· 临床检验研究论著 ·

非药物避孕方式对健康育龄期妇女阴道乳酸杆菌的影响*

马立艳[1]，吕　治[1]，苏建荣[1△]，王建捷[2]，闫东辉[1]，尉景娟[1]，裴　双[1]
（首都医科大学附属北京友谊医院：1 临床检验中心；2 妇产科，北京 100050）

摘　要：目的　明确非药物避孕方式对中国健康育龄期妇女阴道乳酸杆菌（LB）的影响。**方法**　纳入 164 名 18～45 岁中国健康育龄期妇女进行横断面研究，根据受试者采用非药物避孕方式的不同分为安全套组、宫内节育器组和安全期组。采集受试对象月经第 21～22 天的阴道拭子，进行阴道分泌物涂片 Nugent 评分、阴道 LB 定量培养并检测过氧化氢的产生。应用卡方检验和 ANOVA 统计方法分析各组间 Nugent 0～3 分占比、产过氧化氢 LB 培养阳性率和菌落计数的差异。**结果**　安全套组 93.1％的阴道拭子 Nugent 评分为 0～3 分，高于宫内节育器组（75.4％），二者差异有统计学意义（$P=0.005$）。安全套组产过氧化氢 LB 的培养阳性率（82.3％）高于宫内节育器组（68.2％），二者差异有统计学意义（$P=0.016$）。安全套组产过氧化氢 LB 菌落计数对数值（$\bar{x}\pm s$）为（7.81±0.14），高于宫内节育器组（6.54±0.14），二者差异有统计学意义（$P=0.000$）。**结论**　坚持正确使用安全套有利于产过氧化氢 LB 在阴道内的定植，从而减少细菌性阴道病的发生和 HIV 感染，对保护健康育龄期妇女生殖健康具有积极意义。

关键词：安全套；　宫内节育器；　安全期；　阴道乳酸杆菌；　过氧化氢
DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2013.22.007　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2013)22-2959-04

Effects of non-drug contraception on colonization of lactobacillus in the vagina*

Ma Liyan[1], *Lv Zhi*[1], *Su Jianrong*[1△], *Wang Jianjie*[2], *Yan Donghui*[1], *Wei Jingjuan*[1], *Pei Shuang*[1]
(1. *Clinical Laboratory Center*; 2. *Obstetrics and Gynecology Department*, *Beijing Friendship Hospital*, *Capital Medical University*, *Beijing* 100050, *China*)

Abstract: Objective　To determine the association between non-hormonal contraception methods and vaginal lactobacilli on women's reproductive health. **Methods**　The cross-sectional study included 164 healthy women between 18－45 years of age. The subjects were divided into different groups on the basis of the different non-hormonal contraception methods used by them. At the postmenstrual visit (day 21 or 22 of the menstrual cycle), vaginal swabs were collected for determination of Nugent score, quantitative culture of vaginal lactobacilli. The prevalence, colony counts of the Lactobacillus strains were compared between the different groups by Chi-square and ANOVA statistical analysis methods. **Results**　A Nugent score of 0－3 was more common in the condom group (93.1％) than in the group that used an interuterine device (IUD) (75.4％), ($P=0.005$). The prevalence of H_2O_2-producing Lactobacillus was significantly higher in the condom group (82.3％) than in the IUD group (68.2％), ($P=0.016$). There was a significant difference in the log values of H_2O_2-producing lactobacillus colony count ($\bar{x}\pm s$) between condom users (7.81±0.14) and IUD users (6.54±0.14), $P=0.000$. **Conclusion**　Consistent condom use increases the colonization of H_2O_2-producing lactobacillus in the vagina and may protect against both bacterial vaginosis (BV) and human immunodeficiency virus (HIV).

Key words: condom;　interuterine device;　rhythm method;　vaginal Lactobacillus;　hydrogen peroxide

为了控制人口过快增长和避免非意愿妊娠，中国从 70 年代开始在全国范围内推行了计划生育政策，据估计，1972～2005 年间全国至少减少了约 400 万出生人口[1]。与世界上其他国家相比，中国育龄期妇女采取避孕措施的比例处于高水平，2007 年达到 90％，其中一半以上采用包括宫内节育器、安全套和安全期法等非药物避孕方式[2-3]。在对育龄期妇女所采用避孕方式的调查中，宫内节育器因其简便、经济、有效，使用率达到 49.2％，而随着性传播疾病防治工作的广泛开展，安全套的使用率也增至 36.5％，安全期法紧随其后，共同成为中国育龄期妇女主要采用的避孕方式[4-6]。健康育龄期妇女阴道黏膜表面以乳酸杆菌（LB），尤其是产过氧化氢 LB，为优势菌群形成一道天然屏障，维持阴道内微生态环境的稳定。研究表明，LB 在预防细菌性阴道病、HIV 感染中发挥着重要的作用[7-10]。细菌性阴道病是最常见的妇女生殖道感染性疾病，可引起盆腔炎[11]、不孕不育和早产[12]，增加性传播疾病和 HIV 的感染概率[9-10,13-14]。性生活对 LB 在阴道内的定植存在不利影响，而 LB 数量减少又是发生细菌性阴道病的一个重要指征[15]。因此，探讨不同避孕方式对 LB 在阴道内定植的影响对预防细菌性阴道病和 HIV 感染有着重要的意义。

在过去的 20 年间，国外一些横断面研究和前瞻性研究发现，药物避孕能够很好的预防细菌性阴道病[16-24]。然而，在一项前瞻性研究中，Heffron 等[25]认为药物避孕增加了妇女感染 HIV 的风险。在一项病例交叉研究中，Hutchinson 等[26]提出坚持使用安全套可降低细菌性阴道病的发生率。Calzolari 等[18]研究人员认为细菌性阴道病的发生与安全套使用成负相关，与宫内节育器使用成正相关。当正确、坚持使用安全套时，不仅可以避免非意愿妊娠，还可有效防止 HIV 的传播[27]。然而，到目前为止，中国健康育龄期妇女中广泛、长期采用的非药

*　基金资助：国家自然科学基金资助项目（30972819）。　作者简介：马立艳，女，主治检验医师，主要从事菌群分析与细菌耐药研究。
△　通讯作者，E-mail：sujianrong6@126.com。

物避孕方式如安全套、宫内节育器和安全期法对阴道 LB 的影响尚未可知。本研究旨在探讨安全套、宫内节育器和安全期法对 LB 在健康育龄期妇女阴道内定植的影响，为非药物避孕方式在妇女生殖健康中的作用提供实验室证据和理论依据。

1　资料与方法

1.1　一般资料　北京友谊医院妇产科门诊 2010 年 2 月至 2010 年 11 月期间招募的健康育龄期妇女，年龄 18～45 岁，月经周期规则(21～35 d)，采用同种非药物避孕方式达 3 个月以上。由妇产科医生详细采集其人口社会学资料，并进行详细的妇科检查，包括外阴、阴道和宫颈，以及白带常规检查(包括清洁度、念珠菌和阴道毛滴虫)、KOH 试验、阴道分泌物的 pH 值、阴道抹片的细胞学检查。如无外阴痒、痛、烧灼感，pH≤4.5，Nugent 评分低于 7，既往体健，非孕期，即认为是健康育龄期妇女，纳入本研究。凡近 2 个月具有宫颈、阴道或外阴的任何症状和(或)体征，包括活动性阴道感染、临床上有宫颈黏膜或阴道上皮明显损害的均应排除。近 1 个月使用过抗生素、非类固醇类抗炎药物或免疫抑制剂的也不纳入本研究。

1.2　标本采集　每位受试者在研究开始后第 1 次月经周期的第 21～22 天采集标本。用 2 支无菌定量拭子(Copan Diagnostics Inc.，Murrieta，CA，USA) 进入阴道约 2 cm，从宫颈下阴道侧壁取样，轻轻滚动 10 s 左右直至拭子饱和，即可获得定量阴道分泌物 0.2 mL，置于运送培养基中立即送检，进行阴道 LB 定量培养。然后，用 1 支无菌拭子进入阴道约 2 cm，从阴道侧壁取样立即送检，进行分泌物涂片革兰染色 Nugent 评分。

1.3　阴道分泌物涂片革兰染色 Nugent 评分　将 1 支阴道拭子在洁净的载玻片上涂片，待其自然干燥后革兰染色，进行 Nugent 评分[28]：革兰染色阳性大杆菌(LB)为优势菌的评为正常态(0～3 分)；革兰染色阳性大杆菌(LB)伴革兰染色阴性或革兰染色不定杆菌的评为过渡态(4～6 分)；革兰染色阴阳不定小杆菌评为细菌性阴道病(7～10 分)，不纳入本研究。

1.4　阴道 LB 定量培养及过氧化氢检测　将定量阴道拭子(含分泌物 0.2 mL)在 1.8 mL 磷酸盐缓冲液(PBS)中充分混匀(1∶10 稀释)，贴壁拧干拭子，获得阴道分泌物悬液，按照 1∶10的稀释度用 PBS 将悬液依次进行系列倍比稀释(10^{-2}～10^{-7})，然后取 100 μL 溶液接种到 CNA 培养基(Oxoid Limited，Basingstoke，Hampshire，UK)(10^2，10^3，10^4，10^5，10^6，10^7，37 ℃，6% CO_2，48 h)和 Rogosa 培养基(Oxoid Limited，Basingstoke，Hampshire，UK)(10^2，10^3，10^5，37 ℃，厌氧培养 4～7 d)，记录 LB 能生长相对应的稀释度最高的平板上的菌落数(CFU/mL)。根据平板上菌落形态、显微镜下菌体特点和生化反应对 LB 进行鉴定。将所有检出的 LB 接种在四甲基吡啶联苯胺培养基上(TMB-PLUS)(Sigma，St. Louis，MO，USA)，37 ℃厌氧培养 2 d 后暴露于空气中，0.5 h 内菌落变为蓝色即为产过氧化氢的 LB。

1.5　统计学处理　应用 SPSS17.0 统计软件(SPSS Inc.，Chicago，IL，USA)对实验数据进行统计分析。首先，对 3 组非药物避孕方式受试者的年龄、非意愿妊娠、Nugent 评分、LB 培养阳性率和定量培养结果进行总的统计分析。其中，ANVOA 应用于计量资料如 LB 菌落计数的统计分析，卡方检验用于计数资料如 Nugent 评分和 LB 培养阳性率的统计分析。然后，对于两组间的比较，用 Bonferroni 法进行校正。对于样本量过少如非意愿妊娠的比较，采用 Fisher 确切概率法进行校正。对于 3 组间的比较，$P<0.05$ 有统计学差异，对于 2 组之间的比较，$P<0.017$ 有统计学差异。

2　结　　果

2.1　人口社会学资料　共有 164 名受试者纳入本研究，均已婚且处于性活跃期，其中 72 名(43.9%)使用安全套避孕，57 名(34.8%)留置宫内节育器避孕，35 名(21.3%)采用安全期法避孕。宫内节育器组受试者的年龄[(34.9±0.6)岁]略高于安全套组[(31.2±0.7)岁]和安全期组[(30.1±0.9)岁]。经卡方检验，3 组间存在的年龄差异对组间的统计分析结果无影响($P=0.510$)。统计分析表明，非意愿妊娠与受试者生育次数相关，对于生育 1 次的妇女而言，非意愿妊娠发生率在安全期组高达 76.9%，而在安全套组为 33.9%，宫内节育器组为 30.4%。相关人口统计学特征，见表 1。

表 1　安全套组、宫内节育器组和安全期组受试者的人口社会学资料

项目	安全套组 (n=72)	宫内节育器组 (n=57)	安全期组 (n=35)	P 值
年龄($\bar{x}\pm s$，岁)	31.2±0.7	34.9±0.6	30.1±0.9	0.510
北京城区[n(%)]	72(100.0)	57(100.0)	35(100.0)	/
结婚[n(%)]	72(100.0)	57(100.0)	35(100.0)	/
性活跃[n(%)]	72(100.0)	57(100.0)	35(100.0)	/
生育次数				
0 次	3(4.2)	0(0.0)	7(20.0)	0.000
非意愿妊娠次数[n(%)]				
≤1	2(2.8)	0(0.0)	6(17.1)	
2	1(1.4)	0(0.0)	1(2.9)	
≥3	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	
1 次	62(86.1)	46(80.7)	26(74.3)	0.020
非意愿妊娠次数				
0	40(64.5)	32(69.6)	1(3.8)	
1	21(33.9)	14(30.4)	20(76.9)	
2	1(1.4)	0(0.0)	3(8.6)	
≥3	0(0.0)	0(0.0)	2(5.7)	
2 次	5(6.9)	8(14.0)	2(5.7)	0.279
非意愿妊娠次数				
≤1	4(5.6)	7(12.3)	1(2.9)	
2	0(0.0)	1(1.8)	1(2.9)	
≥3	1(1.4)	0(0.0)	0(0.0)	
≥3 次	2(2.8)	3(5.3)	0(0.0)	0.356
非意愿妊娠次数				
≤1	1(1.4)	2(3.5)	0(0.0)	
2	1(1.4)	1(1.8)	0(0.0)	
≥3	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	

2.2　Nugent 评分　164 名受试者中，Nugent 0～3 分的 140 名(85.4%)，3 组 Nugent 评分均以 0～3 分正常态为主。与安全期组相比，安全套组受试者中 Nugent 0～3 分的占比无统计学差异($P=0.384$，$\alpha=0.017$)。同样，与安全期组相比，宫内节育器组受试者中 Nugent 0～3 分的占比无统计学差异($P=0.237$，$\alpha=0.017$)。然而，安全套组与宫内节育器组相比，Nu-

gent 0～3 分的占比差异有统计学意义(P=0.005,α=0.017),见表 2。

表 2　安全套组、宫内节育器组和安全期组阴道分泌物 Nugent 评分

组别	0～3 分组(n=140)	4～6 分组(n=24)
安全套组	67(93.1)	5(6.9)
宫内节育器组	43(75.4)	14(24.6)
安全期组	30(85.7)	5(14.3)

2.3　产过氧化氢 LB　164 名受试者中,LB 培养阳性率为 90.2%。其中,安全套组、宫内节育器组和安全期组 LB 培养阳性率分别为 95.8%、84.2%和 88.6%,3 组间无统计学差异(P=0.081)。根据培养 LB 的菌落形态和菌体光学显微镜镜下特点,148 名受试者的阴道分泌物中均可培养分离到 1～3 种 LB,3 组共分离 LB 菌株 293 株,其中安全套组 130 株,宫内节育器组 88 株,安全期组 75 株。安全套组产过氧化氢 LB 菌株的检出率为 82.3%,高于宫内节育器组(68.2%),二者差异有统计学意义(P=0.016,α=0.017)。安全套组产过氧化氢 LB 菌落计数值对数($\bar{x}\pm s$)为 7.81±0.14,高于宫内节育器组为 6.54±0.14,二者差异有统计学意义(P=0.000,α=0.017),见表 3。

表 3　安全套组、宫内节育器组和安全期组 LB 定量培养结果

项目	安全套组(n=72)	宫内节育器组(n=57)	安全期组(n=35)	P 值
LB 培养阳性率[n(%)]	69(95.8)	48(84.2)	31(88.6)	0.081
LB 菌落计数值对数($\bar{x}\pm s$)				
产过氧化氢 LB	7.81±0.14	6.54±0.14△	7.23±0.20	0.000#
不产过氧化氢 LB	5.99±0.20	6.00±0.17	6.44±0.28	0.328

#:3 组间比较,未经 Bonferroni 校正;△:经 Bonferroni 校正,P=0.000,与安全套组比较。

3　讨　论

近年来,细菌性阴道病和 HIV 感染人群有增加趋势,为了改善育龄期妇女的生殖健康,提供更为有效、安全的避孕方式显得尤为重要。如前所述,LB,尤其是产过氧化氢的 LB,是正常阴道菌群的重要组成成分,可被采用的避孕方式影响[23,29-31]。本研究首次定量分析阴道 LB 与非药物避孕方式之间的关系,并证实与宫内节育器和安全期法相比,安全套更有利于产过氧化氢 LB 在阴道内的定植,从而对育龄期妇女生殖健康具有积极的保护作用。

安全套是一种方便、有效、可逆的避孕方式,也是本研究中多数妇女采用的避孕方式。坚持正确使用安全套,可有效减少通过性接触造成的 HIV 感染、降低细菌性阴道病的发生,增加宫颈上皮内瘤变的消退率[26,32-33]。此外,安全套还可防止性生活时 pH 值 7.0～8.0 的精子进入阴道,避免阴道内酸性缓冲体系遭到破坏。与安全期法相比,使用安全套可减少育龄期妇女非意愿妊娠的发生,继而减少流产等侵入性操作对阴道内环境的损伤。宫内节育器是一种长效、可逆的避孕方式,留置第 1 年的失败率仅为 0.6%～0.8%[34],与安全套组相比,宫内节育器组 Nugent 0～3 分的占比略低,提示此方法使阴道内环境稳态更脆弱、更易失衡。既往研究表明,留置宫内节育器的妇女盆腔炎、宫颈糜烂、细菌性阴道病的罹患率明显增加,阴道分泌物涂片 Nugent 评分增高[18,35]。安全期法既不能有效避免非意愿妊娠,也不能降低细菌性阴道病和 HIV 的感染率。本研究中,对生育次数进行非意愿妊娠分层分析发现,生育 1 胎的妇女中发生非意愿妊娠的比例偏高,与选择避孕方式不当有关。与安全套和宫内节育器相比,安全期法是最不安全的一种避孕方式。

虽然本研究认为安全套优于宫内节育器和安全期法,但也与安全套是否能有效使用和坚持正确使用密切相关[36]。如果每次性生活时均能正确使用安全套,失败率为 2%;但如果不能做到正确和坚持使用,失败率就会明显上升至 15%[34]。因此,需要对安全套的正确使用方法及重要性、必要性进行引导和宣传教育。

中国从 70 年代开始实行计划生育政策,当时宫内节育器是主要的避孕方式。所以,本研究中宫内节育器组受试者的年龄较安全套组和安全期组偏大,经过年龄校正,证实年龄差异与产过氧化氢 LB 菌落计数的组间差异无相关性。阴道内 LB 的定植与妇女体内雌激素水平和生殖周期相关,因此,为了避免体内雌激素高峰对研究结果产生影响,本研究所招募的受试者均为育龄期妇女,采集标本均在月经周期的黄体期进行。

多个流行病学研究发现,阴道内产过氧化氢 LB 的定植与生殖道感染性疾病,包括细菌性阴道病和 HIV 感染的发生率降低密切相关[9,37-39]。然而,近期两项研究表明,LB 在体内产生过氧化氢的浓度并不能有效抑制潜在致病菌的生长[39-40]。尽管可以在体外检测到 LB 产生过氧化氢,但在阴道内微需氧或厌氧环境下 LB 能够产生多少过氧化氢尚未可知。因此,在体内阴道环境中过氧化氢的抗菌效应目前尚存在争议。

综上所述,坚持正确使用安全套可以减少细菌性阴道病的发生和 HIV 感染,对保护健康育龄期妇女生殖健康具有积极意义。

参考文献

[1] Research Group of National Population Development Strategy. Research report on national population development strategy[J]. Popul Res,2007,3(1):1-10.

[2] Department of Population and Employment Statistics of National Bureau of Statistics of China(Ed). China population statistics yearbook 1993-2009[M]. Beijing:China Statistics Press,2011:20-22.

[3] Cleland J. Contraception in historical and global perspective[J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol,2009,23(2):165-176.

[4] He H,Ostbye T,Daltveit AK. Reproductive and family planning history,knowledge,and needs:A community survey of low-income women in Beijing,China[J]. BMC Womens Health,2009,9:23.

[5] Zheng X,Tan L,Ren Q,et al. Trends in contraceptive patterns and behaviors during a period of fertility transition in China:1988-2006[J]. Contraception,2012,86(3):204-213.

[6] Tran N,Stapleton J,Zhang Y,et al. Contraceptive practices of women visiting a gynecology clinic in Beijing,China[J]. Int J Gynaecol Obstet,2011,112(1):64-65.

[7] Bolton M,van der Straten A,Cohen CR. Probiotics:potential to prevent HIV and sexually transmitted infections in women[J]. Sex Transm Dis,2008,35(3):214-225.

[8] Fredricks DN,Fiedler TL,Marrazzo JM. Molecular identification of bacteria associated with bacterial vaginosis[J]. N Engl J Med,2005,353(18):1899-1911.

[9] Martin HL, Richardson BA, Nyange PM, et al. Vaginal lactobacilli, microbial flora, and risk of human immunodeficiency virus type 1 and sexually transmitted disease acquisition[J]. J Infect Dis, 1999, 180(6): 1863-1868.

[10] Sha BE, Zariffard MR, Wang QJ, et al. Female genital-tract HIV load correlates inversely with Lactobacillus species but positively with bacterial vaginosis and Mycoplasma hominis[J]. J Infect Dis, 2005, 191(1): 25-32.

[11] Wiesenfeld HC, Hillier SL, Krohn MA, et al. Lower genital tract infection and endometritis: insight into subclinical pelvic inflammatory disease[J]. Obstet Gynecol, 2002, 100(3): 456-463.

[12] Hillier SL, Nugent RP, Eschenbach DA, et al. Association between bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group[J]. N Engl J Med, 1995, 333(26): 1737-1742.

[13] Atashili J, Poole C, Ndumbe PM, et al. Bacterial vaginosis and HIV acquisition: a meta-analysis of published studies[J]. AIDS, 2008, 22(12): 1493-1501.

[14] Cohen CR, Lingappa JR, Baeten JM, et al. Bacterial vaginosis associated with increased risk of female-to-male HIV-1 transmission: a prospective cohort analysis among African couples[J]. PLoS Med, 2012, 9(6): e1001251.

[15] Cherpes TL, Hillier SL, Meyn LA, et al. A delicate balance: risk factors for acquisition of bacterial vaginosis include sexual activity, absence of hydrogen peroxide-producing lactobacilli, black race, and positive herpes simplex virus type 2 serology[J]. Sex Transm Dis, 2008, 35(1): 78-83.

[16] Koumans EH, Sternberg M, Bruce C, et al. The prevalence of bacterial vaginosis in the United States, 2001-2004; associations with symptoms, sexual behaviors, and reproductive health[J]. Sex Transm Dis, 2007, 34(11): 864-869.

[17] Yen S, Shafer MA, Moncada J, et al. Bacterial vaginosis in sexually experienced and non-sexually experienced young women entering the military[J]. Obstet Gynecol, 2003, 102(5): 927-933.

[18] Calzolari E, Masciangelo R, Milite V, et al. Bacterial vaginosis and contraceptive methods[J]. Int J Gynaecol Obstet, 2000, 70(3): 341-346.

[19] Avonts D, Sercu M, Heyerick P, et al. Incidence of uncomplicated genital infections in women using oral contraception or an intrauterine device: a prospective study[J]. Sex Transm Dis, 1990, 17(1): 23-29.

[20] Barbone F, Austin H, Louv WC, et al. A follow-up study of methods of contraception, sexual activity, and rates of trichomoniasis, candidiasis, and bacterial vaginosis[J]. Am J Obstet Gynecol, 1990, 163(2): 510-514.

[21] Baeten JM, Nyange PM, Richardson BA, et al. Hormonal contraception and risk of sexually transmitted disease acquisition: results from a prospective study[J]. Am J Obstet Gynecol, 2001, 185(2): 380-385.

[22] Rifkin SB, Smith MR, Brotman RM, et al. Hormonal contraception and risk of bacterial vaginosis diagnosis in an observational study of women attending STD clinics in Baltimore, MD[J]. Contraception, 2009, 80(1): 63-67.

[23] De Seta F, Restaino S, De Santo D, et al. Effects of hormonal contraception on vaginal flora[J]. Contraception, 2012, 86(5): 526-529.

[24] Riggs M, Klebanoff M, Nansel T, et al. Longitudinal association between hormonal contraceptives and bacterial vaginosis in women of reproductive age[J]. Sex Transm Dis, 2007, 34(12): 954-959.

[25] Heffron R, Donnell D, Rees H, et al. Use of hormonal contraceptives and risk of HIV-1 transmission: a prospective cohort study[J]. Lancet Infect Dis, 2012, 12(1): 19-26.

[26] Hutchinson KB, Kip KE, Ness RB. Condom use and its association with bacterial vaginosis and bacterial vaginosis-associated vaginal microflora[J]. Epidemiology, 2007, 18(6): 702-708.

[27] CDC. Male latex condoms and sexually transmitted diseases[M]. USA: Atlanta, Ga, 2002: 15-17.

[28] Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram stain interpretation[J]. J Clin Microb, 1991, 29(2): 297-301.

[29] Antonio MA, Hawes SE, Hillier SL. The identification of vaginal Lactobacillus species and the demographic and microbiologic characteristics of women colonized by these species[J]. J Infect Dis, 1999, 180(6): 1950-1956.

[30] Verstraelen H, Verhelst R, Claeys G, et al. Longitudinal analysis of the vaginal microflora in pregnancy suggests that L. crispatus promotes the stability of the normal vaginal microflora and that L. gasseri and/or L. iners are more conducive to the occurrence of abnormal vaginal microflora[J]. BMC Microbiol, 2009, 9(1): 116.

[31] Gupta K, Hillier SL, Hooton TM, et al. Effects of contraceptive method on the vaginal microbial flora: a prospective evaluation[J]. J Infect Dis, 2000, 181(2): 595-601.

[32] Kaida A, Laher F, Strathdee SA, et al. Contraceptive use and method preference among women in Soweto, South Africa: the influence of expanding access to HIV care and treatment services[J]. PLoS One, 2010, 5(11): e13868.

[33] Munk AC, Gudlaugsson E, Malpica A, et al. Consistent condom use increases the regression rate of cervical intraepithelial neoplasia 2-3[J]. PLoS One, 2012, 7(9): e45114.

[34] Trussell J. Choosing a contraceptive: efficacy, safety, and personal considerations[M]. New York: Ardent Media, Inc, 2007: 15-18.

[35] Ferraz do Lago R, Simoes JA, Bahamondes L, et al. Follow-up of users of intrauterine device with and without bacterial vaginosis and other cervicovaginal infections[J]. Contraception, 2003, 68(2): 105-109.

[36] Shlay JC, McClung MW, Patnaik JL, et al. Comparison of sexually transmitted disease prevalence by reported condom use: errors among consistent condom users seen at an urban sexually transmitted disease clinic[J]. Sex Transm Dis, 2004, 31(9): 526-532.

[37] Hawes SE, Hillier SL, Benedetti J, et al. Hydrogen peroxide-producing lactobacilli and acquisition of vaginal infections[J]. J Infect Dis, 1996, 174(5): 1058-1063.

[38] Cherpes TL, Meyn LA, Krohn MA, et al. Risk factors for infection with herpes simplex virus type 2: role of smoking, douching, uncircumcised males, and vaginal flora[J]. Sex Transm Dis, 2003, 30(5): 405-410.

[39] O'Hanlon DE, Lanier BR, Moench TR, et al. Cervicovaginal fluid and semen block the microbicidal activity of hydrogen peroxide produced by vaginal lactobacilli[J]. BMC Infect Dis, 2010, 10: 120.

[40] O'Hanlon DE, Moench TR, Cone RA. In vaginal fluid, bacteria associated with bacterial vaginosis can be suppressed with lactic acid but not hydrogen peroxide[J]. BMC Infect Dis, 2011, 11: 200.

（收稿日期：2013-06-01）