

L'hémophilie A et B

Auteur: Professeur Yvette Sultan¹

Date de création : juillet 1999

Mises à jour : janvier 2002

Editeur scientifique : Professeur Nicole Casadevall

¹Centre d'accueil des hémophiles, Hôpital Cochin, 22 Rue Méchain, 75014 Paris, France.
yv.sulta@easynet.fr

[Résumé](#)

[Mots-clés](#)

[Définition](#)

[Diagnostic différentiel](#)

[Incidence](#)

[Génétique](#)

[Manifestations cliniques](#)

[Diagnostic biologique](#)

[Traitement](#)

[Conseil génétique](#)

[Conclusion et questions non résolues](#)

[Références](#)

Résumé

L'hémophilie est une maladie génétique liée au chromosome X, elle consiste en un dysfonctionnement dans l'un des facteurs de coagulation. L'atteinte du gène du facteur VIII correspond à l'hémophilie A ; l'atteinte du gène du facteur IX à l'hémophilie B. Les mutations de ces gènes déterminent soit une absence totale du facteur dans le sang, il s'agit alors d'une hémophilie sévère, soit un déficit partiel, il s'agit alors d'une hémophilie modérée ou mineure. L'expression clinique de la maladie dépend essentiellement de l'importance du déficit en facteurs VIII ou IX. Les femmes sont conductrices de la maladie, elles peuvent transmettre la mutation à leurs enfants mais elles n'ont habituellement pas de manifestations hémorragiques. Les hémorragies des hémophiles se localisent le plus souvent dans les articulations (hémarthroses) et dans les muscles (hématomes) mais, à l'occasion d'un traumatisme, toutes les localisations sont possibles. Au cours de ces accidents, la perte de sang n'est pas plus rapide mais elle est prolongée et parfois infinie. Le traitement est avant tout substitutif : apporter dans le sang le facteur de coagulation absent et le renouveler jusqu'à l'arrêt du saignement et la cicatrisation des plaies. Les facteurs de coagulation que l'on injecte sont des médicaments, soit purifiés à partir du plasma humain, soit préparés par génie génétique. Les complications les plus graves de ce traitement sont la possibilité de transmission d'agent infectieux et l'apparition d'anticorps dirigés contre le facteur de coagulation perfusé, inhibant son action.

Mots-clés

Hémophilie facteur ✓, facteur IX, hémarthroses, hématomes

Définition

L'hémophilie est une maladie hétérogène liée à l'absence de protéines du système de la coagulation. Deux facteurs de coagulation sont concernés : le facteur VIII (F.VIII), pour l'hémophilie A ; le facteur IX (F.XI) pour l'hémophilie B.

L'autre élément d'hétérogénéité est lié à l'activité du facteur en cause. L'activité biologique de ces

facteurs s'évalue en pourcentage de la normale. L'individu normal étant considéré comme ayant 100% d'activité. Si l'activité est indétectable (inférieure à 1%), il s'agit d'hémophilie sévère ; si l'activité est comprise entre 1 et 5%, l'hémophilie est dite modérée ; au-delà et jusqu'à 30% l'hémophilie est mineure.

L'expression clinique de ces différentes formes est fondamentalement différente. L'importance

des hémorragies étant parallèle au degré du déficit.

Diagnostic différentiel

Cette définition exclue les manifestations hémorragiques associées à d'autres déficits en facteurs de la coagulation tels les facteurs V, VII, XI, etc. ou au cours de thrombopénies sévères.

Le diagnostic différentiel se pose dans les formes modérées d'hémophilie A avec la maladie de Willebrand. Dans ce dernier cas le déficit en F.VIII est associé à un déficit en facteur Willebrand. Le diagnostic d'hémophilie doit toujours être confirmé par un dosage de l'activité et de l'antigène du facteur Willebrand qui est normal en cas d'hémophilie. Ce diagnostic peut être difficile à trancher entre hémophilie modérée et maladie de Willebrand de type 2N. Un test de liaison du F.VIII au facteur Willebrand est nécessaire.

Le diagnostic différentiel peut également se poser avec une hémophilie acquise, maladie auto-immune, survenant chez les personnes âgées ou au cours d'une grossesse. Il s'agit de l'apparition d'anticorps anti F.VIII qui inhibent l'activité coagulante de ce facteur et transforme ainsi, le patient indemne jusque là d'anomalie de la coagulation, en hémophile avec toutes les manifestations cliniques de la maladie.

Incidence

L'incidence de l'hémophilie est de 1/10.000 naissances ou 1/5.000 naissances de garçons. Soixante dix pour cent des hémophiles ont une histoire familiale mais 30% représentent une nouvelle mutation, donc sans antécédents familiaux. Il faut savoir rechercher très loin l'histoire familiale car la mutation peut se transmettre par les femmes sur plusieurs générations.

Génétique

Cette, ou plutôt, ces maladies sont le résultat de mutations sur les gènes des F.VIII ou F.IX, tous deux situés sur l'extrémité du bras long du chromosome X. Ceci explique le mode de transmission de l'hémophilie. Les garçons qui héritent de leur mère un chromosome X muté expriment la maladie. Les filles, ayant deux chromosomes X n'expriment pas la maladie cliniquement ; par contre elles pourront transmettre le chromosome muté à leurs fils et à leurs filles qui seront conductrices à leur tour.

La mutation responsable de la maladie étant la même dans une famille, la sévérité et donc l'expression clinique restent identiques dans une famille donnée.

Anomalies moléculaires du gène du F.VIII (F8C)

Le gène du F.VIII s'étend sur 186 kb, il est formé de 26 exons ; les 25 introns représentant 95% du gène. Les anomalies responsables de l'hémophilie sont hétérogènes et peuvent toucher n'importe quelle partie du gène.

Les grands réarrangements

L'inversion du gène au sein de l'intron 22 représente la mutation la plus fréquemment retrouvée dans l'hémophilie sévère (40%).

Les larges délétions de plus de 100 nucléotides expliquent 3 à 5% des hémophilies sévères.

Deux duplications du gène sont à l'origine d'une hémophilie A sévère.

Des insertions et des translocations ont également été décrites.

Les mutations ponctuelles

Les mutations ponctuelles décrites correspondent soit à des hémophilies sévères soit à des hémophilies modérées.

Les mutations non sens aboutissent à l'apparition d'un codon stop. La traduction de la protéine est alors incomplète. Cette protéine tronquée est instable, il en résulte une forme sévère de la maladie.

Les mutations faux sens, substitution d'un nucléotide par un autre, entraînent des formes modérées de la maladie.

Des mutations d'épissage ont été décrites.

Anomalies moléculaires du gène du F.IX (F9C)

Le gène du F.IX s'étend sur 34 kb et contient huit exons.

Les grands réarrangements du gène, délétions et larges insertions ne représentent que 2 à 4% des anomalies.

La majorité des hémophilies B est caractérisée par des mutations ponctuelles. Un premier groupe de mutations a été retrouvée dans la zone du promoteur, correspondant à l'hémophilie Leyden (amélioration progressive du taux du F.IX avec l'âge).

Des mutations faux sens et des mutations non sens ont été identifiées tout le long de la partie codante du gène.

Manifestations cliniques

Les manifestations cliniques de ce trouble de la coagulation sont essentiellement les hémorragies et leurs conséquences. Comme expliqué précédemment, leur gravité et leur fréquence sont totalement fonction de l'importance du déficit du facteur de coagulation concerné. La localisation de ces hémorragies est très caractéristique de l'hémophilie.

Les hémarthroses ou hémorragies intra-articulaires

Elles atteignent toutes les articulations mais avec une préférence par ordre décroissant pour les genoux, les chevilles, les coudes et les hanches. Elles se manifestent par une douleur d'intensité croissante avec le temps et un gonflement articulaire témoins de l'épanchement sanguin à l'intérieur de la synoviale. Ces hémorragies doivent rapidement être arrêtées par un apport du facteur de coagulation F.VIII ou F.IX. Plus l'écoulement sanguin est important plus la guérison sera longue et plus les séquelles seront graves. Le sang qui persiste dans la synoviale imprègne celle-ci de fer et entraîne son érosion progressive, avec une atteinte du cartilage qui aboutit à la destruction de l'articulation.

Les hématomes ou hémorragies intramusculaires

Elles peuvent se manifester dans tous les muscles spontanément ou à l'occasion de traumatismes minimes. Le muscle devient douloureux et gonfle. La pression qu'exerce le sang à l'intérieur du muscle peut provoquer la compression d'un ou plusieurs nerfs, de vaisseaux, créant paralysies et ischémie rapidement irréversibles. Là encore il convient de traiter très rapidement.

Les hématuries spontanées

Elles sont très caractéristiques de l'hémophilie. Moins fréquentes que les précédentes, ces hémorragies ont tendance à se répéter souvent chez un même malade.

Autres hémorragies

Toutes les autres localisations sont possibles : hémorragies digestives; atteinte du système nerveux central pour des traumatismes minimes qui peuvent passer inaperçus surtout chez l'enfant.

Ces hémorragies n'apparaissent pas à la naissance. S'il n'y a pas de traumatisme obstétrical tout se passe habituellement bien et aucune hémorragie du cordon n'est observée.

Les manifestations hémorragiques commencent avec l'apprentissage de la marche. Les chutes occasionnent des hématomes frontaux, des ecchymoses se localisent aux points de contact sur tout le corps. Les hémarthroses apparaissent, il faut savoir les reconnaître chez un enfant qui ne se sert plus d'un de ses membres pour jouer ou marcher.

Evolution

L'évolution de l'hémophilie sévère non traitée est mortelle dans l'enfance ou l'adolescence. Peu ou

insuffisamment traitée, la répétition des hémarthroses et des hématomes aboutit à un handicap moteur très invalidant associant raideur, déformations articulaires et paralysies. Il est démontré que l'évolution est d'autant plus favorable que le patient reçoit une thérapeutique substitutive précoce, bien adaptée et que chaque épisode hémorragique est suivi d'une réhabilitation efficace.

Diagnostic biologique

Le diagnostic biologique de l'hémophilie repose sur la reconnaissance d'une perturbation globale de la coagulation. Le temps de coagulation du sang est très prolongé pouvant aller jusqu'à une incoagulabilité totale.

Le bilan du laboratoire montre :

un temps de coagulation du plasma en présence de céphaline (phospholipide) et d'un activateur de la phase de la phase contact (kaolin, célite,...) allongé par rapport au temps de coagulation d'un plasma normal traité dans les mêmes conditions;

les autres tests sont normaux (taux de prothrombine, fibrinogène...);

le temps de saignement est normal.

Les dosages spécifiques des F.VIII et IX permettent de caractériser l'anomalie en hémophilie A ou B et surtout d'évaluer la sévérité du déficit. Celui-ci s'exprime en pourcentage; Une personne normale a une activité en facteur de coagulation de 100%, l'hémophilie sévère implique une activité <1%, la modérée 2 à 5% et la mineure de 5 à 30%. Les taux de ces facteurs ne varieront pas au cours de la vie, ce qui rend inutile un dosage en urgence avant de traiter une hémorragie chez un patient porteur de sa carte d'hémophile mentionnant les caractéristiques de sa maladie.

Dès que le patient reçoit un traitement, il convient de rechercher régulièrement l'apparition d'un inhibiteur. Toutes les 4 ou 5 transfusions au début du traitement, puis de façon moins fréquente par la suite (2 fois par an). Une convention internationale permet d'évaluer le titre de l'inhibiteur en unités Bethesda (U.B). Plus le nombre d'unités est élevé plus le nombre de molécules d'immunoglobulines spécifiquement dirigées contre les F. VIII ou IX est élevé, chose qui rend le traitement de plus en plus difficile.

Traitement

Le traitement de l'hémophilie doit être une prise en charge globale (comprehensive care) du patient et de sa famille comme c'est le cas dans toute maladie génétique.

Cette prise en charge consiste à éduquer les parents puis l'enfant en les faisant participer au

traitement. Les parents peuvent apprendre à transfuser leur enfant à domicile, plus tard il faudra enseigner l'auto traitement à l'enfant. La précocité de l'administration du concentré de facteur de coagulation lorsqu'une hémorragie se déclare est un élément fondamental pour une évolution rapide vers la guérison de l'épisode.

Une information complète sur les caractères de la maladie, les petits soins à prodiguer lors de blessures ou traumatismes légers, sont régulièrement enseignés; de même que les activités à éviter, ou au contraire, à développer font l'objet d'échanges réguliers.

Tous les épisodes de la vie courante doivent être accompagnés par le centre : les extractions dentaires, amygdalectomies, vaccinations. Le mode de transmission de la maladie doit être soigneusement expliqué, de même que les possibilités et limites du diagnostic anténatal.

Les produits utilisés pour le traitement sont différents selon que le patient soit atteint d'hémophilie A ou B.

Les hémophiles A sont traités par des concentrés de F.VIII

Il existe en France deux types de produits.

Des dérivés plasmatiques

Le F.VIII préparé par le laboratoire français du fractionnement (LFB), est stabilisé par le facteur Willebrand du plasma ayant subi plusieurs méthodes d'inactivation ou de réduction virale (solvent-détergent, nano filtration par des filtres 15 nm, etc.). Le plasma provient du don bénévole de donneurs prélevés sur le territoire français. Le point de départ de ce fractionnement est le cryoprécipité de pools de plasma provenant de 10.000 donneurs.

Le F.VIII immunopurifié, également d'origine plasmatique, est purifié sur des colonnes de chromatographie d'affinité couplées à des anticorps monoclonaux. La très grande pureté de ces produits les rend instables et leur stabilité est assurée par de l'albumine humaine. Ils proviennent de deux firmes commerciales: L'HEMOPIL M (BAXTER) et le MONOCLATE P (AVANTIS-BEHRING).

L'HEMOPIL M est un produit traité par les solvants détergents alors que le MONOCLATE P est un F.VIII pasteurisé.

Des produits issus du génie génétique ou F.VIII recombinants

RECOMBINATE (BAXTER) est stabilisé par de l'albumine humaine.

KOGENATE SF (BAYER) dont la deuxième génération est stabilisé par le Sucre.

REFACTO (GENETIC INSTITUTE distribué par BAXTER) est un F.VIII délété (élimination du domaine B), stabilisé par du sucre. Il ne contient aucun élément d'origine humaine.

Certains hémophiles modérés ou mineurs peuvent bénéficier d'injections de DESMOPRESSINE (DDAVP ou Minirin). C'est un produit qui permet la libération du F.VIII des réserves du patient.

Les Hémophiles B sont traités par des concentrés de F.IX

Deux produits dérivés du plasma humain sont aujourd'hui disponibles:

le F.IX - L.F.B. qui est viralemment inactivé par solvant-détergent et par nanofiltration 15 nm, il est de très haute pureté, c'est un produit de seconde génération;

MONONINE, F.IX d'AVANTIS-BEHRING purifié par chromatographie d'affinité sur anticorps monoclonaux, il est inactivé par le thiocyanate. Ces deux produits sont stables sans adjonction d'albumine.

BENEFIX, F.IX recombinant mis au point par Genetic Institute présente un défaut de remise en circulation et des quantités supérieures aux autres préparations de F.IX peuvent être nécessaires.

D'autres produits sont utilisés pour les patients ayant développé un inhibiteur contre les F.VIII ou IX au cours du traitement. Ce sont des facteurs du complexe prothrombique activés:

- Le FEIBA (BAXTER)

- Le NOVO SEVEN (NOVO-NORDISK) qui est un facteur VII activé recombinant (rVIIa)

- Le facteur VIII de porc quand il a été démontré que l'immunisation n'était pas croisée.

Modalités du traitement

Les concentrés de facteurs anti-hémophiliques peuvent être administrés à l'occasion de chaque hémorragie (traitement dit à la demande), dans ce cas il convient de commencer ce traitement le plus rapidement possible, à l'apparition des premiers signes.

Le traitement peut également être administré de façon prophylactique, régulièrement 2 à 3 fois par semaine de façon à prévenir les hémorragies. Il faut alors calculer les doses nécessaires pour obtenir une couverture permanente.

Lorsqu'une hémorragie survient, des doses comprises entre 20 et 40 unités par kilo de poids corporel (U/kg), sont habituellement utilisées pour les hémophiles A et des doses de 40 à 60 U/kg pour les hémophiles B.

Selon la gravité de l'hémorragie, ces doses sont renouvelées toutes les 8 heures pour les hémophiles A et toutes les 12 heures pour les hémophiles B. La perfusion continue est de plus en plus fréquemment utilisées au cours du traitement des hémorragies graves et des interventions chirurgicales.

Complications du traitement

Une des plus sérieuses complications du traitement par des concentrés d'origine plasmatisque est la transmission d'agents infectieux. Dans le passé, des maladies virales graves, ont pu être transmises telles les hépatites, le SIDA... Aujourd'hui, la sélection des dons de sang, l'utilisation de méthodes d'inactivation virale, l'addition de plusieurs méthodes d'inactivation et/ou de réduction virale rendent les produits très sûrs. Il faut cependant garder en tête, que la sécurité ne peut être garantie à 100%, en particulier concernant des agents non encore identifiés.

La plus grave des complications aujourd'hui, est l'apparition d'un inhibiteur au cours du traitement. Les inhibiteurs représentent un groupe d'anticorps dirigés contre l'activité biologique du F.VIII ou du F.IX. Ces anticorps rendent inefficaces les transfusions de facteurs antihémophiliques.

Ce sont des anticorps de classe G et de sous-classe à prédominance IgG4 qui sont concernés. Ils se développent tôt dès les premières transfusions, souvent avant la 10^{ème}. Certains patients restent de faibles répondeurs (titre d'anticorps <10 U.B) d'autres appelés forts répondeurs atteignent des titres qui ne permettent plus de les traiter avec le facteur correspondant.

La courbe d'inactivation en fonction du temps permet de classer ces inhibiteurs en type I ou II selon l'affinité qu'ils ont pour l'anticorps.

Si le patient n'est plus mis en contact avec le facteur contre lequel il est immunisé, l'inhibiteur peut devenir indétectable. Il réapparaîtra, cependant, dès la première transfusion dans un délai de 3 à 5 jours, c'est la réponse anamnétique.

L'incidence de ces inhibiteurs dans la population des hémophiles est encore un sujet de controverse. Elle est comprise entre 12 et 30% chez les hémophiles A et de 4 à 6% chez les hémophiles B.

Cette complication atteint surtout les hémophiles sévères. Elle est cependant décrite dans certains cas d'hémophilie modérée ou mineure inhibant l'activité de leur propre facteur VIII ; le patient devient de ce fait un hémophile sévère.

Le traitement de ces anticorps doit être envisagé sous deux aspects:

- le traitement des hémorragies;
- le traitement de l'inhibiteur lui-même.

Un épisode hémorragique peut être traité par de très fortes doses de F.VIII ou IX. Le F.VIII de porc peut être utilisée pour les cas d'inhibiteurs du F.VIII n'ayant pas d'activité croisée avec celui du porc.

Des produits à "activité bypassing" peuvent être utilisés: FEIBA (Immuno-Baxter ou F.VII activé recombinant NOVO SEVEN (Novo-nordisk)).

Le traitement de l'inhibiteur lui-même fait appel à des protocoles de tolérance immunitaire. Il s'agit d'une sorte de désensibilisation du patient en utilisant des doses répétées de F.VIII quotidiennes, bi-quotidiennes ou hebdomadaires, selon les protocoles.

Effet secondaires

Les produits anti hémophiliques sont dans l'ensemble bien tolérés.

Au cours de la perfusion, des éruptions cutanées, des céphalées, des dyspnées peuvent s'observer. Elles passent habituellement, en quelques minutes ou quelques heures. Les accidents d'anaphylaxie sont plus graves, ils ont été décrits au cours des perfusions de F.IX (quelle que soit la préparation utilisée). Ces accidents surviennent dès les premières perfusions et sont souvent concomitants avec l'apparition d'un inhibiteur contre le F.IX. Il est recommandé dans les formes sévères d'hémophilie B, d'effectuer les premières perfusions chez les enfants en milieu hospitalier.

Conseil génétique

Il repose sur le fait que dans tous les cas d'hémophilie B et dans presque tous les cas d'hémophilie A, la mutation peut être identifiée ce qui implique la possibilité d'un diagnostic direct et l'identification des femmes conductrices dans une famille à risque.

Dans tous les autres cas, le diagnostic indirect par la méthode d'analyse des polymorphismes de restriction (restriction fragment length polymorphism, RFLP) est possible à condition qu'un hémophile de la famille puisse être examiné. Il pourra donc être proposé à une femme conductrice de procéder à un diagnostic anténatal par analyse de l'ADN, après ponction du trophoblaste dès la douzième semaine de grossesse. Il sera possible de déterminer avec certitude le sexe de l'enfant et s'il s'agit d'un garçon de faire la recherche de la mutation ou de rechercher le marqueur associé à l'hémophilie par RFLP.

Il faut soigneusement avertir les parents que la seule possibilité est l'interruption de la grossesse. Les familles croient trop souvent qu'il est possible de guérir l'enfant lorsque le diagnostic d'hémophilie a été posé. Le diagnostic prénatal n'est proposé qu'en cas d'hémophilie sévère.

Il faut aussi savoir expliquer les progrès les plus récents de prise en charge de la maladie et, souvent effacer ou, estomper les mauvaises expériences vécues par un père ou un frère à

une époque lointaine où les traitements étaient pratiquement inexistantes ou dangereux.

Conclusion et questions non résolues

Le nombre d'hémophiles va s'accroître dans les pays développés où ces patients vivent une vie familiale normale. Les mutations sur les gènes des facteurs VIII et IX sont constantes et de nouvelles mutations apparaissent régulièrement. L'hémophilie est universellement répartie sur la surface du globe ; cependant, 80% des hémophiles dans le monde n'ont pas accès au traitement. Le problème d'instituer un traitement dont le coût puisse être accessible à tous, doit devenir une de nos préoccupations prioritaires.

Tant que le traitement restera dépendant du don du sang, le coût de sa sécurisation et de son fractionnement en produits purifiés, exclut une grande partie de la planète. Le coût de la préparation par génie génétique est également très élevé. La thérapie génique se heurte encore à beaucoup d'obstacles.

Le problème le plus grave, pour lequel nous n'avons aucune solution, est celui de l'apparition d'inhibiteur au cours du traitement.

La recherche peut s'orienter pour répondre à deux questions:

quels sont les facteurs qui sont responsables ou du moins accompagnent l'immunisation ? La race, le caractère de la mutation, le type de produit utilisé pour le traitement sont-ils déterminants?

quelles sont les particularités des 75% de patients qui ne développent pas d'anticorps anti-facteur de coagulation ? Des caractéristiques particulières de leur système immunitaire, la régulation par le système anti-idiotypique, l'âge du patient lors du premier contact avec le produit de substitution jouent-ils un rôle?

Il résulte de ces conclusions que nous devons envisager comme une tâche incontournable d'équiper des centres de prise en charge globale de l'hémophilie, distribués de façon équitable sur le territoire, tenant compte de la répartition uniforme de la maladie et de sa multiplication inéluctable dans les années à venir. Ces centres

doivent travailler en étroite collaboration avec les laboratoires de génétique, les laboratoires d'immunologie et les centres de fractionnement.

Références

Antonarakis. S.E. and 64 co-authors. F.VIII inversions in severe hemophilia A: results of an international consortium study. *Blood*. 1995. 86: 2206-12

Bergeat.P. Sécurisation des médicaments dérivés du sang humain.S.T.V.No spécial.1998; 10: 11-18.

Brackmann. H.H .Induced immunotolerance in factor VIII inhibitor patients.*Prog.Clin.Biol.Res.* 1984;150:181-95

Gitschier.J.,Wood. W.I.,Goralka. T.M. *et al.*Characterisation of the human F.VIII gene. *Nature* 1984, 312: 326-330

Hedner,U. Dosing and monitoring NovoSeven treatment. *Thromb.Haemost* 1996, 26 (Suppl 1):102-8

Lee.C. Complications of replacement therapy: transfusion transmitted disease in haemophilia and other inherited bleeding disorders. *Edit.C.Rizza& G. Lowe (Saunders London)* 1997.p :309-63.

Mannucci. P.M.and Tuddenham. E.G.D.The hemophilias-From Royal Genes to Gene Therapy. *N.Engl.J.Med.* 2001, 344:1773-79.

Martinowitz. U., Schulman. S., Gitel. S., *et al.* Adjusted dose continuous infusion of factor VIII in patients with hemophilia. *Br.J.Haematol.*1992, 82:729-35

Negrier.C.,Goudemand. J.,Sultan. Y, *et al.* Multicenter retrospective study on the utilization of FEIBA in France in patients with F.VIII and F.IX inhibitors.*Thromb Haemost*; 1997; 77:1113-9

Sultan.Y. and the french hémophilia study group. Prevalence of inhibitors in a population of 3,435 haemophilia patients in France.*Thromb.haemost.*1992; 67: 600-2

Tuddenham. E.G.D, Schwaab. R., Seehafer. J.*et al.* Haemophilia A: database of nucléotide substitutions, deletions, insertions and rearrangements of the factor VIII gene, second edition. *Nucl.Acids Res.* 22 : 4851-4868