

Content of supplementary material

	pages
1. Questionnaire	
English version	2–7
German version	8–13
2. Diet and bedding	14
3. Evaluation of whisker and fur lesions	15–18

Supplementary material 1. Questionnaire as used in the online survey of Kahnau et. al. The survey was originally in German (p. 8–13) and translated into English (p. 2– 7) for the publication. Below the German version can be found.

Barbering survey (*English translated version*)

We are currently observing a high prevalence of barbering (abnormal behavior: animals remove their fur and/or whiskers) in C57BL/6J mice, which we believe compromises both animal welfare and scientific data quality. To be able to assess the current prevalence and importance of barbering in other animal facilities, we are addressing this survey to you.

If possible, we would like to ask you to coordinate within your facility who will complete the survey. This should prevent any duplicate entries. We are not collecting personal data or data on the facility. When answering the questions, please refer to the period from January 2020 to the present. If the information to answer a question is not available, you may indicate "unknown". If you do not want to answer a question, select "no answer" or leave the checkboxes or text field blank.

Based on the survey results, we will examine selected factors related to the etiology of barbering and further investigate the effects of barbering on various parameters.

1. In which mouse strains do you observe barbering?

Please select all that apply:

- None
- BALB/c
- C57BL/6J
- C57BL/6N
- CD-1
- DBA/2
- NMRI
- Swiss Webster
- Unknown
- Other: _____

2. What anomalies were observed?

Please select all that apply:

- Removal of fur on face/body
- Removal of whiskers
- Other: _____

3. Do you systematically document the occurrence of barbering?

Please select only one of the following answers:

- Yes
- No
- Unknown

4. How many animals are affected by barbering (number of cages with animal groups or individual animals)? If not systematically documented, provide an estimate.

Please select only one of the following answers:

- Sporadically (< 10 %)
- Less than half (10 to < 50 %)
- About half (50 %)
- More than half (> 50 to 90 %)
- Many (> 90 %)
- Unknown

5. At what age do the animals show the first signs of barbering?

Please select only one of the following answers:

- < 2 months
- 2 to < 6 months
- 6 to < 12 months
- ≥ 12 months
- Age varies
- Unknown

6. Which gender is affected?

Please select only one of the following answers:

- Female animals
- Male animals
- Both sexes, but female animals are more often affected
- Both sexes, but male animals are affected more often
- Both sexes are affected equally often
- Unknown

7. From which breeder do you obtain the animals affected by barbering?

Please select all that apply:

- Charles River
- Janvier
- Taconic
- Envigo
- Own breeding
- Other: _____

8. Which type of husbandry is used for the animals affected by barbering?

Please select all answers that apply:

- Open shelves
- Open shelves, cages with filter hoods
- Animal housing cabinet
- Individually ventilated cages (IVC)
- Isolator
- Other: _____

9. What cage size is used for the animals affected by barbering?

Please select all that apply:

- Type I long
- Type II
- Type I super long
- Type 500
- Type II long
- Type III
- Type IV
- No answer

10. What enrichment is provided to the animals at the time when barbering occurs?

Please select all that apply:

- Nothing (neither enrichment nor nest material)
- Nesting material
- Wood gnawing blocks
- House
- Running wheel/running disc/ running disc attached to house
- Tunnel
- Elevated platform
- Swing
- Cage divider (dividers that allow the mice to separate themselves from the group)
- Food balls
- Cognitive enrichment (clicker training, puzzles)
- No answer
- Other: _____

11. What is the stocking density of the animals affected by barbering?

Please select all that apply.

- 1 animal/cage
- 2 animals/cage
- 3 animals/cage
- 4 animals/cage
- More than 4 animals/cage
- Unknown
- No answer
- Other _____

12. Which diet is used for the animals affected by barbering (type/manufacturer)?

Please type in an answer here: _____

13. Is the diet autoclaved?

Please select only one of the following answers:

- Yes
- No
- Unknown

14. What bedding is used (type/manufacturer)?

Please type in an answer here: _____

15. At what relative humidity are the animals affected by barbering kept?

Please select only one of the following answers:

- < 45 %
- 45 to 55 %
- > 55 to 65 %
- > 65 %
- Unknown

16. At what temperature are the animals affected by barbering kept?

Please select only one of the following answers:

- < 20 °C
- 20 to 22 °C
- > 22 to 24 °C
- > 24 °C
- Unknown

17. Which light-dark cycle is used for animals affected by barbering?

Please select only one of the following answers:

- Light-dark cycle of 10:14
- Light-dark cycle of 11:13
- Light-dark cycle of 12:12
- Light-dark cycle of 13:11
- Light-dark cycle of 14:10
- Unknown
- Other _____

18. Which cleaning and disinfecting agents are used for cages/animal rooms/etc.?

Please type in an answer here: _____

19. Is music played in the animal rooms, where barbering occurs, during working hours? If yes, please indicate the type of music in the field "other".

Please select only one of the following answers:

- Yes
- No
- Unknown
- Other _____

20. Is music played in the animal rooms, where barbering does not occur, during working hours? If yes, please indicate the type of music in the field "other".

Please select only one of the following answers:

- Yes
- No
- Unknown
- Other _____

21. Were experimental and/or housing-related stress factors related to the occurrence of barbering?

Please select only one of the following answers:

- Yes
- No
- Unknown

Comment: _____

22. Were you able to observe any other factors associated to the occurrence of barbering? Please indicate these factors in the comment field.

Please select only one of the following answers:

- Yes
- No
- Unknown

Comment: _____

23. Are the animals affected by barbering used for experiments?

Please select only one of the following answers:

- Yes
- Animals with loss of whiskers are not used; animals with fur lesions on head and/or body are used.
- No. If loss of whiskers and/or fur lesions are present, the animals will not be used in the experiment.
- Unknown

24. Do the scientists at your institution fear that barbering affects their study results? Please indicate the experiments that may be affected, and the reasons in the comment field.

Please select only one of the following answers:

- Yes
- No
- Unknown

Comment: _____

Barbering Umfrage (*original German version*)

Wir beobachten zurzeit eine hohe Prävalenz von Barbering (Verhaltensauffälligkeit, bei der sich die Tiere Fell und/oder Vibrissen entfernen) bei C57BL/6J Mäusen, wodurch wir sowohl das Tierwohl als auch die wissenschaftlichen Daten gefährdet sehen. Um die aktuelle Prävalenz und Bedeutung von Barbering in anderen Tierhaltungen einschätzen zu können, richten wir uns mit dieser Umfrage an Sie.

Wenn möglich, würden wir Sie gerne darum bitten, sich in Ihrer Einrichtung abzusprechen, wer die Umfrage ausfüllt, damit die Daten zu den betroffenen Tieren nicht doppelt eingetragen werden. Wir erheben keine Daten zur Person oder Einrichtung. Bitte beziehen Sie sich bei der Beantwortung der Fragen auf den Zeitraum von Januar 2020 bis heute. Wenn Ihnen keine Informationen über die abgefragten Punkte vorliegen, können Sie "nicht bekannt" angeben. Wenn Sie die Frage nicht beantworten wollen, belassen sie die Auswahl bei "keine Antwort" oder das Auswahl- bzw. Textfeld leer.

Basierend auf den Umfrageergebnissen werden wir ausgewählte Faktoren, die im Zusammenhang mit der Ätiologie von Barbering stehen, und auch die Auswirkungen von Barbering auf verschiedene Parameter weiter untersuchen.

1. Bei welchen Mausstämmen beobachten Sie Barbering?

Bitte wählen Sie alle zutreffenden Antworten aus:

- Keinem
- BALB/c
- C57BL/6J
- C57BL/6N
- CD-1
- DBA/2
- NMRI
- Swiss Webster
- Nicht bekannt
- Sonstiges: _____

2. Welche Auffälligkeiten wurden beobachtet?

Bitte wählen Sie alle zutreffenden Antworten aus:

- Fellverlust am Kopf/Körper
- Vibrissenverlust
- Sonstiges: _____

3. Erheben Sie das Auftreten von Barbering systematisch?

Bitte wählen Sie nur eine der folgenden Antworten aus:

- Ja
- Nein
- Nicht bekannt

4. Wie viele Tiere sind vom Barbering betroffen (Anzahl an Käfigen mit Gruppen- oder Einzeltieren)? Falls nicht systematisch erhoben, geben Sie einen Schätzwert an. Bitte wählen Sie nur eine der folgenden Antworten aus:

- Vereinzelt (< 10 %)
- Weniger als die Hälfte (10 bis < 50 %)
- Ungefähr die Hälfte (50 %)
- Mehr als die Hälfte (> 50 bis 90 %)
- Sehr viele (> 90 %)
- Nicht bekannt

5. Mit welchem Alter zeigen die Tiere erste Anzeichen von Barbering? Bitte wählen Sie nur eine der folgenden Antworten aus:

- < 2 Monate
- 2 bis < 6 Monate
- 6 bis < 12 Monate
- ≥ 12 Monate
- Alter variiert
- Nicht bekannt

6. Welches Geschlecht ist betroffen?

Bitte wählen Sie nur eine der folgenden Antworten aus:

- Weibliche Tiere
- Männliche Tiere
- Beide Geschlechter, aber weibliche Tiere sind häufiger betroffen
- Beide Geschlechter, aber männliche Tiere sind häufiger betroffen
- Beide Geschlechter gleich häufig betroffen
- Nicht bekannt

7. Von welchem Züchter beziehen Sie die vom Barbering betroffenen Tiere?

Bitte wählen Sie alle zutreffenden Antworten aus:

- Charles River
- Janvier
- Taconic
- Envigo
- Eigene Zucht
- Sonstiges: _____

8. Welche Haltungsform liegt bei den vom Barbering betroffenen Tieren vor?
Bitte wählen Sie alle zutreffenden Antworten aus:

- Offenes Regalsystem
- Offenes Regalsystem, Käfige mit Filterhauben
- Tierhaltungsschrank
- Individuell ventilierte Käfige (IVC)
- Isolator
- Sonstiges: _____

9. In Käfigen welcher Größe werden die vom Barbering betroffenen Tiere gehalten?

Bitte wählen Sie alle zutreffenden Antworten aus:

- Typ I lang
- Typ II
- Typ I super lang
- Typ 500
- Typ II lang
- Typ III
- Typ IV
- keine Antwort

10. Welches Enrichment steht den Tieren zum Zeitpunkt des Auftretens von Barbering zur Verfügung?

Bitte wählen Sie alle zutreffenden Antworten aus:

- Nichts (weder Enrichment noch Nestmaterial)
- Nestmaterial
- Nageholz
- Haus
- Laufrad/Laufteller/Laufteller-Haus
- Tunnel
- 2. Ebene
- Swing
- Cage divider (Trennwände, die den Tiere Sichtschutz vor den anderen Gruppenmitgliedern bieten)
- Futterbälle
- Kognitives Enrichment (regelmäßiges Clicker-Training, Rätsel)
- Keine Antwort
- Sonstiges: _____

11. Welche Besatzdichte liegt bei den vom Barbering betroffenen Tieren vor?
Bitte wählen Sie alle zutreffenden Antworten aus:

- 1 Tier/Käfig
- 2 Tiere/Käfig
- 3 Tiere/Käfig
- 4 Tiere/Käfig
- > 4 Tiere/Käfig
- Nicht bekannt
- Keine Antwort
- Sonstiges: _____

12. Welches Futter erhalten die vom Barbering betroffenen Tiere
(Sorte/Hersteller)?

Bitte geben Sie Ihre Antwort hier ein: _____

13. Wird das oben genannte Futter autoklaviert? Bitte wählen Sie nur eine der
folgenden Antworten aus:

- Ja
- Nein
- nicht bekannt

14. Welche Einstreu wird verwendet (Sorte/Hersteller)?

Bitte geben Sie Ihre Antwort hier ein: _____

15. Bei welcher relativen Luftfeuchte wurden die vom Barbering betroffenen Tiere
gehalten?

Bitte wählen Sie nur eine der folgenden Antworten aus:

- < 45 %
- 45 bis 55 %
- > 55 bis 65 %
- > 65 %
- Nicht bekannt

16. Bei welcher Temperatur werden die vom Barbering betroffenen Tiere
gehalten?

Bitte wählen Sie nur eine der folgenden Antworten aus:

- < 20 °C
- 20 bis 22 °C
- > 22 bis 24 °C
- > 24 °C
- Nicht bekannt

17. Wie ist der Lichtrhythmus bei den vom Barbering betroffenen Tieren?

Bitte wählen Sie nur eine der folgenden Antworten aus:

- Hell-Dunkel-Rhythmus von 10:14
- Hell-Dunkel-Rhythmus von 11:13
- Hell-Dunkel-Rhythmus von 12:12
- Hell-Dunkel-Rhythmus von 13:11
- Hell-Dunkel-Rhythmus von 14:10
- Nicht bekannt
- Sonstiges: _____

18. Welche Reinigungs- und Desinfektionsmittel für Käfige/Tierraum/etc. werden standardmäßig verwendet?

Bitte geben Sie Ihre Antwort hier ein: _____

19. Wird in den Tierhaltungsräumen, in denen Barbering auftritt, Musik während der Arbeitszeit gespielt? Wenn ja, bitte unter "Sonstiges" angeben, welche Art von Musik.

Bitte wählen Sie nur eine der folgenden Antworten aus:

- Ja
- Nein
- Nicht bekannt
- Sonstiges

20. Wird in den Tierhaltungsräumen, in denen kein Barbering auftritt, Musik während der Arbeitszeit gespielt? Wenn ja, bitte unter "Sonstiges" angeben, welche Art von Musik.

Bitte wählen Sie nur eine der folgenden Antworten aus:

- Ja
- Nein
- Nicht bekannt

21. Standen versuchs- und/oder haltungsbedingte Stressfaktoren in Zusammenhang mit dem Auftreten von Barbering? Bitte geben Sie diese im Kommentarfeld an. Bitte wählen Sie nur eine der folgenden Antworten aus:

- Ja
- Nein
- Nicht bekannt
- Bitte schreiben Sie einen Kommentar zu Ihrer Auswahl

22. Konnten Sie weitere, noch nicht aufgeführte Faktoren im Zusammenhang mit dem Auftreten von Barbering beobachten? Bitte geben Sie diese im Kommentarfeld an.

Bitte wählen Sie nur eine der folgenden Antworten aus:

- Ja
- Nein
- Nicht bekannt

Kommentar: _____

23. Werden die vom Barbering betroffenen Tiere für Versuche verwendet?

Bitte wählen Sie nur eine der folgenden Antworten aus:

- Ja
- Tiere mit Vibrissenverlust werden nicht verwendet; Tiere mit Fellverlust am Kopf und/oder Körper werden verwendet.
- Nein. Wenn Vibrissen- und/oder Fellverlust vorliegt, werden die Tiere nicht im Versuch verwendet.
- Nicht bekannt

24. Befürchten die WissenschaftlerInnen Ihrer Einrichtung, dass Barbering ihre Studienergebnisse beeinflusst? Führen Sie im Kommentarfeld auf, um welche Versuche es sich dabei handelt und warum ein Einfluss befürchtet wird.

Bitte wählen Sie nur eine der folgenden Antworten aus:

- Ja
- Nein
- Nicht bekannt

Kommentar: _____

Supplementary material 2. Diet and bedding. The free text responses were summarized into the categories listed below.

Diet (21 respondents providing sufficient information in the free text answer)	Number of responses
Maintenance diet	18
Breeding diet	10
Rodent diet was purchased from the following manufacturers: Altromin, Kliba Nafag, Lasvendi, Ssniff.	
Bedding – material (21 respondents providing sufficient information in the free text answer)	Number of responses
Poplar	7
Aspen	8
Spruce/fir	3
Bedding – particle size (11 respondents providing sufficient information in the free text answer)	Number of responses
< 2 mm	3
≥ 2 mm	7
Bedding was purchased from the following manufacturers: Abedd, Lasvendi, Lignocel, Safe, Tapvei, Thomsen.	

Evaluation of whisker and fur lesions

As soon as barbering occurs in a group, the whisker and fur lesions are documented once a week using the present scoring scheme to observe changes over time. Please list any potential trigger factors (e.g., experiments, changes in housing and husbandry, age, etc.): _____

<u>Observation</u>	<u>Score</u>
--------------------	--------------

1) Whiskers (evaluate left and right side separately)

Complete	0
Reduced	1
Not present	2

2) Fur: Overall size of fur lesions

The sizes of all affected areas are added together.

No fur lesion	0
Small: the affected area has a maximum size of the auricle	1
Medium: more than auricle size to half of the body affected	2
Large: more than half to entire body affected	3

3) Fur: Lesion severity of the most affected area

The most affected area is evaluated.

No fur lesions	0
Fur altered, but skin not visible	1
Thinned out fur (no dense coat)	4
Bald (no fur)	6
Bloody or moist	10

The scoring scheme was designed by (listed in alphabetical order): Kai Diederich, Anne Jaap, Ute Hobbiesiefken, Katharina Hohlbaum, Pia Kahnau, Paul Mieske.

Example 1) Whiskers: **complete** (score 0)



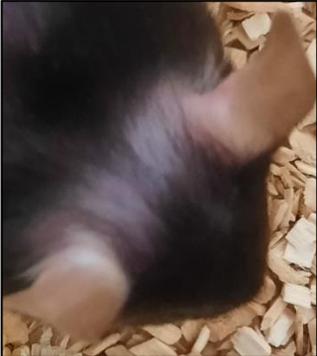
Example 1) Whiskers: **reduced** (score 1)



Example 1) Whiskers: **not present** (score 2)



Example 2) Fur: Overall size of fur lesions – **small** (score 1)



Example 2) Fur: Overall size of fur lesions – **medium** (score 2)



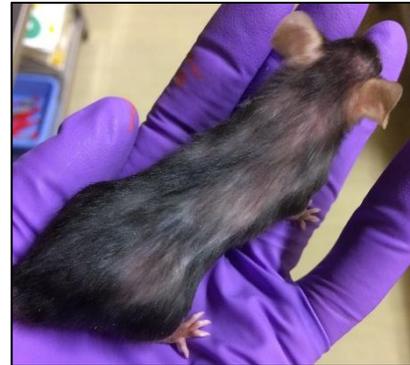
Example 2) Fur: Overall size of fur lesions – **large** (score 3)



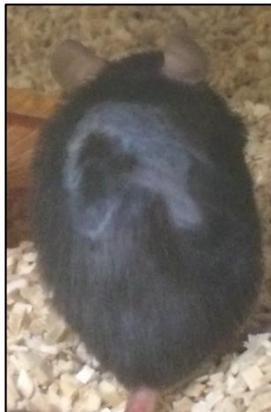
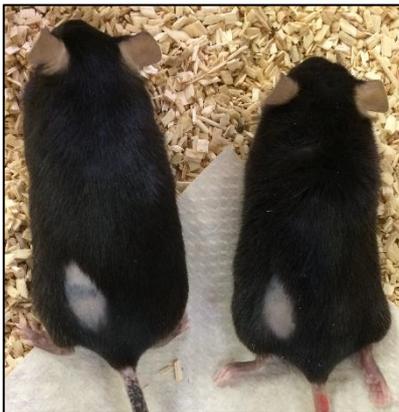
Example 3) Lesion severity of the most affected area –
Fur altered, but skin not visible (score 1)



Example 3) Lesion severity of the most affected area –
Thinned out fur (no dense coat) (score 4)



Example 3) Lesion severity of the most affected area –
Bald (no fur) (score 6)



Images of adult female C57BL/6J mice obtained from Charles River Laboratories, Sulzfeld, Germany. At arrival the whisker and fur condition of the animals was unremarkable. First signs of barbering were shown a few weeks to months after arrival. The mice were free of all viral, bacterial, and parasitic pathogens listed in the FELASA recommendations as well as opportunistic agents (Mähler 2014).

Mähler M, Berard M, Feinstein R, Gallagher A, Illgen-Wilcke B, Pritchett-Corning K, Raspa M 2014 FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units. *Laboratory Animals* 48: 178–192.