IAU model. The invasion condition can then be expressed as a function of I^* : $\sigma_{12} > \frac{KrI^* + e(1-\alpha r)}{K\alpha r^2 I^*}$. In the special cases where $\sigma_X = 1$ an exact expression can be derived as I^* is given by the equilibrium of the simple *SIRS* model.

$$\sigma_{12} > \frac{1}{\alpha r} - \frac{e(1+\gamma)(\alpha r - 1)}{K\alpha r(e+\gamma)(r-1)} \quad (\text{C.2})$$

In this latter case, gradual antigenic drift within IAU $g > 0$ ensures an invasion threshold even when $K = 1$ and $\alpha = 1$. and possesses an upper bound $= \frac{1}{r} - \frac{e}{Kr}$ as $\gamma \rightarrow \infty$.

As we show in main text, the invasion of a mutant IAU is always possible whenever $\sigma_{12} > \sigma_X$.

This sufficient condition is not limited to the simple *SIRX* model and remains valid for models allowing a flexible shape of the evolution of the reinfection probability following antigenic drift such the one used by Xia *et al.* (2005).

The model depicted in figure C.3 allow to consider flexible shape of the evolution of the reinfection probability following antigenic drift. Note that as hosts never come back to the *S* compartment, we ensure that hosts partially protected to a new IAU keep their partial protection even if the originally immunising IAU is subject to antigenic drift rendering reinfection by the same IAU possible. The flexibility of this model was used by Xia *et al.* (2005) to infer the shape of the immunity decay following influenza infection. $(1 - \sigma_{12})$ is the reduction of susceptibility due to inter-IAU partial cross protection and $(1 - \sigma_X)$ is the the reduction of susceptibility due to within-IAU partial cross protection.

Using figure C.3 model, the invasion condition of a second IAU can be calculated with :

$$\left. \frac{dI^2}{dt} \right|_{1^*} = (\alpha r S^* + \alpha r (\sum_k \sigma_{12}^k R_k^* + \sigma_{12} I) - 1) I^2 > 0.$$

Assuming that the first IAU is at the epidemiological equilibrium ensures that : $\frac{dI}{dt} = rSI + r \sum_k \sigma_X^k R_k I - I = 0 \Rightarrow rS^* + r \sum_k \sigma_X^k R_k^* = 1$

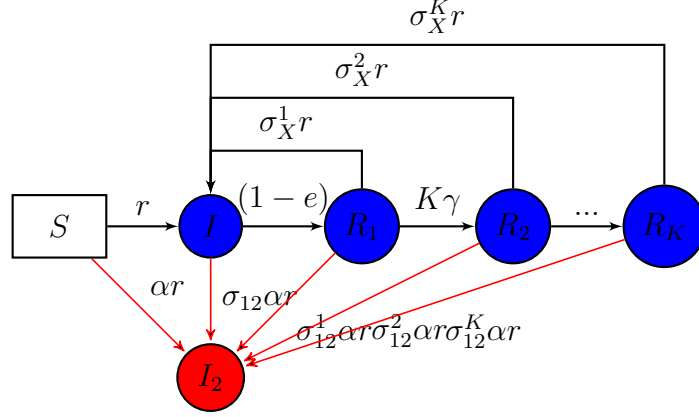


FIG. C.3: A general model for a drifting antigenic unit.

Considering $\alpha = 1$, invasion is always possible if $\sum_k \sigma_{12}^k R_k^* > \sum_k \sigma_X^k R_k^*$. This condition is always true if $\forall k \in [1, \dots, K]$, $\sigma_{12}^k > \sigma_X^k$. Note that in the absence of co-infections, this condition also defines the invasion threshold.

$\sigma_{12}^k > \sigma_X^k$, $\forall k \in [1, \dots, K]$, therefore constitutes a sufficient condition for the invasion of the mutant IAU.

C.1.2 Status based model

Within a status based framework (figure C.1, left), following infection with IAU i , naive hosts acquire immunity to i (R_i) and a given proportion ($\sigma'_{12} = 1 - \sigma_{12}$) acquires immunity to both i and j (R_{ij}) and are therefore no more susceptible for both IAUs i and j (polarized immunity Gog & Swinton (2002)). We can thus easily take into account the fact that IAU i can evolve and thus the population loses immunity to cluster i but not to cluster j . This results in a $R_{ij} \rightarrow R_j$ transfer.

Contrary to history based model, assuming that cross-immunity acts by reducing susceptibility or infectivity have strong consequences on status based model (Ballesteros *et al.*, 2009). All the theoretical studies supporting the punctuated theory of influenza immune escape have used the reduced infectivity formalism (*SBRI* model) as it results in comparatively low dimensional models. The *SBRI* model including within IAU gradual antigenic drift is depicted in eq (C.3) where S_k denotes hosts susceptible to IAU k .

$$\begin{aligned}
\dot{S}_k &= \mu N - \sum_j \beta_j(t) \sigma'_{kj} S_k \frac{I^j}{N} - \mu S_k + g_k(N - S_k - I^k) \\
\dot{I}^k &= \beta_k S_k \frac{I^k}{N} - \nu I^k - \mu I^k
\end{aligned} \tag{C.3}$$

In case of reduced susceptibility assumption (*SBRS* model), including within IAU gradual antigenic drift results in eq (C.4).

$$\begin{aligned}
\dot{R}_\emptyset &= \mu N - \sum_k \beta_k R_\emptyset \frac{I^k}{N} + \sum_{k \in K} g_k R_k - \mu R_\emptyset \\
\dot{R}_J &= \sum_{k, L \subseteq K} C(L, J, k) \beta_k \frac{I^k}{N} R_L - \sum_{k \in \{J \setminus k\}} \beta_k \frac{I^k}{N} R_J - \sum_{k \in J} g_k R_J + \sum_{k \notin J} g_k R_{J \cup k} - \mu R_J \\
\dot{I}^k &= \sum_{J \subseteq \{K \setminus k\}} \beta_k R_J \frac{I^k}{N} - \nu I^k - \mu I^k
\end{aligned} \tag{C.4}$$

where following Gog & Swinton (2002),

$$C(L, J, k) = \begin{cases} \prod_{j \in J \setminus L} \sigma'_{kj} \prod_{j \notin J} (1 - \sigma'_{kj}) & \text{if } k \notin L \text{ and } L \subset J \\ 0 & \text{otherwise.} \end{cases}$$

As shown in figure C.4, the status-based formulation induces an immune boosting dynamics that can be illustrated in the 2-IAUs case. When IAU 2 has yet not appeared and thus does not evolve (no gradual antigenic drift for 2), figure C.4 shows that, in the absence of birth, $R_2 + R_{12}$ form an absorbing class. The infection dynamics of strain 1 rapidly results in an equilibrium mostly governed by a reinfection dynamics between R_2 and R_{12} . This process results in the fact that when cluster 2 appears, it cannot invade as all the hosts have full immunity to 2. Moreover, with the assumption of reduced infectivity, the *SBRI* model leads to a transfer $R_1 \rightarrow R_{12}$ (in red on figure C.4) that overestimates the immunity against IAU 2. From a biological stand point, this additional transfer resulting from reinfection of R_1 by IAU 1 is even more problematic as it is in disagreement with the original antigenic sin mechanism (Ballesteros *et al.*, 2009).

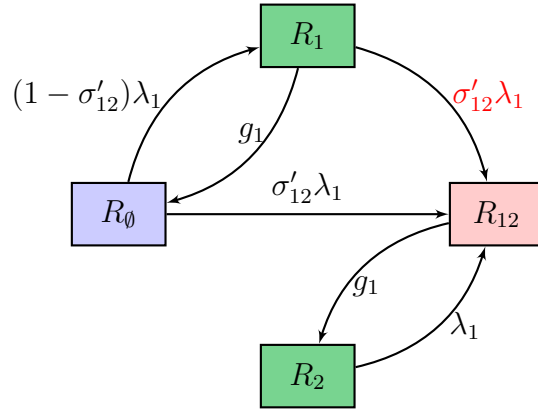


FIG. C.4: Schematic representation of the immune boosting induced by status-based frameworks. The assumption of reduced infectivity leads to an additional transfer $R_1 \rightarrow R_{12}$ (in red). λ_1 is the infection force of IAU 1. Note that for comparison purpose with history based model, the cross-immunity intensity σ'_{12} can be simply related to the immune escape intensity by $\sigma_{12} = 1 - \sigma'_{12}$.

More quantitatively, the impeded invasion produced by the status based framework can be determined by standard invasion analysis. For instance for the *SBRI* model of eq.(C.3), the invasion condition can be calculated by :

$$\left. \frac{dI^2}{dt} \right|_{S_2^*} = (r_2 S_2^* - 1) I^2 \quad (\text{C.5})$$

where S_2^* is determined by the equilibrium of the 2-IAU model with $I^2 = 0$.

Invasion of the mutant IAU implies $\left. \frac{dI^2}{dt} \right|_{S_2^*} \geq 0$ and results in a threshold on σ'_{12} :

$$\sigma'_{12} \leq \frac{(r_2 - 1)(e + \gamma_2)(1 + \gamma_1)}{(r_1 - 1)(e + \gamma_1)}$$

. In the following we assume $r_2 = r_1$ ($\alpha = 1$ no functional constraints). If $\gamma_2 = 0$ until IAU 2 appears there is an invasion threshold. This threshold does not depend on R_0 (here, r) and is represented on figure C.5. Note however that if $\gamma_2 = \gamma_1$ before IAU 2 emerges the invasion condition is always satisfied.

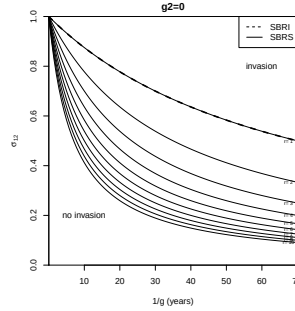


FIG. C.5: Invasion threshold for the two antigenic unit status based model (*SBRI* and *SBRS*) with $r_2 = r_1$. Note that for comparison purpose with history based model, the y-axis is expressed in immune escape intensity with $\sigma_{12} = 1 - \sigma'_{12}$.

The same results can be established for the *SBRS* model. The threshold is given by :

$$\sigma'_{12} \leq \frac{r_1(r_2 - 1)(e + \gamma_2)(\gamma_2 + r_1(e + \gamma_1))}{(r_1 - 1)(e + \gamma_1)(\gamma_1 r_1 + r_2(\gamma_2 + e r_1))}$$

and plotted on figure C.5. This threshold depends on $r_{1/2}$ and equal the one of the *SBRI* model when $r_1 = r_2 = 1$.

Considering $\gamma_2 = \gamma_1$ means that IAUs may evolve before they have emerged. This hypothesis could be supported if IAUs co-circulate in a region outside the population area and are introduced following a source-sink process. However, in the context of influenza antigenic clusters giving rise to each others, we do not find any biological motivation. When $\gamma_2 = \gamma_1$, the *SBRS* model also ensures invasion of the mutant IAU even if $\sigma_{12} = 0$ rendering immune escape difficult to interpret.

Introducing within IAU gradual antigenic drift in status based multi-strains models can therefore result in an invasion threshold for a second IAU. As the same model without gradual antigenic drift does not present this threshold property (Ballesteros *et al.*, 2009), the impeded invasion comes from the immune boosting dynamics previously described. Due to this immune boosting dynamics, the timing of introduction of successive IAUs is of tremendous importance : if the resident IAU has circulated sufficiently long to fill in compartments R_2 and R_{12} then gradual antigenic drift will result in a strong invasion threshold for the next IAU. In contrast, if the mutant IAU appears sufficiently soon, it will be able to invade.

C.1.3 Comparison of status based and history based framework : effect of cross-immune boosting

In order to examine the influence of the cross-immune boosting dynamics previously described on the outcome of IAU invasion we contrast the widely used *SBRI* model with an equivalent history based model. Due to the hypothesis of polarised immunity, the inclusion of within IAU gradual antigenic drift into status based model results in full susceptibility of the hosts to within IAU reinfection but do not cancel partial cross protection against other IAUs. This assumption can be translated in the *SIRX* framework by taking its *SIRS* limit ($\sigma_X = 1$) *i.e.* by taking the following matrix of susceptibility

$$\text{reduction : } \sigma_{\mathbf{H}}^{\mathbf{k}} = \begin{matrix} & \begin{matrix} 1 & 2 \end{matrix} \\ \begin{matrix} 1 \\ 2 \\ 12 \end{matrix} & \begin{pmatrix} 1 & \sigma_{12} \\ \sigma_{12} & 1 \\ 1 & 1 \end{pmatrix} \end{matrix}. \text{ Contrary to the status based model, the}$$

equivalent history based model does not result in cross immune boosting dynamics whereas both models reduce to the *SIRS* model at the single IAU

level.

In order to simplify the analysis we will consider the invasion of an IAU already established and subject to gradual antigenic drift in a source population but not in our focal population *i.e.* $g_1 = g_2$. This assumption will ensure equality of mutant and resident antigenic drift rate and therefore cancel the need to study the effect of the introduction time of the mutant for the status based model.

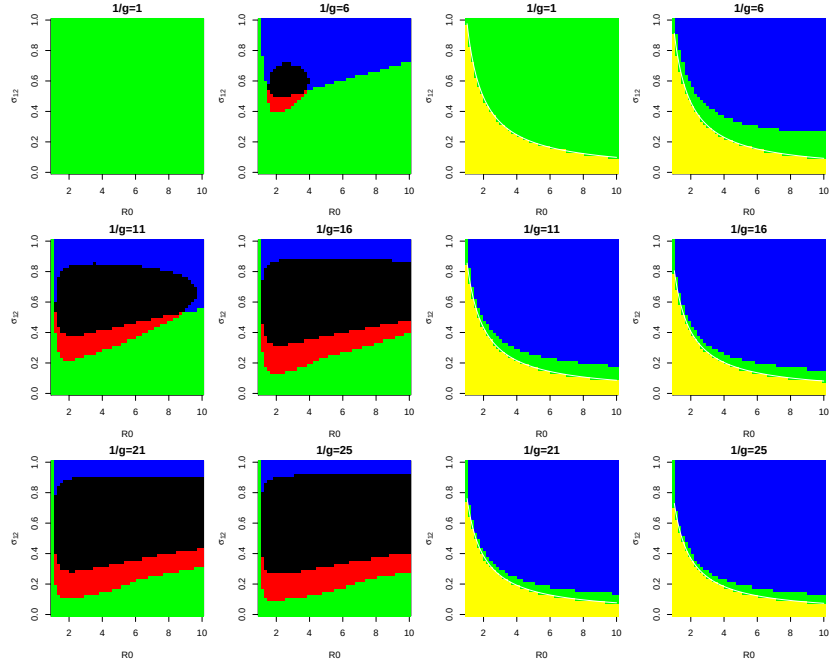


FIG. C.6: Outcomes of the transient invasion dynamics of a new IAU within a population where a resident IAU is at the endemic equilibrium. First and second column figures are for the *SBRI* model generalised to include within IAU gradual antigenic drift (with $g_2 = g_1$); third and fourth column figures are for the equivalent history based model. Colours : both IAUs go extinct (black), the resident IAU only goes extinct (successful replacement, red); the mutant IAU only goes extinct (blue); no IAU goes extinct (coexistence, green); the mutant IAU cannot invade (yellow). White curve is the invasion threshold given by eq. (C.2). As a deterministic model is used, extinctions are determined by a threshold value of 1.10^{-9} .

As it can be seen in figure C.6, the *SBRI* model has a tremendous im-

part on the outcome of the transient dynamics of drifting IAU's replacement. Within an equivalent model stated within the *SIRX* framework, no replacement (red areas in figure C.6) are possible for parameter values compatible with influenza. In place of replacement, the *SIRX* model gives rise to a sharp transition from coexistence (green areas in figure C.6) to self extinction without replacement (blue areas in figure C.6).

C.2 Reinfection limits

The number of compartment (scaling in 3^{N_K}) of the *SIRX*, the *SIRXQ1* and the *SIRXQ12* with immune boosting model can be reduced to 2^{N_K} by taking the limit $g \rightarrow \infty$.

In case of the *SIRX* model the reinfection limit leads to (C.6).

$$\begin{aligned}\dot{R}_\emptyset &= \mu N - \sum_k \beta_k R_\emptyset \frac{I^k}{N} - \mu R_\emptyset \\ \dot{R}_J &= \sum_{k \in J} \beta_k \sigma_{J \setminus k}^k R_{J \setminus k} \frac{I^k}{N} - \sum_{k \notin J} \beta_k \sigma_J^k R_J \frac{I^k}{N} - \mu R_J \\ \dot{I}^k &= \sum_{J \subseteq K} \sigma_J^k \beta_k R_J \frac{I^k}{N} - \nu I^k - \mu I^k\end{aligned}\tag{C.6}$$

This model is comparable to Gökaydin *et al.* (2007) model with the difference that (C.6) model allows for coinfections.

Taking the limit $g \rightarrow \infty$ of the *SIRXQ1/12* model results in :

$$\begin{aligned}\dot{R}_\emptyset &= \mu N - \sum_k \beta_k R_\emptyset \frac{I^k}{N} - \mu R_\emptyset \\ \dot{I}_J^k &= \sigma_J^k \beta_k R_J \frac{I^k}{N} + \sigma_{J \setminus k}^k \beta_k R_{J \setminus k} \frac{I^k}{N} - \nu I_J^k - \mu I_J^k \\ \dot{Q}_J &= \sum_{k \in J} \nu I_J^k - q Q_J - \mu Q_J \\ \dot{R}_J &= q Q_J - \sum_k \beta_k \sigma_J^k R_J \frac{I^k}{N} - \mu R_J\end{aligned}\tag{C.7}$$

in the absence of immune boosting (*SIRXQ1*) and :

$$\begin{aligned}
\dot{R}_\emptyset &= \mu N - \sum_k \beta_k R_\emptyset \frac{I^k}{N} - \mu R_\emptyset \\
\dot{I}_J^k &= \sigma_J^k \beta_k R_J \frac{I^k}{N} + \sigma_{J \setminus k}^k \beta_k R_{J \setminus k} \frac{I^k}{N} - \nu I_J^k - \mu I_J^k \\
\dot{Q}_J &= \sum_{k \in J} \nu I_J^k - q Q_J - \mu Q_J \\
\dot{R}_J &= q Q_J + q Q'_J - \sum_k \beta_k R_J \frac{I^k}{N} - \mu R_J \\
\dot{Q}'_J &= \sum_k (1 - \sigma_J^k) \beta_k R_J \frac{I^k}{N} - q Q'_J - \mu Q'_J
\end{aligned} \tag{C.8}$$

with immune boosting (*SIRXQ12*).

C.3 Additional figures

C.3.1 Transient dynamics : determinist models

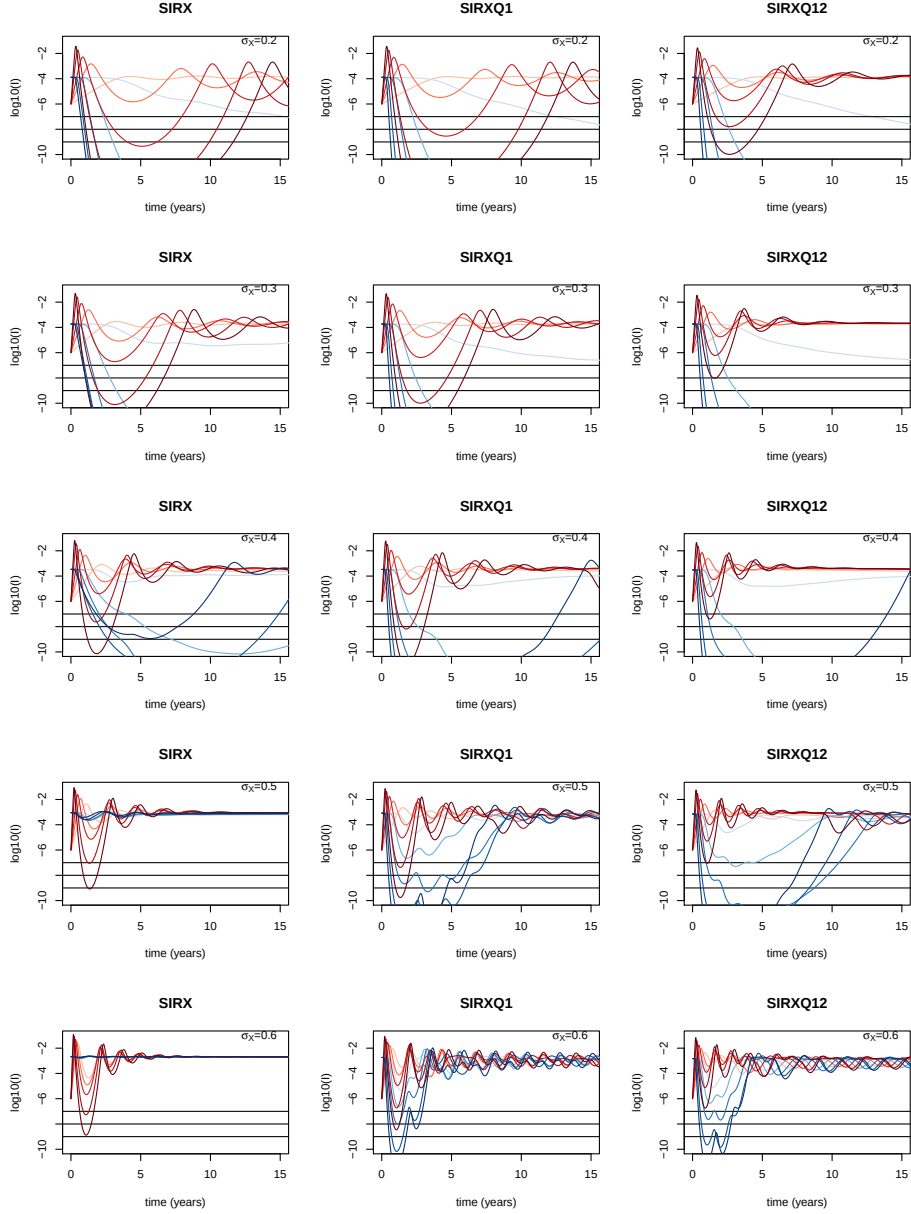


FIG. C.7: Transient invasion dynamics of a mutant antigenic unit in a population where a resident antigenic unit is at its endemic equilibrium. Red and blue are prevalence of mutant and resident antigenic unit in log scale. Colours intensity indicates the degree of immune escape as measured by $\Delta\sigma$ (1% (light tones); 5%, 10%, 20% and 30% (dark tones)). Parameters : $R_0 = 2$; $1/\nu = 4$ days; $1/g = 1$ year; $1/q = 6$ months. Figure C.8 reveals the dynamics obtain by taking the limit $g \rightarrow \infty$

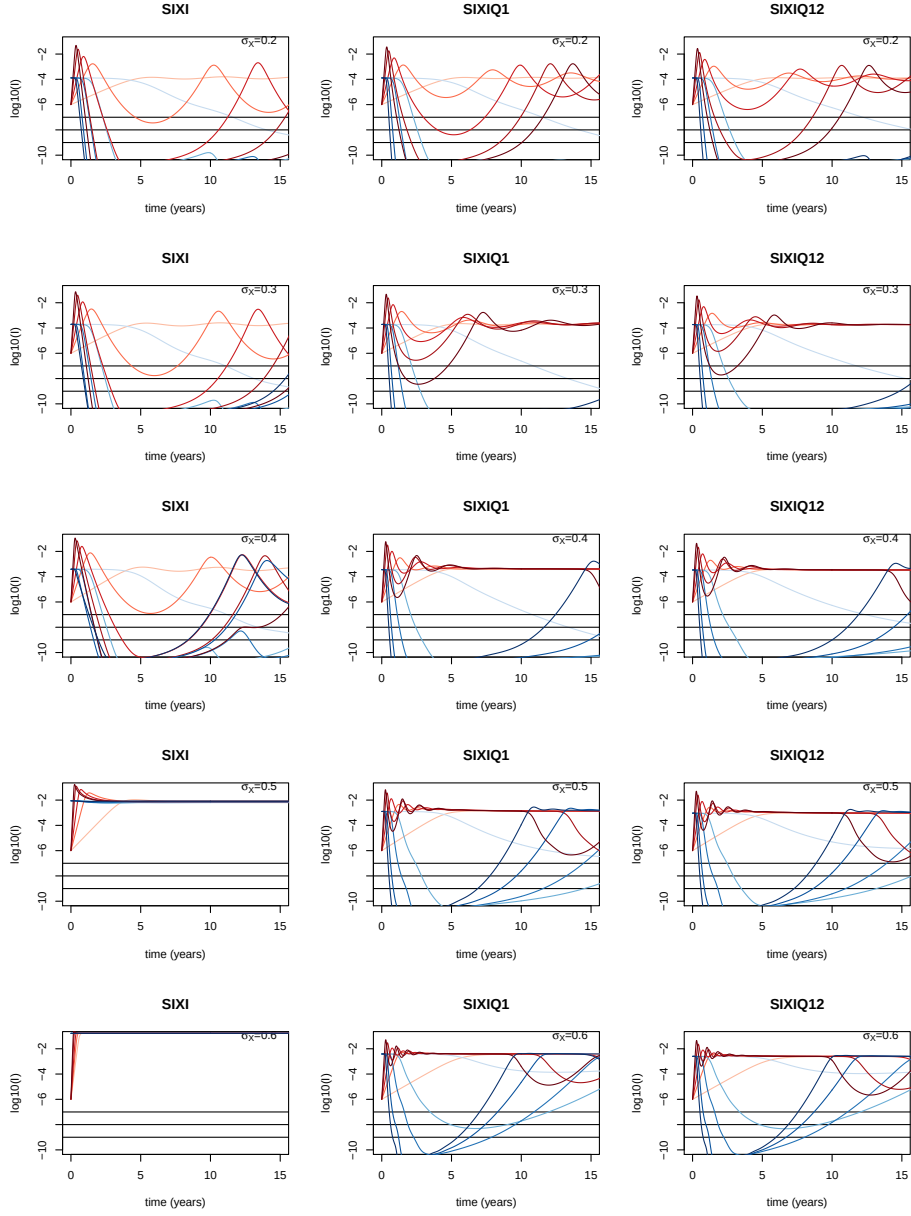


FIG. C.8: Replication of figure C.7 for the reinfection limit models ($g \rightarrow \infty$).

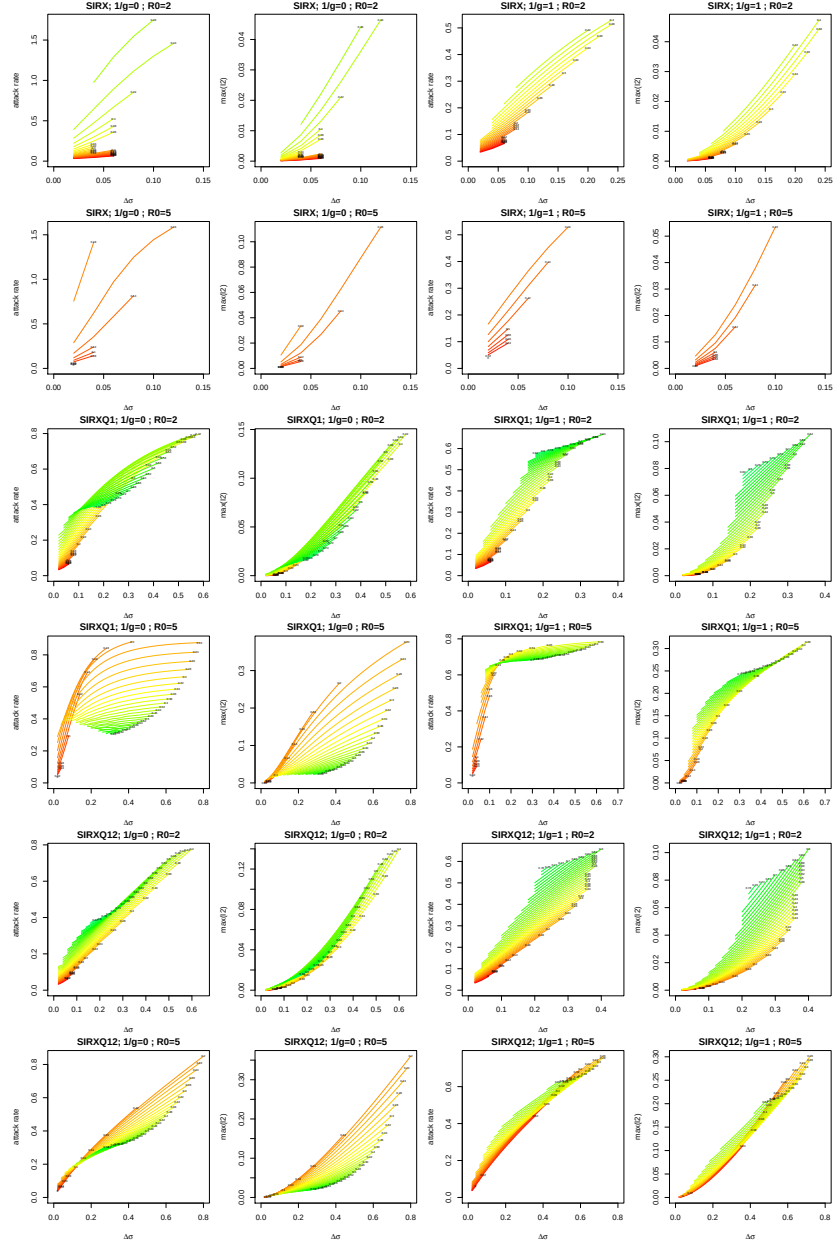


FIG. C.9: Effect of immune escape on the attack rate and the maximum epidemic size of the mutant antigenic unit for the *SIRX* model (first and second lines), the *SIRXQ1* model (third and fourth lines) and the *SIRXQ12* model with immune boosting (fifth and sixth lines) in the parameter space where we expect replacement of the resident antigenic unit by the mutant one. Attack rate is calculated from the introduction time of the new antigenic unit to the first minimum of the epidemic curve. Immune escape is measure by $\Delta\sigma$. Colors represent different values of σ_X ensuring replacement. Parameters values are identical for both antigenic units ($\alpha = 1$).

C.3.2 Effect of functional constraints

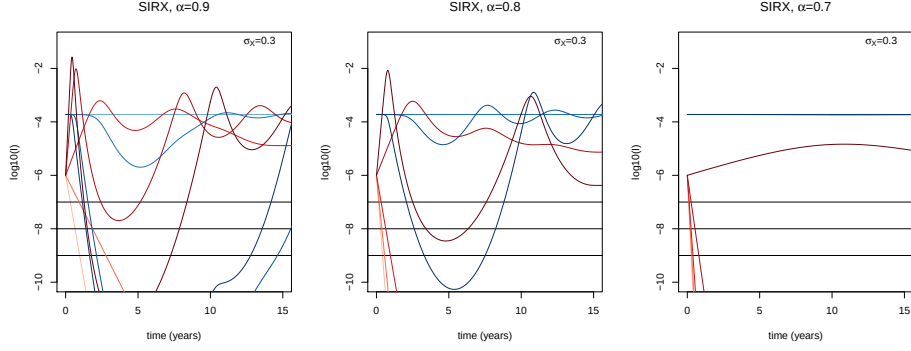


FIG. C.10: Effect of functional constraint on the invasion trajectory of a mutant antigenic unit introduced in a population where a resident antigenic unit is at the endemic equilibrium for the $SIRX$ model. Red and blue are prevalence of mutant and resident antigenic unit in log scale. Colours intensity indicates the degree of immune escape as measured by $\Delta\sigma$ (1% (light tones); 5%, 10%, 20% and 30% (dark tones)). Parameters : $R_0 = 2$; $1/\nu = 4$ days; $1/g = 1$ year; $1/q = 6$ months

C.3.3 Metapopulation dynamics : stochastic models

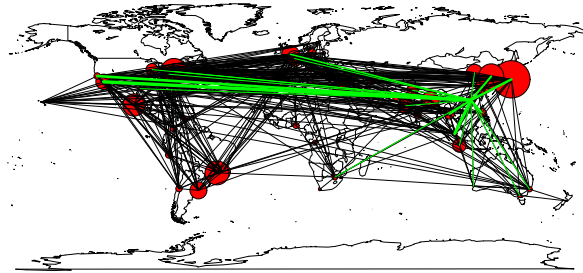


FIG. C.11: Overview of the network of 52 global cities used in the stochastic metapopulation model. Circle areas and lines width are proportionate to city sizes and air transportation flows. The mutant antigenic cluster is introduced in Shenzhen. Shenzhen air connections are indicated in green.

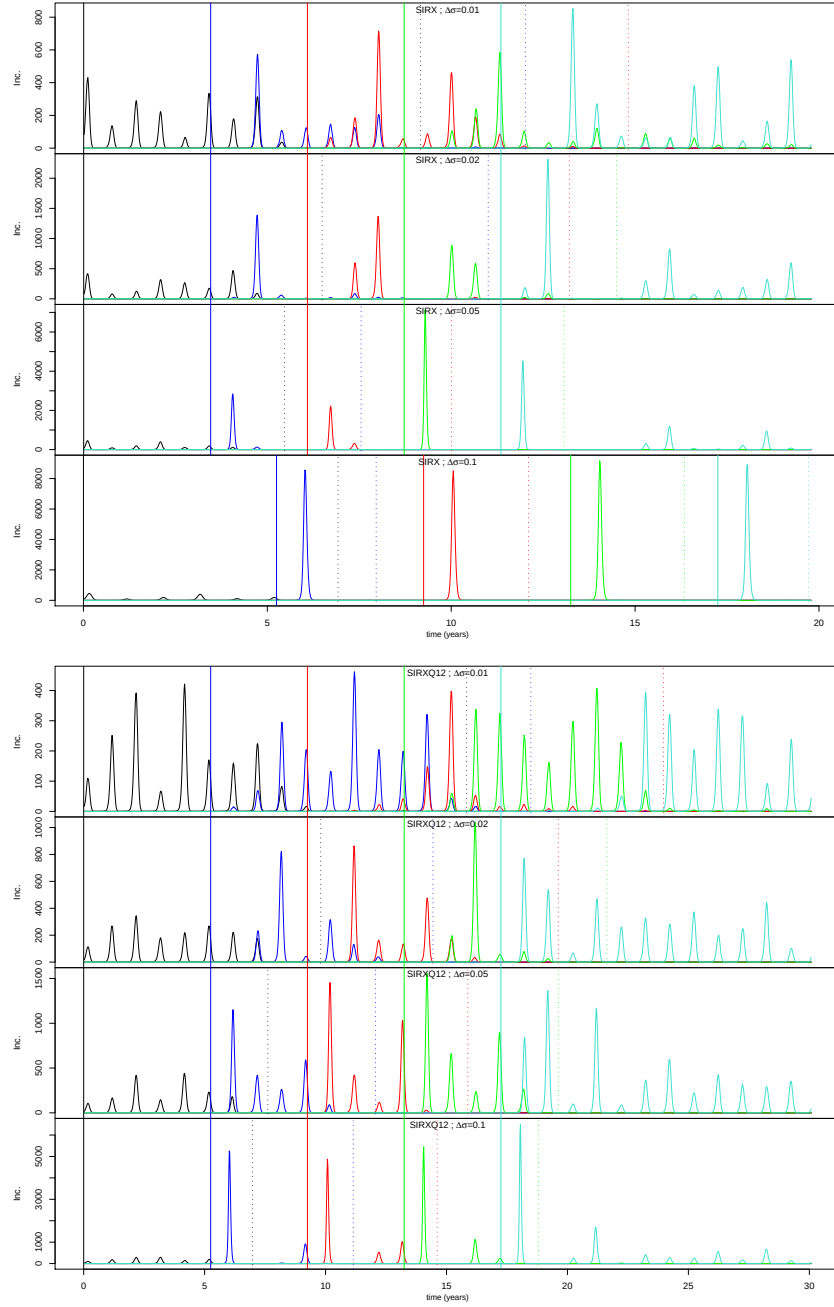
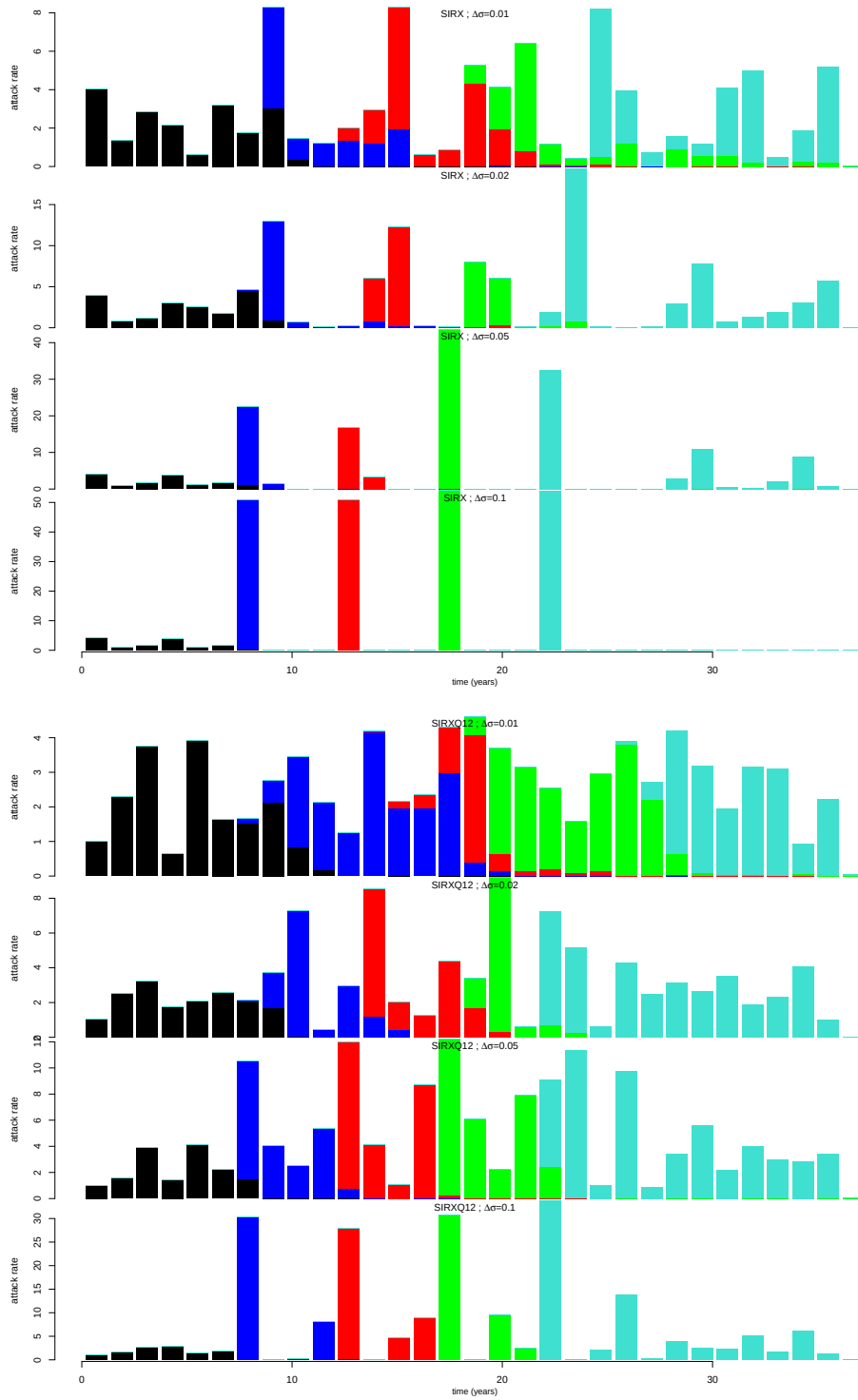


FIG. C.12: Typical realisation of the *SIRX* (first panel) and *SIRXQ12* with immune boosting (second panel) stochastic metapopulation models for the city of Paris. First antigenic unit is at the endemic equilibrium and the following antigenic units are introduced every 4 years in Shenzhen on april 1st with an initial seed of 100 infected individuals. y-axis is weekly incidence per 100 000 inhabitants. Parameters : $\sigma_X = 0.3$ $\Delta\sigma \in \{0.01, 0.02, 0.05, 0.1\}$; $R_0 = 2$; $1/\nu = 4$ days ; $1/g = 1$ year ; $1/q = 6$. Vertical plain (dotted) lines are introduction (worldwide extinction) times of the antigenic units coded by colours. Corresponding annual attack rates are plotted in figure C.13, and different realisations aggregated by geographics areas in figure C.14.



201
 FIG. C.13: Evolution of the annual attack rates in Paris for the realisations of figure C.12.

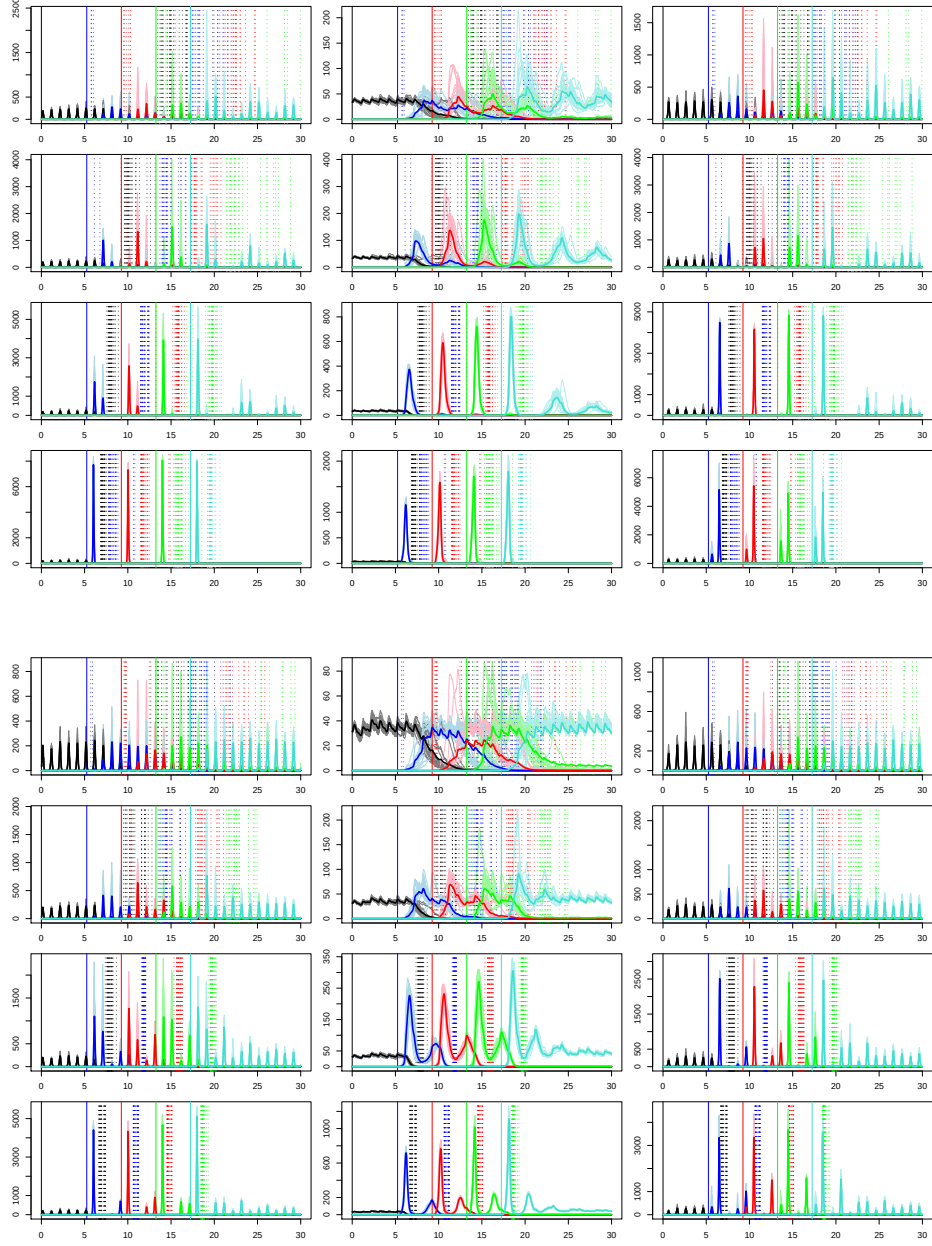


FIG. C.14: Trajectories for 20 realisations of the stochastic *SIRX* (first panel) and *SIRXQ12* with immune boosting stochastic metapopulation models (second panel) aggregated by world areas. First, second and third columns are respectively North, Tropics and South. y-axis is weekly incidence per 100 000 inhabitants. Parameters values are identical to figure C.12 with, for each panel immune escape ($\Delta\sigma$) intensities given from top to bottom by 0.01; 0.02; 0.04; 0.1. Vertical plain (dotted) lines are introduction (worldwide extinction) times of the antigenic units coded by colours.

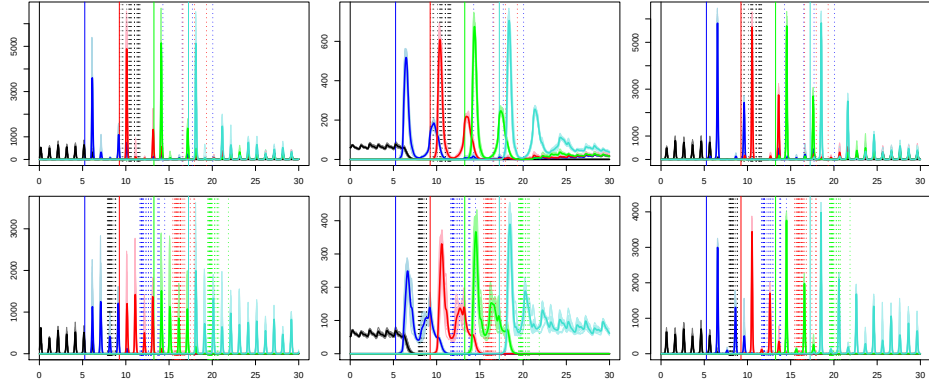


FIG. C.15: Trajectories for 20 realisations of the stochastic *SIRC* (first panel) and *SIRCQ12* with immune boosting stochastic metapopulation models (second panel) aggregated by world areas. First, second and third columns are respectively North, Tropics and South. y-axis is weekly incidence per 100 000 inhabitants. Parameters values : $\sigma_X = 0.39$ $\Delta\sigma = 0.04$; $R_0 = 2$; $1/\nu = 4$ days ; $1/g = 1$ year ; $1/q = 6$.

Annexe D

Reinfection as a potential phenomenon for influenza pandemics : Tristan da Cunha 1971 epidemic as a case study

Anton Camacho ; Sébastien Ballesteros ; Bernard Cazelles

D.1 Introduction

A swine-origin influenza A(H1N1) virus is responsible for the current pandemic and reminds us that the risk of influenza pandemic is high and will persist in the future. The lessons from the past are therefore precious and may help us to anticipate and manage such disasters. In this context the multiple-wave outbreaks of influenza type A over one season, which have been reported during several pandemic episodes of the past century, remain poorly understood. The most striking example remains the “Spanish” influenza pandemic of 1918-1919 that occurred in three waves over 9 months, causing about 50 million deaths worldwide. As a result, successive attacks were explicitly reported with individuals having experienced up to two reinfection episodes over a short time interval (Ministry Of Health, 1920; Dudley, 1926; Mantle & Tyrrell, 1973; Barry *et al.*, 2008).

Determining whether these multiple-wave epidemics were caused by the same strain remains a challenge since there is few or even no virus samples

from each wave. However it is commonly believed that apparition of new antigenically drifted variants escaping population immunity takes years, which is inconsistent with the inter-wave periods of few weeks (Taubenberger & Morens, 2006).

Although there is a lack of virological and serological analysis of these epidemiological phenomena, mathematical models can provide important insight into the underlying mechanisms that could explain multiple-wave epidemics. These dynamics have been reproduced within the simple epidemiological *SIR* (Susceptible-Infectious-Removed) framework by supposing that coinfection with other acute respiratory infections increases the transmissibility of influenza virus (Merler *et al.*, 2008) or by altering the structure of the network of contacts in the course of the epidemic as a defensive behavioral response (Poletti *et al.*, 2009). However these models cannot explain cases of multiple infections in the same host during a single epidemic season. In contrast, Mathews *et al.* (2007) have introduced a flexible model that allows for reinfection : following recovery from infection hosts acquire protective immunity with a certain probability, otherwise they become again susceptible. From its side, Gomes *et al.* (2004a) have invoked a partial immune protection for explaining reinfection. Both mechanisms challenge the common assumption that infection by an influenza strain confers life-long protection against reinfection by the same strain (Earn *et al.*, 2002). Thus, explaining these epidemiological phenomena is not only of public health policies interest but may also provide a better understanding of the human immune response to a novel influenza virus.

In this work, we propose to disentangle between three different biological mechanisms for explaining a two-wave influenza epidemic with explicit cases of reinfection that occurred on the remote island of Tristan da Cunha in 1971 and that was reported by Mantle & Tyrrell (1973) (see also Figure D.1). This case is all the more interesting that the small population remained fully isolated all along the epidemic, ruling out the hypothesis of a second influenza virus introduction from outside, and that serological analysis confirmed the presence of influenza type A/H3N2 during both waves (Mantle & Tyrrell, 1973).

The emergence of new influenza strains will continue to pose challenges to public health and to the scientific community. No one can accurately predict the timing and severity of the next pandemic, numerous key questions still remain unanswered. The influence of multiple infections in a naive population is one of the uncertainties that are critical for improving our understanding

and for correctly describing a given pandemic. Our approach is based on the analysis of the shape and the timing of observed incidence time series in order to compare stochastic models constructed with different assumptions. Identification and comparison of models are achieved through two recent plug-and-play frameworks perfectly adapted to nonlinear stochastic models (Ionides *et al.*, 2006; Toni *et al.*, 2009). These frameworks are based on the frequentist (Ionides *et al.*, 2006) or on the bayesian (Toni *et al.*, 2009) philosophy and both allow for parameter inference and model selection.

D.2 Hypothesis Test

Our aim was to explain the unusual influenza epidemic that occurred on a small South-Atlantic island, named Tristan da Cunha, in 1971, 3 years after the emergence of new influenza A subtype H3N2. H3N2 was introduced by a ship returning from Cape-Town that landed five islanders on Tristan da Cunha. After the arrival of the ship an influenza epidemic occurred over 50 days. But after three weeks of propagation, while the epidemic was declining, some islanders developed second attacks and a second peak of new cases was recorded (see Figure D.1). Among the 284 islanders, 273 (96%) experienced at least one attack and 92 (32%) experienced two attacks (see Mantle & Tyrrell (1973) and *Material and Methods*).

Among all the explanations proposed to explain this two-wave epidemic, Mantle & Tyrrell (1973) concluded that the hypothesis of reinfection by the same viral agent was the only possible. However, they were unable to determine if antigenic change in the virus have occurred, allowing for second infection, or if some patients did not acquire an efficient immune protection and were reinfected by other patients. Thus, the first biological hypothesis (subsequently referred as the *MUT* hypothesis) assumes that virus mutated within infected hosts during the first epidemic-wave leading to the emergence of a new antigenically drifted variant. However given that it normally takes between 2 and 8 years at the scale of the global human population for a new variant to acquire significant antigenic changes (Smith *et al.*, 2004; Koelle *et al.*, 2006) and since second attacks occurred only three weeks after the beginning of the epidemic in a population of 284 individuals, we can reasonably assume that if a new variant emerged during the first wave it had to happen within a single infected host. The second biological hypothesis (subsequently referred as the *MI* hypothesis) assumes that following recovery

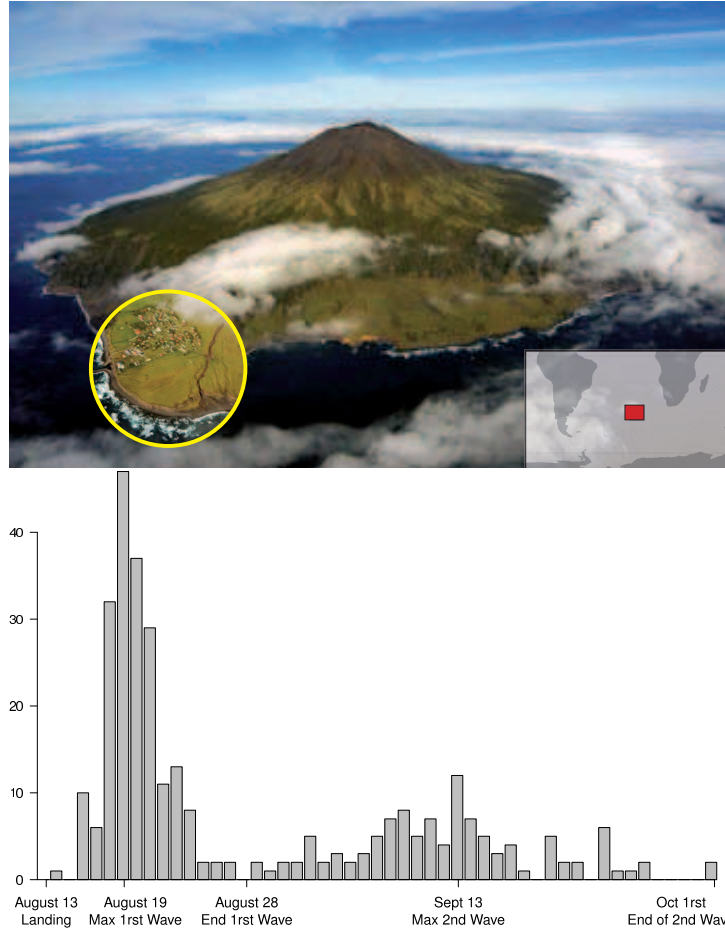


FIG. D.1: Geographical position of Tristan da Cunha and incidence time series

from infection some hosts acquire a long-term protective immunity against reinfection whereas some other become again fully susceptible to the virus. This assumption was previously introduced by Mathews *et al.* (2007). The third hypothesis (subsequently referred as the *PP* hypothesis) was previously introduced by Gomes *et al.* (2004a) and assumes that following recovery from infection all hosts develop an immune response that is not fully protective while reducing the risk of reinfection.

These 3 hypothesis have been translated into 3 different mathematical models (see Figure D.2 and *Materials and Methods*). Model parameters and their biological interpretation are given in table D.1. We used the stochastic framework for running these 3 models. Parameter inference and model selection were achieved through the plug-and-play framework proposed by Ionides *et al.* (2006). This frequentist approach converges to the maximum likelihood parameter set estimate for each model and allows therefore to compute the Akaike information criteria to select the model that best explain the data (see *Material and Methods*).

Symbol	Description	<i>MUT</i>	<i>MI</i>	<i>PP</i>
R_0	basic reproductive number	10.41	8.01	5.26
$1/e$	mean latent period (days)	2.42	1.96	1.51
$1/v$	mean infective period (days)	1.20	1.39	0.87
$1/g$	mean temporary removed period (days)	2.77	11.90	5.71
α	probability to develop long-term immunity after infection	-	0.48	-
$1-\sigma$	partial protection induced by a first attack	0.83	-	0.78
ρ	reporting rate for observation	0.68	0.69	0.65
T_{mut}	time of introduction of the new variant	23 rd august	-	-
$\mathcal{L}(\theta_{MLE})$	Log-likelihood for each model	-130.03	-106.13	-124.11
AIC_c	Akaike information criteria	279.41	231.61	267.57

TAB. D.1: Parameter description, maximum likelihood estimates and Akaike information criteria for each model

D.3 Results

Maximum likelihood estimate for the parameter set of each model is presented in table D.1. Estimates vary somewhat between models and are cha-

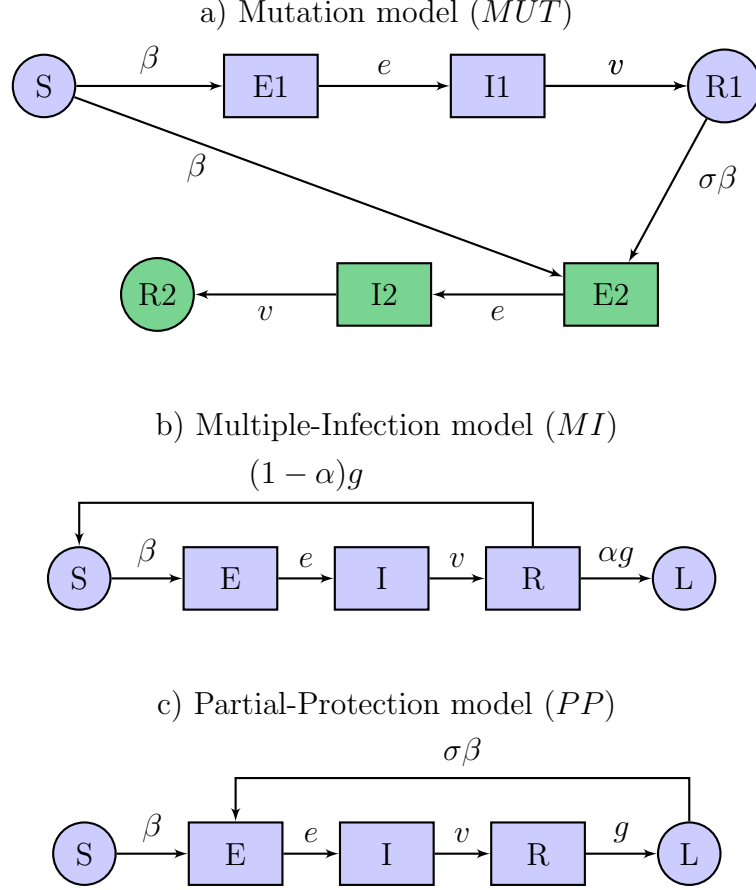


FIG. D.2: Three models with three different biological mechanisms. Square boxes stand for Erlang distribution for the residence durations into states E, I and R (shape $k = 2$ and mean values $1/e, 1/v$ and $1/g$). Circle boxes stand for simple exponential durations. Parameter description can be found in table D.1.

racterized by a high R_0 (> 5), an infective period of about one day and a latent period of about two days. Regarding the *MI* model estimate of α shows that in proportion about half of the infected hosts did not develop a long-term protective immunity after the first exposure. In contrast, for the *MUT* and *PP* models estimates of the level of cross-protection conferred by the first exposure is around 80%. This discrepancy is however balanced by a shorter temporary removed duration allowing hosts to be potentially faster reinfected in both *PP* and *MUT* models than in the *MI* model. The reporting rate (ρ) *i.e.* the proportion of the total cases that were reported, is estimated for all three models around 70%, which is under the minimal value of 85% due to data uncertainties (see *Material and Methods*). These parameter set estimates are confirmed by the bayesian approach of Toni *et al.* (2009) (see the supplementary document).

Figure D.3 compares the average prediction of each model with maximum likelihood parameter estimates. Whereas all three models easily fit the first wave only the *MI* model can capture the second wave. This observation is statistically confirmed by the Akaike information criteria which shows that the *MI* model best explains the data (see table D.1). We also note that the *MUT* model is the least likelihood.

In order to understand why neither *PP* nor *MUT* models succeed to capture the second wave epidemic (figure D.3) we calculated the evolution of the extinction probability. Thus for all three models we computed at each point in time the proportion of extinct simulations over 100000 stochastic realizations. Results are shown on figure D.3 and point out the role of demographic stochasticity. Indeed, whereas the extinction probability increases rapidly at the end of the first wave for both *PP* and *MUT* models, the *MI* model appears to be much more robust to stochastic extinctions during the inter-wave period. This conclusion is all the more surprising that estimate of the temporary removed duration ($1/g$) is well above for the *MI* model than for the other two. Regarding the *MUT* model, the sudden increase of the extinction probability corresponds to a high risk of failed invasion for the newly emerging variant in the population (Lloyd-Smith *et al.*, 2005). The case of the *PP* model is more complicated. Previous analysis of a similar but deterministic model (Gomes *et al.*, 2004a, 2005) have revealed that dynamics are depending on a reinfection parameter σR_0 . When this parameter is well above a reinfection threshold *i.e.* $\sigma R_0 > 1$, reinfection becomes self-sustained and dynamics are *SIS*-like whereas below this threshold primary infection dominates and leads to *SIR*-like dynamics. Estimate for our stochastic *PP*

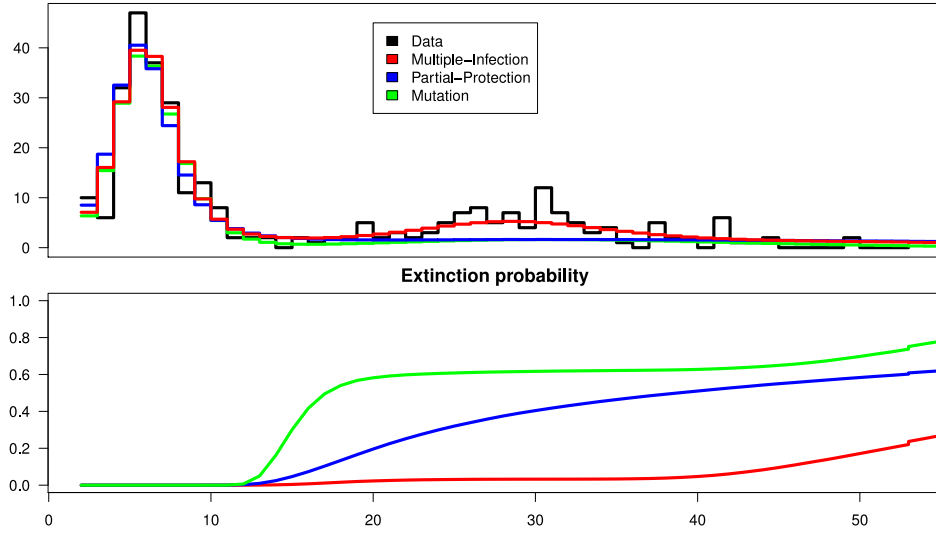


FIG. D.3: Average prediction of each model with maximum likelihood parameter estimates

model gives $\sigma R_0 = 1.3$ and indicates a critical dynamics : the reinfection parameter needs to be sufficiently high to reduce stochastic extinctions during the inter-wave period but in the same time it must be sufficiently low to avoid sustained reinfection leading to more than two epidemic waves. In other words the observed epidemic extinction after the second wave decreases the reinfection parameter and therefore increases the inter-wave extinction probability.

D.4 Discussion

In this study we propose to use simple mathematical models to disentangle between three biological mechanisms for explaining a two-wave epidemic of influenza A/H3N2 on the island of Tristan da Cunha in 1971. Following a model selection based on a rigorous statistical framework (Ionides *et al.*, 2006), we show that the most likely explanation is that only 50% of the patients developed a long-lasting protection against the virus after the first attack whereas unprotected hosts developed illness following re-exposure to the same virus and initiated the second epidemic wave.

In a previous study Mathews *et al.* (2007) fitted a flexible model (similar

to our *MI* model) on the same data set using a deterministic framework. Their parameter estimate was achieved via MCMC but after comparison of their mean estimate with our maximum likelihood estimate we find very close values except for the mean serial interval (infectious plus latent period), which is slightly greater in our study (2.24 vs. 3.4 days). We think that this discrepancy is mainly attributable to the incorporation of demographic stochasticity in our approach : by fitting a deterministic model Mathews *et al.* (2007) neglect the probability of stochastic extinction and implicitly underestimate the duration of the serial interval which plays a significant role during the inter-wave period. This remark emphasizes the need to use stochastic simulations for parameter inference whenever the population is low and/or demographic stochasticity is expected to play a significant role (Lloyd-Smith *et al.*, 2005).

Our estimates for the mean latent and infective periods of the *MI* model are close to previous published estimates (Cauchemez *et al.*, 2004) whereas the high value of the basic reproductive number is somewhat unexpected for influenza virus since R_0 is usually estimated around 2 (Lessler *et al.*, 2007). However the rapid spreading of the virus (the first peak was reached after 6 days only) as well as the unusually high attack rate, which is typical of small isolated communities (Brown *et al.*, 1966), and the exceptional contact configuration of the population of Tristan da Cunha (Samuels, 1963; Shibli *et al.*, 1971) give support to such a high R_0 value (Mathews *et al.*, 2009). Moreover, as we point out in the *Material and Methods*, the single influenza virus most islanders were exposed to before the epidemic of 1971 was a poly-valent influenza vaccine dating from 1961 (Tyrrell *et al.*, 1967). This vaccine contained only an H2N2 strain and a B strain and it is unlikely to have conferred protection against H3N2 (Brown *et al.*, 1969b,a). The high susceptibility of the islanders to influenza contrasts with existing prior-immunity in uninsulated communities and could contribute to the high estimated value of R_0 (McVernon *et al.*, 2007; McCaw *et al.*, 2009).

The hypothesis of homogeneous mixing underlying the infection process in our models may seem questionable even for the small population of Tristan da Cunha (Becker & Hopper, 1983). However it is a reasonable assumption since topographical or sociological grouping (Shibli *et al.*, 1971) are not expected to play a significant role on the progress of the epidemic (Hammond & Tyrrell, 1971).

From a more immunological stand point, human immune response to a novel antigen/virus remains poorly understood in the case of influenza although

it is of first importance for managing a new pandemic (Doherty *et al.*, 2006). This response varies among individuals and previous works have argued that such variability could depend on two factors : the way the antigen/virus is introduced into the organism and the immune history of the infected host. Indeed, it is commonly admitted that a single natural infection by an influenza strain confers life-long immunity against this strain whereas two vaccine injections may usually be necessary to guarantee protection. Regarding the immune history, hosts with prior exposure and pre-existent antibodies to several influenza strains have usually a better response to vaccination (Brown *et al.*, 1969b) although it has also been reported that these hosts could suffer from an original antigenic sin *i.e.* infection by a new influenza variant induces a strong recall of antibodies against previously encountered antigens but a weak immune response against the novel antigens (Kim *et al.*, 2009).

Nevertheless the original antigenic sin mechanism may not have been involved in the lack of immune response for 50% of the population of Tristan da Cunha since the level of prior-exposure to influenza virus was unusually low in this population. Moreover, previous studies of isolated naive communities have shown evidences for high specific immune response following natural infection (Brown *et al.*, 1966, 1969b,a).

Generally, isolated communities are expected to be less exposed, and then more susceptible, to many diseases otherwise commonly encountered in uninsulated populations. This obvious fact was confirmed for the population of Tristan da Cunha after its evacuation due to a volcano eruption in 1961. It was then reported that most adults suffered from children diseases during their 2-year stay in Great-Britain (Tyrrell *et al.*, 1967). Thus, regarding influenza, the naive population of Tristan da Cunha can reasonably be considered immunologically closer to child than to adults of uninsulated communities before the A/H3N2 epidemic of 1971.

Among the studies that have reported explicit cases of reinfection during pandemic or inter-pandemic seasons, some presented significant differences between children and adults the former being less protected than the latter (McVernon *et al.*, 2007). For example, Fox *et al.* (1982a,b) reported cases of reinfection by H3N2 during the period of 1975-1979 in Seattle families. Their serological analysis revealed that in those under (resp. above) age 20 years 36% (resp. 24%) were reinfected, 75% (resp. 17%) of whom developed illness. By comparing the HI titers of the two groups they found that high titers ($\geq 1 : 40$) were conferring protection against illness only in the above 20 year age group.

Whereas the study of Fox *et al.* was conducted during an inter-pandemic episode and over a much larger time scale than in our case-study, the reported infection pattern of the under 20 year age group seems very comparable to the one observed in the population of Tristan da Cunha.

On the other hand, even if it is not straightforward to compare vaccination with natural infection, vaccination experiments during past influenza pandemic tend also to support the idea that multiple infections in immunologically naive hosts are needed before mounting a protective immune response. For instance, whereas a single injection of H1N1 vaccine was giving as good response as two injections prior to 1957, the advent of H2N2 pandemic in 1957 changed the situation since two injections became necessary to confer protection (Holland *et al.*, 1958). The re-introduction of H1N1 in 1977-1978 also offers an interesting case study as two injections of vaccine were more effective than a single injection for children and young adults whereas less difference was detected in hosts infected with H1N1 at least 20 years earlier (Nicholson *et al.*, 1979).

In conclusion, the importance of the present analysis is to highlight the influence of reinfection in an influenza epidemic that occurred in the unusually well-documented population of Tristan da Cunha. Our results suggest that some people need multiple exposures to the virus before developing a sufficiently immunological response and a protective immunological memory. These historical data alone cannot prove the importance of reinfection and immunological maturation in influenza epidemics in a naive population nevertheless our findings suggest that it may play a non-negligible role and call for careful surveillance of naive populations, such as the youths, during pandemic episodes since even after a first attack these populations could be reinfected and keep the spread of the virus.

D.5 Materials and Methods

D.5.1 Data

Tristan da Cunha is a volcanic island in the South Atlantic Ocean. It has been inhabited since the 19th century and in 1971, the 284 islanders and 20 expatriates were living in the single village of the island : Edinburgh of the Seven Seas (Samuels (1963), Figure D.1). Whereas the internal contacts were typical of well-knit village communities, contacts with the outside world

were infrequent and mostly due to fishing vessels that occasionally were taking passengers to or from the island. These ships were often the cause of introduction of new diseases on the population. Focusing on influenza, several serological analysis between 1955 and 1963 provide important insight into the immune status of the 284 islanders before 1971. Following an epidemic of H1N1 in 1954 during which most of the islanders were infected, antibodies to older influenza A and B types were detected in islanders over 20 years of age (Taylor-Robinson & Tyrrell, 1963). In 1961 when the volcano erupted the island was evacuated to Britain via Cape-Town and the islanders were given a polyvalent influenza vaccine that contained an H2N2 strain and a recent B strain. Antibody studies showed a good response to this inoculation (Tyrrell *et al.*, 1967). Since the population returned to Tristan da Cunha in 1963, no influenza epidemic has been reported. In this context of a small population with weak and homogenous immune repertoire against influenza virus, an unusual epidemic occurred in 1971, 3 years after the emergence of new subtype H3N2.

On august 13th, a ship returning from Cape-Town landed five islanders on Tristan da Cunha. Three of them developed acute respiratory disease during the 8-day voyage and the other two presented similar symptoms immediately after landing. Various family gatherings welcomed their disembarkation and in the next day epidemic started to spread rapidly throughout the whole island population. After three weeks of propagation, while the epidemic was declining, some islanders developed second attacks and a second peak of new cases was recorded. The epidemic fade out after this second wave and lasted a total of fifty days.

Among the 284 islanders, 273 (96%) experienced at least one attack and 92 (32%, mainly adults) experienced two attacks. Only few individuals experienced their single attack during the second epidemic wave. Unfortunately, only 312 of the 365 attacks (85%) are known within a single day accuracy and constitute the data set (Mathews *et al.*, 2007). These uncertainties can nevertheless be managed since the statistical framework of Ionides *et al.* (2006) allows for measurement errors. A precise description of the clinical features of the illness as well as a review of the secondary infections were provided by Mantle & Tyrrell (1973). They reported that 85% of the first attacks were moderate or severe and this proportion decreased to 50% for the second attacks. However, they noted that 21 individuals experienced two severe attacks. Serological analysis of infected individuals demonstrated a high level of antibody against H3N2, a subtype the population was never exposed to.

Moreover, this high level was detectable in individuals infected only during the first or the second epidemic wave, attesting that the virus was circulating throughout the epidemic. Unfortunately, no virological analysis were conducted to show whether first and second attacks were due to antigenically differing strains of H3N2.

D.5.2 Models

We model the three hypotheses via three simple mechanistic models (Figure D.2). All the models use the same infection process : after exposure to influenza virus susceptible hosts (S) pass through a latent state (E) before becoming infectious (I). Infectious hosts enter the removed state (R) when they are temporary unable to participate to the epidemic spreading : this may be due to quarantine in bed or to temporary full-immunity because of cell-mediated protection. Time spent in the E, I and R classes follows an Erlang distribution with shape equal to 2 allowing for a larger, more realistic, variance than the exponential distribution. Note also that while in class R hosts are protected against reinfection.

The first model corresponds to the emergence of a new variant by Mutation (labeled MUT). It is implemented by a history-based 2-strains model. The new variant is introduced at a single point of time when an infectious host with strain 1 becomes infectious with strain 2 (for simplicity, co-infection is not allowed). Both strains are supposed to have the same transmissibility and to cross-react *i.e.* following infection by a single strain, as hosts leave the removed class R to enter the class L they benefit a reduction of susceptibility σ against infection by the other strain.

The second model corresponds to the assumption that some hosts need Multiple Infection before acquiring a long-term immunity (labeled MI). When leaving the temporary removed state (R), each host has a probability α to develop a long-term protection against reinfection entering class L , otherwise host becomes again fully susceptible to the virus and re-enter class S .

The third model corresponds to the assumption that long-term immunity is always developed after infection while only Partially Protective against reinfection (labeled PP). When leaving the temporary removed state (R), each host enters the long-term immunity class L and benefit a reduction of susceptibility σ against reinfection.

D.5.3 Simulation and model selection

Given the small population of Tristan da Cunha demographic stochasticity is expected to play a significant role in the epidemic dynamics, especially during the inter-wave period when the number of infected hosts is low and epidemic fade-out is likely to happen. We therefore used the stochastic framework of continuous-time Markov processes that naturally allows to take demographic stochasticity into account.

Identification and model comparison have been performed with a plug-and-play framework perfectly adapted to nonlinear stochastic models (Ionides *et al.*, 2006; Breto *et al.*, 2009; Toni *et al.*, 2009). In this paper we choose to use the frequentist framework of iterated filtering (Ionides *et al.*, 2006; King *et al.*, 2008) due to its computational efficiency. In addition we have confirmed the parameter inference for all models via the bayesian approach of Toni *et al.* (2009).

Numerical simulations were performed using the exact algorithm provided by Gillespie (1977). Model predicted incidence is computed by counting the daily number of new hosts entering the infectious class I . Since the data set reports only 85% of the total number of attacks and in order to take into account measurement errors, the observation process must also be modeled. We use a Poisson process observation whose reporting rate parameter (ρ) is also inferred (Ionides *et al.*, 2006; Breto *et al.*, 2009). Thus, we fitted each model to infer the parameter set that maximizes the likelihood. Convergence to the maximum likelihood was checked by computing profile likelihood (see the supplementary document). These parameter sets were used to simulate the average prediction of each model over 100000 runs and we computed the corresponding likelihood. Finally we used the Akaike information criteria to select the model that best explain the data : $AIC_c = -2\mathcal{L}(\theta_{MLE}) + 2k + \frac{2k(k+1)}{n-k-1}$ where k is the number of parameters and n is the number of observations.

Bibliographie

- ADAMS, B. & BOOTS, M. (2006). Modelling the relationship between antibody-dependent enhancement and immunological distance with application to dengue. *J Theor Biol*, 242(2):337–346.
- ADAMS, B., HOLMES, E. C., ZHANG, C., MAMMEN, M. P., NIMMANNITYA, S., KALAYANAROOJ, S. & BOOTS, M. (2006). Cross-protective immunity can account for the alternating epidemic pattern of dengue virus serotypes circulating in bangkok. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103(38):14234–14239.
- ADAMS, B. & SASAKI, A. (2007). Cross-immunity, invasion and coexistence of pathogen strains in epidemiological models with one-dimensional antigenic space. *Mathematical Biosciences*, 210(2):680–699.
- AGUIAR, M. & STOLLENWERK, N. (2007). A new chaotic attractor in a basic multi-strain epidemiological model with temporary cross-immunity. *ArXiv e-prints*, 704.
- ALIZON, S. (2008). Transmission-recovery trade-offs to study parasite evolution. *Am Nat*, 172(3):E113–E121.
- ALIZON, S. & van BAALEN, M. (2008). Acute or chronic ? within-host models with immune dynamics, infection outcome, and parasite evolution. *Am Nat*, 172(6):E244–E256.
- ALONSO, D., MCKANE, A. J. & PASCUAL, M. (2007a). Stochastic amplification in epidemics. *J R Soc Interface*, 4(14):575–582.
- ALONSO, W. J., VIBOUD, C., SIMONSEN, L., HIRANO, E. W., DAUFENBACH, L. Z. & MILLER, M. A. (2007b). Seasonality of influenza in brazil : a traveling wave from the amazon to the subtropics. *Am J Epidemiol*, 165(12):1434–1442.

- ANDERSON, R. M. & MAY, R. M. (1992). *Infectious Diseases of Humans Dynamics and Control*.
- ANDREASEN, V., LIN, J. & LEVIN, S. A. (1997). The dynamics of cocirculating influenza strains conferring partial cross-immunity. *Journal of Mathematical Biology*, 35(7):825–842.
- ANDREASEN, V. & SASAKI, A. (2006). Shaping the phylogenetic tree of influenza by cross-immunity. *Theor Popul Biol*, 70(2):164–173.
- ANTIA, R., REGOES, R. R., KOELLA, J. C. & BERGSTROM, C. T. (2003). The role of evolution in the emergence of infectious diseases. *Nature*, 426(6967):658–661.
- ARMELAGOS, G. J., BROWN, P. J. & TURNER, B. (2005). Evolutionary, historical and political economic perspectives on health and disease. *Soc Sci Med*, 61(4):755–765.
- BALLESTEROS, S., VERGU, E. & CAZELLES, B. (2009). Influenza a gradual and epochal evolution : insights from simple models. *PLoS One*, 4(10):e7426.
- BARRY, J. M., VIBOUD, C. & SIMONSEN, L. (2008). Cross-protection between successive waves of the 1918-1919 influenza pandemic : epidemiological evidence from US Army camps and from Britain. *The Journal of infectious diseases*, 198:1427–34.
- BARTLETT, M. S. (1957). Measles periodicity and community size. *Journal of the Royal Statistical Society. Series A (General)*, 120(1):48–70.
- BARTLETT, M. S. (1960). The critical community size for measles in the united states. *Journal of the Royal Statistical Society. Series A (General)*, 123(1):37–44.
- BARTLETT, M. S. (1964). The relevance of stochastic models for large-scale epidemiological phenomena. *Applied Statistics*, 13(1):2–8.
- BAUCH, C. T. & EARN, D. J. D. (2003). Transients and attractors in epidemics. *Proc Biol Sci*, 270(1524):1573–1578.

- BECKER, N. & HOPPER, J. L. (1983). Assessing the heterogeneity of disease spread through a community. *American journal of epidemiology*, 117:362–74.
- BELSHAW, R., GARDNER, A., RAMBAUT, A. & PYBUS, O. G. (2008). Pacing a small cage : mutation and rna viruses. *Trends Ecol Evol*, 23(4):188–193.
- BJORNSTAD, O. N., FINKENSTADT, B. F. & GRENFELL, B. T. (2002). Dynamics of measles epidemics : Estimating scaling of transmission rates using a time series sir model. *Ecological Monographs*, 72(2):169–184.
- BJØRNSTAD, O. N. & HARVILL, E. T. (2005). Evolution and emergence of bordetella in humans. *Trends Microbiol*, 13(8):355–359.
- BLACK, F. L. (1975). Infectious diseases in primitive societies. *Science*, 187(4176):515–518.
- BLACKBURNE, B. P., HAY, A. J. & GOLDSTEIN, R. A. (2008). Changing selective pressure during antigenic changes in human influenza h3. *PLoS Pathog*, 4(5):e1000058.
- BLASIUS, B., HUPPERT, A. & STONE, L. (1999). Complex dynamics and phase synchronization in spatially extended ecological systems. *Nature*, 399(6734):354–359.
- BRETO, C., HE, D., IONIDES, E. L. & KING, A. A. (2009). Time series analysis via mechanistic models. *ANNALS OF APPLIED STATISTICS*, 3:319.
- BROWN, P., GAJDUSEK, D. C., CHEN, K. M. & MORRIS, J. A. (1969a). Antigenic response to influenza virus in man. ii. neutralizing antibody response to inactivated monovalent b vaccine, with observations on vaccine efficacy during a subsequent type b epidemic. *Am J Epidemiol*, 90(4):336–343.
- BROWN, P., GAJDUSEK, D. C. & MORRIS, J. A. (1966). Epidemic a2 influenza in isolated pacific island populations without pre-epidemic antibody to influenza virus types a and b, and the discovery of other still unexposed populations. *Am J Epidemiol*, 83(1):176–188.
- BROWN, P., GAJDUSEK, D. C. & MORRIS, J. A. (1969b). Antigenic response to influenza virus in man. i. neutralizing antibody response to inactivated

- monovalent a2 vaccine as related to prior influenza exposure. *Am J Epidemiol*, 90(4):327–335.
- BRYANT, J. E., HOLMES, E. C. & BARRETT, A. D. T. (2007). Out of africa : a molecular perspective on the introduction of yellow fever virus into the americas. *PLoS Pathog*, 3(5):e75.
- BULL, J. J., MEYERS, L. A. & LACHMANN, M. (2005). Quasispecies made simple. *PLoS Comput Biol*, 1(6):e61.
- BULL, J. J., SANJUÁN, R. & WILKE, C. O. (2007). Theory of lethal mutagenesis for viruses. *J Virol*, 81(6):2930–2939.
- BUSH, R. M., BENDER, C. A., SUBBARAO, K., COX, N. J. & FITCH, W. M. (1999). Predicting the evolution of human influenza a. *Science*, 286(5446):1921–1925.
- BUSH, R. M., SMITH, C. B., COX, N. J. & FITCH, W. M. (2000). Effects of passage history and sampling bias on phylogenetic reconstruction of human influenza a evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97(13):6974–6980.
- CARRAT, F., LAVENU, A., CAUCHEMEZ, S. & DELEGER, S. (2006). Repeated influenza vaccination of healthy children and adults : borrow now, pay later ? *Epidemiol Infect*, 134(1):63–70.
- CARRAT, F., VERGU, E., FERGUSON, N. M., LEMAITRE, M., CAUCHEMEZ, S., LEACH, S. & VALLERON, A.-J. (2008). Time lines of infection and disease in human influenza : a review of volunteer challenge studies. *Am J Epidemiol*, 167(7):775–785.
- CAUCHEMEZ, S., CARRAT, F., VIBOUD, C., VALLERON, A. J. & BOËLLE, P. Y. (2004). A bayesian mcmc approach to study transmission of influenza : application to household longitudinal data. *Stat Med*, 23(22):3469–3487.
- CHEN, R. & HOLMES, E. C. (2006). Avian influenza virus exhibits rapid evolutionary dynamics. *Mol Biol Evol*, 23(12):2336–2341.
- CHOWELL, G., MILLER, M. A. & VIBOUD, C. (2007). Seasonal influenza in the united states, france, and australia : transmission and prospects for control. *Epidemiol Infect*, pages 1–13.

- COBEY, S. & KOELLE, K. (2008). Capturing escape in infectious disease dynamics. *Trends Ecol Evol*, 23(10):572–577.
- CONLAN, A. J. K. & GRENFELL, B. T. (2007). Seasonality and the persistence and invasion of measles. *Proc Biol Sci*, 274(1614):1133–1141.
- COOPER, B. S., PITMAN, R. J., EDMUNDS, W. J. & GAY, N. J. (2006). Delaying the international spread of pandemic influenza. *PLoS Med*, 3(6):e212.
- COX, N. J. & SUBBARAO, K. (2000). Global epidemiology of influenza : past and present. *Annu Rev Med*, 51:407–421.
- CUMMINGS, D. A. T., SCHWARTZ, I. B., BILLINGS, L., SHAW, L. B. & BURKE, D. S. (2005). Dynamic effects of antibody-dependent enhancement on the fitness of viruses. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102(42):15259–15264.
- DASZAK, P., CUNNINGHAM, A. A. & HYATT, A. D. (2000). Emerging infectious diseases of wildlife—threats to biodiversity and human health. *Science*, 287(5452):443–449.
- DASZAK, P., TABOR, G. M., KILPATRICK, A. M., EPSTEIN, J. & PLOWRIGHT, R. (2004). Conservation medicine and a new agenda for emerging diseases. *Ann N Y Acad Sci*, 1026:1–11.
- DAWES, J. H. P. & GOG, J. R. (2002). The onset of oscillatory dynamics in models of multiple disease strains. *J Math Biol*, 45(6):471–510.
- DAY, T., ANDRÉ, J.-B. & PARK, A. (2006). The evolutionary emergence of pandemic influenza. *Proc Biol Sci*, 273(1604):2945–2953.
- de JONG, M. D., SIMMONS, C. P., THANH, T. T., HIEN, V. M., SMITH, G. J. D., CHAU, T. N. B., HOANG, D. M., CHAU, N. V. V., KHANH, T. H., DONG, V. C., QUI, P. T., CAM, B. V., HA, D. Q., GUAN, Y., PEIRIS, J. S. M., CHINH, N. T., HIEN, T. T. & FARRAR, J. (2006). Fatal outcome of human influenza a (h5n1) is associated with high viral load and hypercytokinemia. *Nat Med*, 12(10):1203–1207.
- de ST GROTH, F. & WEBSTER, R. G. (1966a). Disquisitions of original antigenic sin. i. evidence in man. *J Exp Med*, 124(3):331–345.

- de ST GROTH, F. & WEBSTER, R. G. (1966b). Disquisitions on original antigenic sin. ii. proof in lower creatures. *J Exp Med*, 124(3):347–361.
- DESPOMMIER, D., ELLIS, B. & WILCOX, B. (2006). The role of ecotones in emerging infectious diseases. *EcoHealth*, 3(4):281–289.
- DIAMOND, J. (1999). *Guns, Germs, And Steel : The Fates of Human Societies*.
- DIAMOND, J. (2002). Evolution, consequences and future of plant and animal domestication. *Nature*, 418(6898):700–707.
- DIECKMANN, U., METZ, J., SABELIS, M. & SIGMUND, K. (2002). *Adaptive Dynamics of Infectious Diseases : In Pursuit of Virulence Management*. Cambridge University Press.
- DIEKMANN, O. & HEESTERBEEK, J. (2000). *Mathematical Epidemiology of Infectious Diseases : model building, analysis and interpretation*. John Wiley and Sons, Chichester.
- DOHERTY, P. C., TURNER, S. J., WEBBY, R. G. & THOMAS, P. G. (2006). Influenza and the challenge for immunology. *Nat Immunol*, 7(5):449–455.
- DOWDLE, W. R. (1999). Influenza a virus recycling revisited. *Bull World Health Organ*, 77(10):820–828.
- DOWDLE, W. R. (2006). Influenza pandemic periodicity, virus recycling, and the art of risk assessment. *Emerg Infect Dis*, 12(1):34–39.
- DU, X., WANG, Z., WU, A., SONG, L., CAO, Y., HANG, H. & JIANG, T. (2008). Networks of genomic co-occurrence capture characteristics of human influenza a (h3n2) evolution. *Genome Res.*, 18(1):178–187.
- DUDLEY, S. (1926). The spread of "Droplet Infection" in Semi-isolated Communities. Oxford, UK : His majesty's Stationery Office. FluWeb Historical Influenza Database, <http://influenza.sph.unimelb.edu.au>, accessed [november 2009].
- DUFFY, S., SHACKELTON, L. A. & HOLMES, E. C. (2008). Rates of evolutionary change in viruses : patterns and determinants. *Nat Rev Genet*, 9(4):267–276.

- DUGAN, V. G., CHEN, R., SPIRO, D. J., SENGAMALAY, N., ZABORSKY, J., GHEDIN, E., NOLTING, J., SWAYNE, D. E., RUNSTADLER, J. A., HAPP, G. M., SENNE, D. A., WANG, R., SLEMONS, R. D., HOLMES, E. C. & TAUBENBERGER, J. K. (2008). The evolutionary genetics and emergence of avian influenza viruses in wild birds. *PLoS Pathog*, 4(5):e1000076.
- DUSHOFF, J., PLOTKIN, J. B., LEVIN, S. A. & EARN, D. J. D. (2004). Dynamical resonance can account for seasonality of influenza epidemics. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101(48):16915–16916.
- EARN, D. J., ROHANI, P., BOLKER, B. M. & GRENFELL, B. T. (2000). A simple model for complex dynamical transitions in epidemics. *Science*, 287(5453):667–670.
- EARN, D. J. D., DUSHOFF, J. & LEVIN, S. A. (2002). Ecology and evolution of the flu. *Trends in Ecology & Evolution*, 17(7):334–340.
- EPSTEIN, S. L. (2006). Prior h1n1 influenza infection and susceptibility of cleveland family study participants during the h2n2 pandemic of 1957 : an experiment of nature. *J Infect Dis*, 193(1):49–53.
- FERGUSON, N., ANDERSON, R. & GUPTA, S. (1999). The effect of antibody-dependent enhancement on the transmission dynamics and persistence of multiple-strain pathogens. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96(2):790–794.
- FERGUSON, N. M., CUMMINGS, D. A. T., CAUCHEMEZ, S., FRASER, C., RILEY, S., MEEYAI, A., IAMSIRITHAWORN, S. & BURKE, D. S. (2005). Strategies for containing an emerging influenza pandemic in southeast asia. *Nature*, 437(7056):209–214.
- FERGUSON, N. M., GALVANI, A. P. & BUSH, R. M. (2003). Ecological and immunological determinants of influenza evolution. *Nature*, 422(6930):428–433.
- FINKELMAN, B. S., VIBOUD, C., KOELLE, K., FERRARI, M. J., BHARTI, N. & GRENFELL, B. T. (2007). Global patterns in seasonal activity of influenza a/h3n2, a/h1n1, and b from 1997 to 2005 : viral coexistence and latitudinal gradients. *PLoS One*, 2(12):e1296.
- FINKENSTÄDT, B. F., MORTON, A. & RAND, D. A. (2005). Modelling antigenic drift in weekly flu incidence. *Stat Med*, 24(22):3447–3461.

- FITCH, W. M., BUSH, R. M., BENDER, C. A. & COX, N. J. (1997). Long term trends in the evolution of h(3) ha1 human influenza type a. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94(15):7712–7718.
- FITCH, W. M., LEITER, J. M., LI, X. Q. & PALESE, P. (1991). Positive darwinian evolution in human influenza a viruses. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 88(10):4270–4274.
- FOX, J. P., COONEY, M. K., HALL, C. E. & FOY, H. M. (1982a). Influenza-virus infections in seattle families, 1975-1979. ii. pattern of infection in invaded households and relation of age and prior antibody to occurrence of infection and related illness. *Am J Epidemiol*, 116(2):228–242.
- FOX, J. P., HALL, C. E., COONEY, M. K. & FOY, H. M. (1982b). Influenza-virus infections in seattle families, 1975-1979. i. study design, methods and the occurrence of infections by time and age. *Am J Epidemiol*, 116(2):212–227.
- FRANCIS, Thomas, J. (1960). On the doctrine of original antigenic sin. *Proceedings of the American Philosophical Society*, 104(6):572–578.
- FRANCIS, T. (1953). Vaccination against influenza. *Bull World Health Organ*, 8(5-6):725–741.
- FRANK, S. A. (2002). *Immunology and evolution of infectious disease*. Princeton University Press.
- FRANK, S. A. & BUSH, R. M. (2007). Barriers to antigenic escape by pathogens : trade-off between reproductive rate and antigenic mutability. *BMC Evol Biol*, 7:229.
- FRASER, C., DONNELLY, C. A., CAUCHEMEZ, S., HANAGE, W. P., KERKHOVE, M. D. V., HOLLINGSWORTH, T. D., GRIFFIN, J., BAGGALEY, R. F., JENKINS, H. E., LYONS, E. J., JOMBART, T., HINSLEY, W. R., GRASSLY, N. C., BALLOUX, F., GHANI, A. C., FERGUSON, N. M., RAMBAUT, A., PYBUS, O. G., LOPEZ-GATELL, H., ALPUCHE-ARANDA, C. M., CHAPELA, I. B., ZAVALA, E. P., GUEVARA, D. M. E., CHECCHI, F., GARCIA, E., HUGONNET, S., ROTH, C. & COLLABORATION, W. H. O. R. P. A. (2009). Pandemic potential of a strain of influenza a (h1n1) : early findings. *Science*, 324(5934):1557–1561.

- GALASSI, M., DAVIES, J., THEILER, J., GOUGH, B., JUNGMAN, G., BOOTH, M. & ROSSI, F. (2003). *Gnu Scientific Library : Reference Manual*. Network Theory Ltd.
- GILL, P. W. & MURPHY, A. M. (1977). Naturally acquired immunity to influenza type a : a further prospective study. *Med J Aust*, 2(23):761–765.
- GILLESPIE, D. T. (1977). Exact stochastic simulation of coupled chemical reactions. *The Journal of Physical Chemistry*, 81(25):2340–2361.
- GINZBURG, L. R. & JENSEN, C. X. J. (2004). Rules of thumb for judging ecological theories. *Trends Ecol Evol*, 19(3):121–126.
- GIRVAN, M., CALLAWAY, D. S., NEWMAN, M. E. J. & STROGATZ, S. H. (2002). Simple model of epidemics with pathogen mutation. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys*, 65(3 Pt 1):031915.
- GOG, J. R. (2008). The impact of evolutionary constraints on influenza dynamics. *Vaccine*, 26 Suppl 3:C15–C24.
- GOG, J. R. & GRENFELL, B. T. (2002). Dynamics and selection of many-strain pathogens. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99(26):17209–17214.
- GOG, J. R., RIMMELZWAAN, G. F., OSTERHAUS, A. D. M. E. & GRENFELL, B. T. (2003). Population dynamics of rapid fixation in cytotoxic t lymphocyte escape mutants of influenza a. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100(19):11143–11147.
- GOG, J. R. & SWINTON, J. (2002). A status-based approach to multiple strain dynamics. *J Math Biol*, 44(2):169–184.
- GOMES, M. G. M., FRANCO, A. O., GOMES, M. C. & MEDLEY, G. F. (2004a). The reinfection threshold promotes variability in tuberculosis epidemiology and vaccine efficacy. *Proc Biol Sci*, 271(1539):617–623.
- GOMES, M. G. M., MEDLEY, G. F. & NOKES, D. J. (2002). On the determinants of population structure in antigenically diverse pathogens. *Proc Biol Sci*, 269(1488):227–233.
- GOMES, M. G. M., WHITE, L. J. & MEDLEY, G. F. (2004b). Infection, reinfection, and vaccination under suboptimal immune protection : epidemiological perspectives. *J Theor Biol*, 228(4):539–549.

- GOMES, M. G. M., WHITE, L. J. & MEDLEY, G. F. (2005). The reinfection threshold. *J Theor Biol*, 236(1):111–113.
- GRAIS, R. F., ELLIS, J. H. & GLASS, G. E. (2003). Assessing the impact of airline travel on the geographic spread of pandemic influenza. *Eur J Epidemiol*, 18(11):1065–1072.
- GREBE, K. M., YEWDELL, J. W. & BENNINK, J. R. (2008). Heterosubtypic immunity to influenza a virus : where do we stand ? *Microbes Infect*, 10(9): 1024–1029.
- GRENFELL, B. T., BJØRNSTAD, O. N. & KAPPEY, J. (2001). Travelling waves and spatial hierarchies in measles epidemics. *Nature*, 414(6865):716–723.
- GRENFELL, B. T., PYBUS, O. G., GOG, J. R., WOOD, J. L. N., DALY, J. M., MUMFORD, J. A. & HOLMES, E. C. (2004). Unifying the epidemiological and evolutionary dynamics of pathogens. *Science*, 303(5656):327–332.
- GUPTA, S., FERGUSON, N. & ANDERSON, R. (1998). Chaos, persistence, and evolution of strain structure in antigenically diverse infectious agents. *Science*, 280(5365):912–915.
- GÖKAYDIN, D., OLIVEIRA-MARTINS, J. B., GORDO, I. & GOMES, M. G. M. (2007). The reinfection threshold regulates pathogen diversity : the case of influenza. *J R Soc Interface*, 4(12):137–142.
- HAMMOND, B. J. & TYRRELL, D. A. J. (1971). A mathematical model of common-cold epidemics on tristan da cunha. *The Journal of Hygiene*, 69(3):423–433.
- HAY, A. J., GREGORY, V., DOUGLAS, A. R. & LIN, Y. P. (2001). The evolution of human influenza viruses. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 356(1416):1861–1870.
- HILLEMAN, M. R. (2002). Realities and enigmas of human viral influenza : pathogenesis, epidemiology and control. *Vaccine*, 20(25-26):3068–3087.
- HOLLAND, W. W., ISAACS, A., CLARKE, S. K. & HEATH, R. B. (1958). A serological trail of asian-influenza vaccine after the autumn epidemic. *Lancet*, 1(7025):820–822.

- HOLMES, E. C. (2003). Error thresholds and the constraints to rna virus evolution. *Trends Microbiol*, 11(12):543–546.
- HOLMES, E. C. (2007). Viral evolution in the genomic age. *PLoS Biology*, 5(10):e278.
- HOLMES, E. C. (2008). Evolutionary history and phylogeography of human viruses. *Annu Rev Microbiol*, 62:307–328.
- HOLMES, E. C., GHEDIN, E., MILLER, N., TAYLOR, J., BAO, Y., GEORGE, K. S., GRENFELL, B. T., SALZBERG, S. L., FRASER, C. M., LIPMAN, D. J. & TAUBENBERGER, J. K. (2005). Whole-genome analysis of human influenza a virus reveals multiple persistent lineages and reassortment among recent h3n2 viruses. *PLoS Biol*, 3(9):e300.
- HOLMES, E. C. & GRENFELL, B. T. (2009). Discovering the phylodynamics of rna viruses. *PLoS Comput Biol*, 5(10):e1000505.
- HOLMES, E. C. & TWIDDY, S. S. (2003). The origin, emergence and evolutionary genetics of dengue virus. *Infect Genet Evol*, 3(1):19–28.
- IONIDES, E. L., BRETÓ, C. & KING, A. A. (2006). Inference for nonlinear dynamical systems. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103(49):18438–18443.
- ITOH, Y., SHINYA, K., KISO, M., WATANABE, T., SAKODA, Y., HATTA, M., MURAMOTO, Y., TAMURA, D., SAKAI-TAGAWA, Y., NODA, T., SAKABE, S., IMAI, M., HATTA, Y., WATANABE, S., LI, C., YAMADA, S., FUJII, K., MURAKAMI, S., IMAI, H., KAKUGAWA, S., ITO, M., TAKANO, R., IWATSUKI-HORIMOTO, K., SHIMOJIMA, M., HORIMOTO, T., GOTO, H., TAKAHASHI, K., MAKINO, A., ISHIGAKI, H., NAKAYAMA, M., OKAMATSU, M., TAKAHASHI, K., WARSHAUER, D., SHULT, P. A., SAITO, R., SUZUKI, H., FURUTA, Y., YAMASHITA, M., MITAMURA, K., NAKANO, K., NAKAMURA, M., BROCKMAN-SCHNEIDER, R., MITAMURA, H., YAMAZAKI, M., SUGAYA, N., SURESH, M., OZAWA, M., NEUMANN, G., GERN, J., KIDA, H., OGASAWARA, K. & KAWAOKA, Y. (2009). In vitro and in vivo characterization of new swine-origin h1n1 influenza viruses. *Nature*, 460(7258):1021–1025.
- JANEWAY, C., TRAVERS, P., WALPORT, M. & CAPRA, J. (1999). *Immunobiology. The immune system in health and disease. 4th Edition*. Current Biology Ltd./Garland Publishing Inc. Churchill Livingstone.

- JEFFRIES, R., ROCKWELL, R. & ABRAHAM, K. (2004). The embarrassment of riches : agricultural food subsidies, high goose numbers, and loss of atic wetlands- a continuing saga. *Environment Review*, 11:193–232.
- JENSEN, K. E. & PETERSON, W. D. (1957). Comparative measurements of antigenic differences among human and swine influenza viruses. *J Immunol*, 78(5):365–372.
- JIN, H., ZHOU, H., LIU, H., CHAN, W., ADHIKARY, L., MAHMOOD, K., LEE, M.-S. & KEMBLE, G. (2005). Two residues in the hemagglutinin of a/fujian/411/02-like influenza viruses are responsible for antigenic drift from a/panama/2007/99. *Virology*, 336(1):113–119.
- JONES, K. E., PATEL, N. G., LEVY, M. A., STOREYGARD, A., BALK, D., GITTLEMAN, J. L. & DASZAK, P. (2008). Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, 451(7181):990–993.
- KAMO, M. & SASAKI, A. (2002). The effect of cross-immunity and seasonal forcing in a multi-strain epidemic model. *pyhysica D*, 165(165):228–241.
- KANTZ, H. & SCHREIBER, T. (2003). *Nonlinear Time Series Analysis*. Cambridge University Press, New York, NY, USA.
- KAPAN, D., BENNETT, S., ELLIS, B., FOX, J., LEWIS, N., SPENCER, J., SAKSENA, S. & WILCOX, B. (2006). Avian influenza (h5n1) and the evolutionary and social ecology of infectious disease emergence. *EcoHealth*, 3(3):187–194.
- KAWAGUCHI, I., SASAKI, A. & BOOTS, M. (2003). Why are dengue virus serotypes so distantly related? enhancement and limiting serotype similarity between dengue virus strains. *Proc Biol Sci*, 270(1530):2241–2247.
- KEELING, M. (2000). Evolutionary trade-offs at two time-scales : competition versus persistence. *Proc Biol Sci*, 267(1441):385–391.
- KEELING, M. J. & GRENFELL, B. T. (1997). Disease extinction and community size : modeling the persistence of measles. *Science*, 275(5296):65–67.
- KEELING, M. J. & GRENFELL, B. T. (2002). Understanding the persistence of measles : reconciling theory, simulation and observation. *Proc Biol Sci*, 269(1489):335–343.

- KILBOURNE, E. D. (2006). Influenza pandemics of the 20th century. *Emerg Infect Dis*, 12(1):9–14.
- KILBOURNE, E. D., SMITH, C., BRETT, I., POKORNY, B. A., JOHANSSON, B. & COX, N. (2002). The total influenza vaccine failure of 1947 revisited : major intrasubtypic antigenic change can explain failure of vaccine in a post-world war ii epidemic. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99(16):10748–10752.
- KILPATRICK, A. M., CHMURA, A. A., GIBBONS, D. W., FLEISCHER, R. C., MARRA, P. P. & DASZAK, P. (2006). Predicting the global spread of h5n1 avian influenza. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103(51):19368–19373.
- KIM, J. H., SKOUNTZOU, I., COMPANS, R. & JACOB, J. (2009). Original antigenic sin responses to influenza viruses. *J Immunol*, 183(5):3294–3301.
- KING, A. A., IONIDES, E. L., PASCUAL, M. & BOUMA, M. J. (2008). Inapparent infections and cholera dynamics. *Nature*, 454(7206):877–880.
- KING, A. A., SHRESTHA, S., HARVILL, E. T. & BJØRNSTAD, O. N. (2009). Evolution of acute infections and the invasion-persistence trade-off. *Am Nat*, 173(4):446–455.
- KOELLE, K., COBEY, S., GRENFELL, B. & PASCUAL, M. (2006). Epochal evolution shapes the phylodynamics of interpandemic influenza a (h3n2) in humans. *Science*, 314(5807):1898–1903.
- KOELLE, K., KAMRADT, M. & PASCUAL, M. (2009). Understanding the dynamics of rapidly evolving pathogens through modeling the tempo of antigenic change : Influenza as a case study. *Epidemics*, 1(2):129–137.
- KRYAZHIMSKIY, S., DIECKMANN, U., LEVIN, S. A. & DUSHOFF, J. (2007). On state-space reduction in multi-strain pathogen models, with an application to antigenic drift in influenza a. *PLoS Comput Biol*, 3(8):e159.
- LANGE, A. & FERGUSON, N. M. (2009). Antigenic diversity, transmission mechanisms, and the evolution of pathogens. *PLoS Comput Biol*, 5(10):e1000536.
- LAVENU, A., LERUEZ-VILLE, M., CHAIX, M.-L., BOELLE, P.-Y., ROGEZ, S., FREYMUTH, F., HAY, A., ROUZIOUX, C. & CARRAT, F. (2006). Detailed

- analysis of the genetic evolution of influenza virus during the course of an epidemic. *Epidemiol Infect*, 134(3):514–520.
- LAVENU, A., VALLERON, A.-J. & CARRAT, F. (2004). Exploring cross-protection between influenza strains by an epidemiological model. *Virus Res*, 103(1-2):101–105.
- LEIBLER, J., OTTE, J., ROLAND-HOLST, D., PFEIFFER, D., SOARES MAGALHAES, R., RUSHTON, J., GRAHAM, J. & SILBERGELD, E. (2009). Industrial food animal production and global health risks : Exploring the ecosystems and economics of avian influenza. *EcoHealth*, 6(1):58–70.
- LEMLY, KINGSFORD & THOMPSON (2000). Irrigated agriculture and wildlife conservation : Conflict on a global scale. *Environ Manage*, 25(5):485–512.
- LESSLER, J., CUMMINGS, D. A. T., FISHMAN, S., VORA, A. & BURKE, D. S. (2007). Transmissibility of swine flu at fort dix, 1976. *J R Soc Interface*, 4(15):755–762.
- LIN, J., ANDREASEN, V. & LEVIN, S. A. (1999). Dynamics of influenza a drift : the linear three-strain model. *Math Biosci*, 162(1-2):33–51.
- LIN, Y. P., GREGORY, V., BENNETT, M. & HAY, A. (2004). Recent changes among human influenza viruses. *Virus Res*, 103(1-2):47–52.
- LIPSITCH, M. & VIBOUD, C. (2009). Influenza seasonality : lifting the fog. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106(10):3645–3646.
- LIU, W. M., HETHCOTE, H. W. & LEVIN, S. A. (1987). Dynamical behavior of epidemiological models with nonlinear incidence rates. *J Math Biol*, 25(4):359–380.
- LLOYD-SMITH, J. O., CROSS, P. C., BRIGGS, C. J., DAUGHERTY, M., GETZ, W. M., LATTO, J., SANCHEZ, M. S., SMITH, A. B. & SWEI, A. (2005). Should we expect population thresholds for wildlife disease? *Trends in Ecology & Evolution*, 20(9):511–519.
- LOPMAN, B., ZAMBON, M. & BROWN, D. W. (2008). The evolution of norovirus, the "gastric flu". *PLoS Med*, 5(2):e42.
- MANTLE, J. & TYRRELL, D. (1973). An epidemic of influenza on tristan da cunha. *The Journal of Hygiene*, 71:89–95.

- MATHEWS, J. D., CHESSON, J. M., MCCAW, J. M. & McVERNON, J. (2009). Understanding influenza transmission, immunity and pandemic threats. *Influenza Other Respi Viruses*, 3(4):143–149.
- MATHEWS, J. D., MCCAW, C. T., McVERNON, J., McBRYDE, E. S. & MCCAW, J. M. (2007). A biological model for influenza transmission : Pandemic planning implications of asymptomatic infection and immunity. *PLoS ONE*, 2(11):e1220.
- MCCAW, J. M., McVERNON, J., McBRYDE, E. S. & MATHEWS, J. D. (2009). Influenza : accounting for prior immunity. *Science*, 325(5944):1071 ; author reply 1072–1071 ; author reply 1073.
- McMICHAEL, A. J. (2004). Environmental and social influences on emerging infectious diseases : past, present and future. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 359(1447):1049–1058.
- McMICHAEL, T. (2001). *Human frontiers, environments, and disease : past patterns, uncertain futures*.
- McVERNON, J., MCCAW, C. & MATHEWS, J. (2007). Model answers or trivial pursuits ? the role of mathematical models in influenza pandemic preparedness planning. *Influenza and Other Respiratory Viruses*, 1(2):43–54.
- MERLER, S., POLETTI, P., AJELLI, M., CAPRILE, B. & MANFREDI, P. (2008). Coinfection can trigger multiple pandemic waves. *J Theor Biol*, 254(2):499–507.
- MILLER, G. L. & STANLEY, W. M. (1944). Quantitative aspects of the red blood cell agglutination test for influenza virus. *J Exp Med*, 79(2):185–195.
- MINAYEV, P. & FERGUSON, N. (2009a). Improving the realism of deterministic multi-strain models : implications for modelling influenza a. *J R Soc Interface*, 6(35):509–518.
- MINAYEV, P. & FERGUSON, N. (2009b). Incorporating demographic stochasticity into multi-strain epidemic models : application to influenza a. *J R Soc Interface*.

- MINISTRY OF HEALTH (1920). Reports on public health and medical subjects No.4. Pandemic of Influenza 1918-19. London, UK : His Majesty's Stationery Office. FluWeb Historical Influenza Database, <http://influenza.sph.unimelb.edu.au>, accessed [november 2009].
- MIRA, A., PUSHKER, R. & RODRÍGUEZ-VALERA, F. (2006). The neolithic revolution of bacterial genomes. *Trends Microbiol*, 14(5):200–206.
- MORENS, D. M., FOLKERS, G. K. & FAUCI, A. S. (2004). The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases. *Nature*, 430(6996):242–249.
- MORENS, D. M., FOLKERS, G. K. & FAUCI, A. S. (2008). Emerging infections : a perpetual challenge. *Lancet Infect Dis*, 8(11):710–719.
- MORENS, D. M., TAUBENBERGER, J. K. & FAUCI, A. S. (2009). The persistent legacy of the 1918 influenza virus. *N Engl J Med*, 361(3):225–229.
- MORSE, S. S. (1995). Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis*, 1(1):7–15.
- MOYA, A., HOLMES, E. C. & GONZÁLEZ-CANDELAS, F. (2004). The population genetics and evolutionary epidemiology of rna viruses. *Nat Rev Microbiol*, 2(4):279–288.
- NELSON, M. I. & HOLMES, E. C. (2007). The evolution of epidemic influenza. *Nat Rev Genet*, 8(3):196–205.
- NELSON, M. I., SIMONSEN, L., VIBOUD, C., MILLER, M. A. & HOLMES, E. C. (2007). Phylogenetic analysis reveals the global migration of seasonal influenza a viruses. *PLoS Pathog*, 3(9):1220–1228.
- NELSON, M. I., SIMONSEN, L., VIBOUD, C., MILLER, M. A., TAYLOR, J., GEORGE, K. S., GRIESEMER, S. B., GHEDIN, E., SENGAMALAY, N. A., SPIRO, D. J., VOLKOV, I., GRENFELL, B. T., LIPMAN, D. J., TAUBENBERGER, J. K. & HOLMES, E. C. (2006). Stochastic processes are key determinants of short-term evolution in influenza a virus. *PLoS Pathog*, 2(12):e125.
- NELSON, M. I., VIBOUD, C., SIMONSEN, L., BENNETT, R. T., GRIESEMER, S. B., ST. GEORGE, K., TAYLOR, J., SPIRO, D. J., SENGAMALAY, N. A., GHEDIN, E., TAUBENBERGER, J. K. & HOLMES, E. C. (2008). Multiple

- reassortment events in the evolutionary history of h1n1 influenza a virus since 1918. *PLoS Pathog*, 4(2):e1000012.
- NICHOLSON, K., TYRRELL, D., HARRISON, P., POTTER, C., JENNINGS, R., CLARK, A., SCHILD, G., WOOD, J., YETTS, R., SEAGROATT, V., HUGGINS, A. & ANDERSON, S. (1979). Clinical studies of monovalent inactivated whole virus and subunit a/ussr/77 (h1n1) vaccine : serological responses and clinical reactions. *Journal of Biological Standardization*, 7(2):123 – 136.
- NÅSELL, I. (2005). A new look at the critical community size for childhood infections. *Theor Popul Biol*, 67(3):203–216.
- OLINKY, R., HUPPERT, A. & STONE, L. (2008). Seasonal dynamics and thresholds governing recurrent epidemics. *Journal of Mathematical Biology*, 56(6):827–839.
- OLSEN, B., MUNSTER, V. J., WALLENSTEN, A., WALDENSTRÖM, J., OSTERHAUS, A. D. M. E. & FOUCHIER, R. A. M. (2006). Global patterns of influenza a virus in wild birds. *Science*, 312(5772):384–388.
- OTT, E. & SOMMERER, J. C. (1994). Blowout bifurcations : the occurrence of riddled basins and on-off intermittency. *Physics Letters A*, 188:39–47.
- OXFORD, J., LAMBKIN, R., SEFTON, A., DANIELS, R., ELLIOT, A., BROWN, R. & GILL, D. (2005). A hypothesis : the conjunction of soldiers, gas, pigs, ducks, geese and horses in northern france during the great war provided the conditions for the emergence of the "spanish" influenza pandemic of 1918-1919. *Vaccine*, 23(7):940–945.
- PEASE, C. M. (1987). An evolutionary epidemiological mechanism, with applications to type a influenza. *Theor Popul Biol*, 31(3):422–452.
- PLOTKIN, J. B., DUSHOFF, J. & LEVIN, S. A. (2002). Hemagglutinin sequence clusters and the antigenic evolution of influenza a virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 99(9):6263–6268.
- POLETTI, P., CAPRILE, B., AJELLI, M., PUGLIESE, A. & MERLER, S. (2009). Spontaneous behavioural changes in response to epidemics. *J Theor Biol*, 260(1):31–40.

- POTTER, C. (2001). A history of influenza. *Journal of Applied Microbiology*, 91(4):572–579.
- POTTER, C. W., JENNINGS, R., NICHOLSON, K., TYRRELL, D. A. & DICKINSON, K. G. (1977). Immunity to attenuated influenza virus wrl 105 infection induced by heterologous, inactivated influenza a virus vaccines. *J Hyg (Lond)*, 79(3):321–332.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM (2008). *R : A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0.
- RAMBAUT, A., POSADA, D., CRANDALL, K. A. & HOLMES, E. C. (2004). The causes and consequences of hiv evolution. *Nat Rev Genet*, 5(1):52–61.
- RAMBAUT, A., PYBUS, O. G., NELSON, M. I., VIBOUD, C., TAUBENBERGER, J. K. & HOLMES, E. C. (2008). The genomic and epidemiological dynamics of human influenza a virus. *Nature*, 453(7195):615–619.
- RAND, D. A., KEELING, M. & WILSON, H. B. (1995). Invasion, stability and evolution to criticality in spatially extended, artificial host-pathogen ecologies. *Proceedings : Biological Sciences*, 259(1354):55–63.
- READ, J. M. & KEELING, M. J. (2006). Disease evolution across a range of spatio-temporal scales. *Theor Popul Biol*, 70(2):201–213.
- READ, J. M. & KEELING, M. J. (2007). Stochasticity generates an evolutionary instability for infectious disease. *Ecol Lett*, 10(9):818–827.
- RECKER, M., BLYUSS, K. B., SIMMONS, C. P., HIEN, T. T., WILLS, B., FARRAR, J. & GUPTA, S. (2009). Immunological serotype interactions and their effect on the epidemiological pattern of dengue. *Proc Biol Sci*, 276(1667):2541–2548.
- RECKER, M., PYBUS, O. G., NEE, S. & GUPTA, S. (2007). The generation of influenza outbreaks by a network of host immune responses against a limited set of antigenic types. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104(18):7711–7716.
- RHODES, C. J. & ANDERSON, R. M. (1996). Power laws governing epidemics in isolated populations. *Nature*, 381(6583):600–602.

- RHODES, C. J., JENSEN, H. J. & ANDERSON, R. M. (1997). On the critical behaviour of simple epidemics. *Proc Biol Sci*, 264(1388):1639–1646.
- ROTA, P. A. & BELLINI, W. J. (2003). Update on the global distribution of genotypes of wild type measles viruses. *J Infect Dis*, 187 Suppl 1:S270–S276.
- ROY, M. & PASCUAL, M. (2006). On representing network heterogeneities in the incidence rate of simple epidemic models. *Ecological Complexity*, 3(1):80 – 90.
- RUSSELL, C. A., JONES, T. C., BARR, I. G., COX, N. J., GARTEN, R. J., GREGORY, V., GUST, I. D., HAMPSON, A. W., HAY, A. J., HURT, A. C., de JONG, J. C., KELSO, A., KLIMOV, A. I., KAGEYAMA, T., KOMADINA, N., LAPEDES, A. S., LIN, Y. P., MOSTERIN, A., OBUCHI, M., ODAGIRI, T., OSTERHAUS, A. D. M. E., RIMMELZWAAN, G. F., SHAW, M. W., SKEPNER, E., STOHR, K., TASHIRO, M., FOUCHIER, R. A. M. & SMITH, D. J. (2008). The global circulation of seasonal influenza a (h3n2) viruses. *Science*, 320(5874):340–346.
- SAMUELS, N. (1963). Experiences of a medical officer on tristan da cunha. *British Medical Journal*, 2:1013.
- SCHRAG, S. J. & WIENER, P. (1995). Emerging infectious disease : what are the relative roles of ecology and evolution ? *Trends in Ecology & Evolution*, 10(8):319–324.
- SHAMAN, J. & KOHN, M. (2009). Absolute humidity modulates influenza survival, transmission, and seasonality. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106(9): 3243–3248.
- SHIBLI, M., GOOCH, S., LEWIS, H. & TYRRELL, D. (1971). Common colds on tristan da cunha. *The Journal of Hygiene*, 69:255–262.
- SHIH, A. C.-C., HSIAO, T.-C., HO, M.-S. & LI, W.-H. (2007). Simultaneous amino acid substitutions at antigenic sites drive influenza a hemagglutinin evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104(15):6283–6288.
- SLEPUSHKIN, A. N. (1959). The effect of a previous attack of a1 influenza on susceptibility to a2 virus during the 1957 outbreak. *Bull World Health Organ*, 20(2-3):297–301.

- SMITH, D. J., LAPEDES, A. S., de JONG, J. C., BESTEBROER, T. M., RIMMELZWAAN, G. F., OSTERHAUS, A. D. M. E. & FOUCHIER, R. A. M. (2004). Mapping the antigenic and genetic evolution of influenza virus. *Science*, 305(5682):371–376.
- STONE, L., OLINKY, R. & HUPPERT, A. (2007). Seasonal dynamics of recurrent epidemics. *Nature*, 446(7135):533–536.
- SUZUKI, Y. (2008). Positive selection operates continuously on hemagglutinin during evolution of h3n2 human influenza a virus. *Gene*, 427(1-2):111–116.
- TAUBENBERGER, J. K. & MORENS, D. M. (2006). 1918 influenza : the mother of all pandemics. *Emerg Infect Dis*, 12(1):15–22.
- TAYLOR-ROBINSON, D. & TYRRELL, D. (1963). IV. Virus diseases on Tristan da Cunha. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 57:19–22.
- TEAM, N. S.-O. I. A. H. V. I., DAWOOD, F. S., JAIN, S., FINELLI, L., SHAW, M. W., LINDSTROM, S., GARTEN, R. J., GUBAREVA, L. V., XU, X., BRIDGES, C. B. & UYEKI, T. M. (2009). Emergence of a novel swine-origin influenza a (h1n1) virus in humans. *N Engl J Med*, 360(25):2605–2615.
- TONI, T., WELCH, D., STRELKOWA, N., IPSEN, A. & STUMPF, M. P. H. (2009). Approximate bayesian computation scheme for parameter inference and model selection in dynamical systems. *J R Soc Interface*, 6(31):187–202.
- TRIA, F., M LÄSSIG, L. P. & FRANZ, S. (2005). A minimal stochastic model for influenza evolution. *Journal of Statistical Mechanics : Theory and Experiment*, 2005(07):P07008.
- TYRRELL, D., PETO, M. & KING, N. (1967). Serological studies on infections by respiratory viruses of the inhabitants of tristan da cunha. *The Journal of Hygiene*, 65:327–341.
- van BALLEGOOIJEN, W. M. & BOERLIJST, M. C. (2004). Emergent trade-offs and selection for outbreak frequency in spatial epidemics. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101(52):18246–18250.

- VIBOUD, C., ALONSO, W. J. & SIMONSEN, L. (2006a). Influenza in tropical regions. *PLoS Med*, 3(4):e89.
- VIBOUD, C., GRAIS, R. F., LAFONT, B. A. P., MILLER, M. A., SIMONSEN, L. & GROUP, M. I. S. M. S. (2005). Multinational impact of the 1968 hong kong influenza pandemic : evidence for a smoldering pandemic. *J Infect Dis*, 192(2):233–248.
- VIBOUD, C., TAM, T., FLEMING, D., HANDEL, A., MILLER, M. A. & SIMONSEN, L. (2006b). Transmissibility and mortality impact of epidemic and pandemic influenza, with emphasis on the unusually deadly 1951 epidemic. *Vaccine*, 24(44-46):6701–6707.
- WAGNER, R., MATROSOVICH, M. & KLENK, H.-D. (2002). Functional balance between haemagglutinin and neuraminidase in influenza virus infections. *Rev Med Virol*, 12(3):159–166.
- WALLINGA, J., TEUNIS, P. & KRETZSCHMAR, M. (2006). Using data on social contacts to estimate age-specific transmission parameters for respiratory-spread infectious agents. *Am J Epidemiol*, 164(10):936–944.
- WEARING, H. J. & ROHANI, P. (2006). Ecological and immunological determinants of dengue epidemics. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103(31):11802–11807.
- WEBSTER, R. G., BEAN, W. J., GORMAN, O. T., CHAMBERS, T. M. & KAWAOKA, Y. (1992). Evolution and ecology of influenza a viruses. *Microbiol Rev*, 56(1):152–179.
- WHO (2003). Fact sheet number 211. influenza. *WHO Fact sheets*.
- WILCOX, B. & COLWELL, R. (2005). Emerging and reemerging infectious diseases : Biocomplexity as an interdisciplinary paradigm. *EcoHealth*, 2(4): 244–257.
- WOLF, A., SWIFT, J. B., SWINNEY, H. L. & VASTANO, J. A. (1985). Determining lyapunov exponents from a time series. *Physica D : Nonlinear Phenomena*, 16(3):285 – 317.
- WOLF, Y. I., VIBOUD, C., HOLMES, E. C., KOONIN, E. V. & LIPMAN, D. J. (2006). Long intervals of stasis punctuated by bursts of positive selection in the seasonal evolution of influenza a virus. *Biol Direct*, 1:34.

- WOLFE, N. D., DUNAVAN, C. P. & DIAMOND, J. (2007). Origins of major human infectious diseases. *Nature*, 447(7142):279–283.
- WOOLHOUSE, M. E. J., HAYDON, D. T. & ANTIA, R. (2005). Emerging pathogens : the epidemiology and evolution of species jumps. *Trends Ecol Evol*, 20(5):238–244.
- WRAMMERT, J., SMITH, K., MILLER, J., LANGLEY, W. A., KOKKO, K., LARSEN, C., ZHENG, N.-Y., MAYS, I., GARMAN, L., HELMS, C., JAMES, J., AIR, G. M., CAPRA, J. D., AHMED, R. & WILSON, P. C. (2008). Rapid cloning of high-affinity human monoclonal antibodies against influenza virus. *Nature*, 453(7195):667–671.
- XIA, Y., GOG, J. R. & GRENFELL, B. T. (2005). Semiparametric estimation of the duration of immunity from infectious disease time series : influenza as a case-study. *Journal of the Royal Statistical Society : Series C (Applied Statistics)*, 54(3):659–672.
- ZIMMER, S. M. & BURKE, D. S. (2009). Historical perspective—emergence of influenza a (h1n1) viruses. *N Engl J Med*, 361(3):279–285.