



DOI: dx.doi.org/10.17504/protocol s.io.5qpvor4o7v4o/v1

Protocol Citation: Franciele Kich Giongo, Matheus Gallas-Lopes, Ana P Herrmann 2023. Assessment of prepulse inhibition (PPI) of the acoustic startle reflex in rodents. protocols.io https://dx.doi.org/10.17504/p rotocols.io.5qpvor4o7v4o/v1

MANUSCRIPT CITATION:

License: This is an open access protocol distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited

Assessment of prepulse inhibition (PPI) of the acoustic startle reflex in rodents

Franciele Kich

Giongo¹,

Matheus Gallas-Lopes¹, Ana P Herrmann¹

¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul



Ana P Herrmann Universidade Federal do Rio Grande do Sul

ABSTRACT

The acoustic startle reflex is an automatic and involuntary response that occurs in humans and other animals when they are exposed to sudden and intense acoustic stimuli, such as loud noises. This response can be influenced by several factors, including the intensity and timing of the stimulus, the individual's state of alertness, and contextual factors. It can also be modulated by prior exposure to a weak prepulse shortly before the startling stimulus, a phenomenon known as prepulse inhibition (PPI). PPI reflects the brain's ability to filter out irrelevant or non-threatening sensory information, and is considered an important indicator of sensorimotor gating. In individuals with schizophrenia, both the startle response and prepulse inhibition are disrupted, which is believed to result from alterations in glutamatergic and dopaminergic neurotransmission. These deficits in sensorimotor gating may lead to sensory overload and the misinterpretation of sensory information. Here we describe a protocol to measure PPI in mice and rats using a startle chamber from Insight® (SP, Brazil).

MATERIALS

Protocol status: Working We use this protocol and it's working

Created: Mar 29, 2023

Last Modified: Jul 31, 2023

PROTOCOL integer ID: 79716

Software	
Monitor de Sobressalto para Ratos e Camundongos	NAME
Windows	OS
Insight Equipamentos Ltda	DEVELOPER

Equipment	
EP-175 Startle Sobressalto	NAME
Insight Equipamentos Ltda	BRAND
N/A	SKU
https://www.insightltda.com.br/produto/ep-175-startle-sobressalto/	LINK

BEFORE START INSTRUCTIONS

This is a step-by-step guide developed at PsychoLab to set up the software used to assess prepulse inhibition (PPI) of the acoustic startle reflex in mice or rats using the equipment acquired from Insight Equipamentos Ltda.

- Make sure that the speakers and ventilation of the apparatus are turned on;
- In our protocol, we did not use any light source inside the box;
- Read the entire protocol before starting.

Setting up the protocol

1 **To create a new protocol**, click on the logo in the upper left corner and select **"Edit"** and then **"Procedure"**.

	Procedimento	
104000	<u>G</u> rupos de Condicionamento	
Editar 🔸	Sessões Anteriores	
Janelas 🕨		
R <u>e</u> latorios≽		
<u>F</u> errament a s		
Sobre 🔸		

 To create a new prepulse protocol, select "Create a new procedure file starting with a standard PPI block" and name the protocol.



• If you already have a saved protocol file, select "Open an existent procedure file" and then select the file (*example.sbs*).



• Examples of complete procedure files can be found attached below.

Standard PPI.sbs 📄 Habituation.sbs

2 **To calibrate the background noise,** you need to first place the decibel meter inside the equipment, just above the accelerometer.



- It is essential to check if the decibel meter's battery is charged or new. A low battery can impact sound detection;
- Position the decibel meter on the accelerometer and adjust the detection range as necessary (range 30-80 dB for background noise; 80-130 dB for other measurements);



 In order to see the readings of the decibel meter, remove the lid of the equipment and close the door.





3 Select the speaker of the equipment to calibrate the background noise.

Confirmação de Ips		sitivos	
10.0.097	Mover Acima		- (n
	Mover A <u>b</u> aixo	unicação	INTENSIDADE Value (a
	Deletar	unicação com dispositivos ndamento	
	<u>O</u> k	or Aguardar	Value (%)
Certifique-se de que tode estejam devidamente sel	os os módulos de sobressalto ecionados. Clique em "OK".		
	,		D 🕛 🕑

The button to select the speaker is pointed by the red arrow. Speaker identification will be shown in the box "Confirmação de Ips" for selection.

Calibração;	 	oro Ruído de Fundo	
Comunicação com Módulos Calibração do Ruido de Fundo Calibração do Ruido Branco Calibração do Tom Puro Intensidade de Choque Silocos de Procedimentos Identificação do Experimento Calibração das Balanças Configurações da Sessão	Bloco 1 Ruído de Fundo	Caixa 1 - H	P: 10.0.0.97 • (R) INTENSIDADE 65 (dB) 7,84 (%) % 60 % 80 % 100 %
· · · · ·	Esta tela permite: Editar Bi Para facilitar a programa	ocos, Alterar Configurações do bloco se ção Cada Bloco de procedimento <i>está</i> 2	elecionado e testar os estímulos subdividido em um subintervalo

• The number beside "intensity" does not affect the sound range, it is merely decorative;

Etapa de Calibração Estímulo Sonoro	Ruído de Fundo	
🤌 Bloco 1	Estimulo Ligado	INTENSIDADE 65 (dB)
()	•	7,84 (%)
Ruido de Fundo	0 % 20 % 40	% 60 % 80 % 100 9

Adjust the intensity of the sound manually in the percentage bar and press play. Check the
decibel meter inside the equipment to see if the desired range is shown. If it is, click on the
next button. You can adjust the sound range with the buttons at the beginning and the end of
the percentage bar, or move it freely with the mouse by sliding the bar;

e• Etapa de Calibração Estimulo Sonoro	n Ruido de Fundo	
8 Bloco 1	Estimulo Ligado	INTENSIDADE 65 (dB)
Ruido de Fundo	20 % 20 % 40	7,84 (%) % 60 % 80 % 100 9

 You can adjust the percentage as many times as necessary. Click on the start button to see if the range shown in the decibel meter is right. For other stimuli, just repeat the process outlined in step 2 until you have set everything up <u>so to step #2</u>;

🤌 Bloco 1	Estimulo Ligado	INTENSIDADE 65 (dB)
(()	7,84 (%)
Ruido de Fundo	■ 0 % 20 % 40	% 60 % 80 % 100 %

- We advise you to take notes of the percentages shown in each stimulus. It will facilitate stimuli calibration.
- 4 After clicking next, set the percentage bar to zero in the next three parameters pulse, prepulse and shock, as we are first calibrating background noise. Click on the next button until you reach the Block Procedure Settings screen.

Novo 🔹 🕞 Histórico 🔹 🎯 📕		
Calibração:	Etapa de Calibração Estímulo Sonoro Pré-Pulso	
Comunicação com Módulos Calibração do Ruido de Fundo Calibração do Ruido Branco Calibração do Tom Puro Xintensidade de Choque Blocos de Procedimentos Identificação do Experimento Calibração das Balanças Configurações da Sessão	Bloco 1 Periodo Pré - Pulso	INTENSIDADE 85 (dB) FREQUENCIA 3000 (Hz) 0,00 (%) 20 % 40 % 60 % 80 % 100 %
K	Esta tela permite: Editar Blocos, Alterar Configuraç Para facilitar a programação Cada Bloco de proc	ões do bloco selecionado e testar os estímulos edimento está subdividido em um subintervalo

Calibração:	Cont	figurações d	e Blocc	os de l	Proced	imento	
 ✓ Comunicação com Módulos ✓ Calibração do Ruido de Fundo ✓ Calibração do Ruido Branco ✓ Calibração do Tom Puro ✓ Intensidade de Choque ➤ Blocos de Procedimentos 	Blocos de Procedimento Bloco 1	Configuração de	os estímulos PN	s/Duração PP	Períodos(n	ns) para o bl	oco Atual
Calibração das Balanças		Duração (ms) Ruído de Fundo	SU ®	20 🕞	20 🕞	© 00	
**	Nome do Bloco	Ruído Branco	m	E	E	V	
	Bloco 1	Tom Puro:	m	V	11	177	1
	Quantidade de Vezes	Choque:	10	E	E	17	
	Bloco de "Treino"	Luz:	m	E	1	E	E
	in bloco de meno			2	±:	Ø	H

5 In the left side of **Block Procedure Settings** screen, you will see a list entitled **Procedure Blocks** and the **Stimuli Settings** table at the center.

Blocos de Procedimento Bloco 1	Configuração do	os estímulos	s/Duração	Períodos(m	ns) para o bli	oco Atual
		PN	PP	IE	PS	IT
	Duração (ms)	50 🕃	20 🕃	20 🕃	50 🛞	50 🕃
	Ruído de Fundo	V	N.	N.	2	V
Nome do Bloco	Ruído Branco	m	E	E	7	E
no stim	Tom Puro:	17	V	E	17	E
Quantidade de Vezes	Choque:	m	E	E	177	
U	Luz:	10	E 1	E 1	E1	E

- This software uses the nomenclature blocks as stimuli, so you will see in the procedure block list the first block (stimulus) that we have already configured, the **background noise**.
- Just below this list, you can name the block (stimulus) and set how many times it will be

played. The name set here will be available when you export your data. As we have configured background noise, it could be named "no stim" or "bgd noise", for example.

Bloco 1	Configuração do	os estímulo:	s/Duração	Períodos(m	is) para o bli	oco Atual
		PN	PP	IE	PS	IT
	Duração (ms)	50 🛞	20 🕃	20 🕃	50 🕃	50 🕃
	Ruído de Fundo	N	V	N	2	7
Nome do Bloco	Ruído Branco	m	E	E	7	E
no stim	Tom Puro:	10	V	E1	171	E
Quantidade de Vezes	Choque:	m	10	E1	171	E1
U	Luz:	10	17	E1	E	E

 If the stimulus should be a training stimulus and not enter the analysis, you can go ahead and check the "training block" at the end of this column. This is especially relevant for protocols in which animals are acclimatized to stimuli at the beginning and at the end of the test.

Bloco 1	, Configuração do	os estímulos	:/Duração	Períodos(m	ns) para o bl	oco Atual
		PN	PP	IE	PS	IT
	Duração (ms)	50	20 🕃	20 🕃	50 🕃	50
-	Ruído de Fundo	N.	V	N	2	V
Nome do Bloco	Ruído Branco	m	E	E	7	E1.
no stim	Tom Puro:	m	V	E	E1	E1.
Quantidade de Vezes	Choque:	m	E	E	E1	E1.
U	Luz:	10	E 1	E1	10	E

6 To configure stimuli settings, go to the table and set the duration of each period in the first line according to your protocol. Each stimulus (Block) will have its own configuration regarding background noise, white noise, pure tone, shock and light (lines 2 through 6, respectively).

Blace 1	Configuração de	os estímulos	s/Duração	Períodos(m	is) para o bli	oco Atual
		PN	PP	IE	PS	IT
	Duração (ms)	50	20 🕃	20 🕃	50	50 🕃
	Ruído de Fundo	N.	V	2	V	V
Nome do Bloco	Ruído Branco	E	E	E	V	E
no stim	Tom Puro:	m	V	E	17	E
Quantidade de Vezes	Choque:	10	E	10	101	E
U	Luz:	10	17	E1	E1	E

Bloco 1	Configuração do	os estímulos	:/Duração	Períodos(m	ns) para o bl	oco Atual
		PN	PP	IE	PS	IT
	Duração (ms)	50 🕃	20 🕃	20 🕃	50 🕃	50 🕃
-	Ruído de Fundo	N.	V	V	2	7
Nome do Bloco	Ruído Branco	m	E	E	7	E
no stim	Tom Puro:	m	J	E	E1	E
Quantidade de Vezes	Choque:	m	E	E	E1	E
U	Luz:		51	5	5	- 61

Presentation settings

• You can find a more detailed explanation of the columns' abbreviations in the first icon on the left corner, just below the table.

Calib	ração: Con	ifigurações d	e Bloco	os de F	Proced	imento	0
Comu Calibr Calibr Calibr Inten: Blocos	egendas:	Configuração de	os estímulo PN	s/Duração PP	Períodos(r	ns) para o b PS	oco Atual
K Identi	PN: Período Nulo (Início da Coleta de Dados)	Duração (ms)	50 🕃	20 🕃	20 🕃	50 🕃	50 🕃
< Config	PP: Período Pré-Pulso - Estímulo de pré-pulso	Ruido de Fundo	N.	N.	W	50	W
	PS: Período da Partida - Estímulos	Ruido Branco	101	10	105 E	V	栖
	IT: Intervalo Fim da Tentativa	Tom Puro:	121	V	栖	西	問
		oque:	101	西	栖	西	西
			10	10	栖	西	175

 Background noise is typically present in all stimuli, so using it as an example, all the boxes in the background noise line should be checked so it is played in all periods of the trial;

Bloco 1	, Configuração do	os estímulos	s/Duração	Períodos(m	is) para o bli	oco Atual
		PN	PP	IE	PS	IT
	Duração (ms)	50 🕃	20 🕃	20 🕃	50 🕃	50 🕃
	Ruído de Fundo	V	V	V	V	V
Nome do Bloco	Ruído Branco	m	E	E	V	E1.
no stim	Tom Puro:	m	V	17	10	E1.
Quantidade de Vezes	Choque:	m	E	E	17	E1.
	Luz:	m	10	E1.	E1	E

For a pulse stimulus, for example, in addition to background noise checked in all periods, white noise should be checked in the PS column. For prepulse stimulus, pure tone should be checked in the PP column. Finally, for a prepulse + pulse stimulus, white noise should be checked in the PS column and pure tone in the PP column.

Bloco 1	, Configuração do	os estímulos	s/Duração	Períodos(m	is) para o bli	oco Atual
		PN	PP	IE	PS	IT
	Duração (ms)	50	20 🕃	20 🕃	50 🕃	50 🕃
	Ruído de Fundo	V	V	V	2	V
Nome do Bloco	Ruído Branco	m	E	E	7	E1.
no stim	Tom Puro:		V	E	17	E1.
Quantidade de Vezes	Choque:	m	E	E	E1	E1.
U	Luz:	10	101	E	10	E

• **Important!** Once you have corrected input the stimulus settings for each block, click on the checked box icon below the table, on the left side of the floppy disc icon. This will guarantee that your settings for that stimulus are applied and saved.

Bloco 1	Configuração do	os estímulos	:/Duração	Períodos(m	is) para o bli	oco Atual
		PN	PP	IE	PS	IT
	Duração (ms)	50 🕃	20 🕃	20 🕃	50	50 🕃
	Ruído de Fundo	v	V	2	2	2
Nome do Bloco	Ruído Branco	10	E	E	7	
no stim	Tom Puro:	10	V	E	10	
Quantidade de Vezes	Choque:	m	10	E 1	171	E
0	Luz:	17	17	E 1	E1	E

7 To create a new stimulus (hereby called "Block"), click on the "add PPI" icon, it is the second icon from left to right below the table, on the right side of the caption icon.



- A new block will be created and you will repeat the steps described in step 3, but this time, pulse and prepulse intensity should be set at the desired percentage according to your protocol. For more information on how to set a pulse or prepulse stimulus follow the steps below;
- For a prepulse stimulus, in addition to background noise, you will also set pure tone
 percentages in the prepulse period. Do not forget to adjust the decibel meter according to the
 range that you are configuring; you will set background noise and prepulse period with pure
 tone;

Novo 🔹 🕞 Histórico 🔹 🎯 📔			
Calibração:	💠 Etapa de Calibração Estímulo Sonoro P	iré-Pulso	
Comunicação com Módulos Calibração do Ruído de Fundo Calibração do Ruído Branco Calibração do Tom Puro Xintensidade de Choque Slocos de Procedimentos Identificação do Experimento Calibração dos Balanças Configurações da Sessão	Bloco 2 Período Pré - Pulso	Estimulo	INTENSIDADE 85 (d8) FREQUENCIA 3000 (Hz) 7,84 (%) 10% 60% 80% 100 0
۲ [] ۲	Esta tela permite: Editar Blocos, Para facilitar a programação	, Alterar Configurações do bloco Cada Bloco de procedimento <i>es</i>	o selecionado e testar os estímulos tá subdividido em um subintervalo

• For a **pulse stimulus**, you will set background noise and pulse period with white noise;

Calibração:	+0+ Etapa de Calibração Estímulo Sonor	o Pulso	
Comunicação com Módulos Calibração do Ruído de Fundo Calibração do Ruído Branco Calibração do Tom Puro Intensidade de Choque Blocos de Procedimentos Identificação do Experimento Calibração das Balanças Configurações da Sessão	Bloco 2 Período Pulso	Estimulo	INTENSIDADE 110 35,29 (%) % 60 % 80 % 100 9

 For a prepulse + pulse stimulus, background noise, pulse period and prepulse period should be set;

Bloco 1	, Configuração do	os estímulo:	s/Duração	Períodos(m	ıs) para o bli	oco Atual
		PN	PP	IE	PS	IT
	Duração (ms)	50 🕃	20 🕃	20 🕃	50 🕃	50 🕃
-	Ruído de Fundo	S.	V	V	~	2
Nome do Bloco	Ruído Branco	E	E	E	V	E
no stim	Tom Puro:	m	V	E	17	E1.
Quantidade de Vezes	Choque:	m	E	E	17	E1.
U	Luz:	10	E 1	E1.	5	E

 Do not forget to take notes of the percentages used - you can find the right percentage for each stimulus just once and then apply it to the rest of the combinations;

Etapa de Lanbração Estimulo Sonoro P	re-+0150	
Bloco 2 Período Pré - Pulso	Estimulo	INTENSIDADE 85 (db) FREQUENCIA 3000 (Hz)
		7,84 (%)
Tom Puro	1 € 20 %	40 % 60 % 80 % 100 %
		D 🕕 🕑

- You should create as many stimuli as needed, so, for example: if your protocol has 15 unique combinations of stimuli, you should create 15 blocks of PPI and calibrate them individually.
- 8 Once all stimuli are created, click on the floppy disk icon on the far right below the table.

Experiment identification window will open. The scale used by the equipment is number one. The data entered here will be exported in the results report, available at the end of each test.

De M	lovo 🔹 🔚 🗙	
≦ Ide	ntificação: 1	÷.,
ualiza	Identifica	ação do experimento (individual por Balanças)
ição		
	Selecionar Balança	Identificação do experimento (Individual por Balança)
	Balanca 01	Pesquisador:
	Balança 02	Jane Doe
	Balança 03 Balanca 04	Título Sujeito:
	-Balança 05	PPI experiment [A1
	Balança 06 Balança 07	Cobala (Espècie) Droga: Peso: Balança:
	Balança 08	Procedimento: Observação:

- Always take note of the identification number, just above the experiment identification headline. The equipment storages up to 100 subjects' data. If, for example, you are starting your test at ID 93 and will test ten subjects, the equipment will automatically count subsequent subjects in crescent order, but it would replace ID 100 three times since you have 10 subjects and only 7 data spots. In cases when ID spots are insufficient, you should reset ID count.
- Resetting ID count will not erase previous data. To do that, click on "Reports" on the main screen. The data bank window will pop up.



 Be aware that this action will not erase previous data, but can not be undone. If you are sure, click on the penultimate icon on the top bar and the ID count will be reset. The data filling here works as a complement to better identify your subject, although we advise you to at least identify yourself (researcher) and the subject, it is not necessary to the test that you fill this part. When finished, click on the floppy disk icon on the left-up corner to save and **exit the window**.



9 Scale calibration is an important step to ensure that data collection of startle responses is accurate. First, remove the decibel meter from the scale if it is still inside the chamber. At the beginning of the test, you will click on the option "No, scale calibration presents considerable errors. Repeat scale calibration process now".

Calibração:			Calib	oração	o das	Balan	iças			
Comunicação com Módulos	Valor Iido das Banlaças - (g)									
Calibração do Ruído Branco Calibração do Tom Puro	Balança:	01	02	03	04	05	06	07	08	
Blocos de Procedimentos	Valor Lido (g):	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
Identificação do Experimento Calibração das Balanças Configurações da Sessão	Eno (%):	-0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
		Stat	us de	Contro	le das	Balang	ças:			
	Coloque o peso padrão Caso qualquer uma das A calibração atual está	em cada Balança Satisfató	i balança is apresei ría??	para cert nte um err	ificar-se d o significa	e que a c Itivo, será	alibração necessái	atual está rio recalibi	a coerente ar as Balanças.	
	Sim, a calibração atual	está satis	fatória. E	xecutar o	póximo p	asso.				

- Follow the process shown in the new window. It is recommended to use clean and dry gloves when handling the 50-gram weight. The scale calibration weight can be found within the apparatus;
- After completing the process, check whether the scale accurately displays the weight of 50g and if it resets to zero when the weight is removed;
- You can calibrate the scale at the beginning of the tests and then watch carefully in every session if the measuring is consistently accurate (i.e, resetting to zero without fluctuations). If it is, you do not need to calibrate the scale again;
- After finishing scale calibration, you should click on "Yes, current scale calibration is satisfactory. Execute the next step".
- **10** Session configuration is where you will create stimuli presentation order, which will be exactly the same in all sessions. In the **procedure blocks column**, you will see the previously created blocks (stimuli) just above the "Habituation with background noise on" box.

L 2 3	- 17 - 18 - 19	Tempo de Habituação 00:02:00
5	-5	Intervalo entre Tentativas
7	-4	00:00:15 Desvio Padrão
)		00:00:05
Habituação com	RF Ligado Qtd. Tentativas:	Randomizar intervalo:
r ti ti	<u> 브 브 달 중 수 수</u>	33,333 %

If you want the habituation period to have background noise on (standard background noise, not configurable) check the box below the first column. If you do not have a habituation period foreseen in your protocol or prefer silence, you should leave the box unchecked;

nocos de proced	aimentos Sequencia de Execuça	to Lonngurações da Sessão
2	1/	Tempo de Habituação
3	≡19	00:02:00
5		Intervalo entre Tentativas
6		00:00:15
8		Desvio Padrão
9		00:00:05
Habituação com	RF Ligado Qtd. Tentativas:	38 Randomizar intervalo:
ti 📬 👬	🛄 🛄 🐮 🌹 🛧 🗣	33,333 %
ATENC	δη·	

To configure the session, you will transfer the blocks (stimuli) from the procedure blocks column to the execution session column. To do that, you can select the block(s) and press "Export selected blocks", which is the fourth icon below the first column. This will transfer blocks in the same order as they are seen in the first column. To transfer a single block to the second column you can use the third icon, and to delete a block from the second column, press the second icon below the first column;

Bocos de Procedimentos	Sequencia de Execução	Configurações da Sessão
1	17	Tempo de Habituação
3	- 19	00:02:00
5	5	Intervalo entre Tentativas
6 7	-3	00:00:15
8	- 8 -	Desvio Padrão
9		00:00:05
Habituação com RF Ligado	Qtd. Tentativas: 38	Randomizar intervalo:
¥ # # #		33,333 %
ATENÇÃO:		

• You can also **transfer blocks randomly**, using "Export blocks randomly", the fifth icon below the first column;

	18	Tempo de Habituação
E	- 19	00:02:00
	5	Intervalo entre Tentativas
	-3	00:00:15
	-8	Desvio Padrão
· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		00:00:05
Habituação com RF Ligado	Qtd. Tentativas: 38	Randomizar intervalo:
* =: =: <u>=</u> =	1	33,333 %

• Please note that blocks will be exported accordingly to the configuration performed in step 5

E) go to step #5, so **if the block was set to be repeated 10 times, it will be exported 10 times** (orderly or randomly, depending on which exporting icon you choose);

To move blocks in the second column, use the arrows below the execution session column, as necessary. To delete selected blocks in the second column, use the icon on the left side of the up arrow. To delete all blocks in the second column, use the first icon below the column.

1	<u>_</u>	-17	Tempo de Habituação
3		- 18	00:02:00
4 5 5 7		-5 -3 -4	Intervalo entre Tentativas 00:00:15
, ,	*		Desvio Padrao 00:00:05
Habituação cor	n RF Ligado	Qtd. Tentativas: 38	Randomizar intervalo: 33,333 %

 Lastly, to conclude the session configuration, are the parameters shown in the far right column - habituation period, time between trials and standard deviation. You should fill in these parameters accordingly to your protocol. To finish the session configuration, click on the floppy disk icon and click on the "Execute procedure file now" in the new window that will pop up.

tuação com RF	Eligado Qto	17 18 19 5 3 4 8 4 8 1 17 17 17 17 19 5 3 4 8 18 19 5 3 4 8 18 19 5 3 4 8 18 19 5 3 4 8 19 5 3 4 8 19 5 3 4 8 19 5 3 4 8 19 5 3 4 19 5 19 5 19 5 19 5 19 5 19 5 	38	Tempo de Habitu 00:02:00 Intervalo entre T 00:00:15 Desvio Padrão 00:00:05 Randomizar inter 33,333 %	ação entativas valo:
Jação com RF	TLigado Qto		- 38	otervaio entre 1 00:00:15 Desvio Padrão 00:00:05 Randomizar inter 33,333 %	valo

Status da Calibração:	
>> Executar Arquivo omitindo todas as etapas de Calibração	
>> Salvar Configurações atuais em um novo arquivo de procedimentos	
>> Executar o arquivo de procedimentos agora	
>> Converter Para Planilha - Excel	
)

11 Adjust scale gain by clicking on the left inferior tab of the main screen. Accordingly to the manufacturer, scale gain should be as described below.

						G	anhos	s das	s Bala	ança	S				
Balanc	a 1 Bal	anca 2	Balar	nca 3	Balanc	-a 4 F	lalanca '	5 Rala	anca 6	Balar	nca 7	Balar	nca 8		
1	1		1		1	8	1	3 1		1		1			

- For mice, scale gain should be set to 1;
- For rats weighing up to 200 g, scale gain should be set to 2;
- For rats over 200 g, scale gain should be set to 3.

Running the protocol

12 To start the test, put the subject in the apparatus and place it just above the scale. Make sure the lid is on and close the door. Then, click on the play icon tab, on the upper left side of the screen. A new window will open so you can choose where the summary results should be saved. After choosing where the summary results should be saved the test will start **automatically**.

6	👔 🚵 🔒 📔 🗙 🗧 🛛 Insight	Equipamentos - Monitor de Sobressalto - SysLabTool – 🗖	×
	y		0
	🕑 Histórico 🔹 👷 🖌 🕌	💿 🔖 🎯 🙁 🗖 Apresentar grupos de Condicionamento	
Apresentação dos Estímulos		Iniciar Seção Inicia a seção atual obedecendo as configurações de protocolo bem como as configurações de grupo de condicionamento caso existam. Pressione "F1" para mais Informações	Diagrama de Tempo Respo
Respostas Sobre			ostas SS (Gráfico)
ssalto			Monitor Eventos

 If you set a habituation period, a new window will open and you should see the habituation countdown;

	🗿 🖻 🖄 🛱 🏹 🔻 Insight Equipamentos - Monitor de Sobressalto - SysLabTool	-	×
	🔗 Histórico 🗸 🧟 🖌 📔 🔞 🗞 🔗 🔞 🗖 Apresentar grupos de Condicionamento		
Apresentação dos Estímulos F	Tempo de Habituação Tempo de Habituação: 00:02:00		Diagrama de Tempo Resposta
Respostas Sobressalto	>> Processando tempo de Habituação >> Favor Aguardar >>Tempo Decorrido: 00:00:02		as SS (Gráfico) Monitor
			Eventos

 When the habituation period is finished or if your protocol does not have habituation, the test will start;

		Status	Experiment	2	
Fentativa:	004	Intervalo entre Tentativas	00:00:18	Tempo Restante (Int	ervalo)00;00;00
Status (Tentativa):	None	Status (Experimento);	Ativo	Status (Bloco)	Intervalo
tus (Tentativa);	None	Status (Experimento):	Ativo	Status (Bloco)	Intervalo

• After all trials run, the session will be finished and a window will pop up notifying you. During the test, you can click on any tabs on the main window to see the parameters collected.



13 When the procedure is finished, a new window will pop up. Click on "OK".

- To start a new test, place a new subject in the apparatus and click on the play button;
- There is no need to configure the protocol again, as the previous configurations are already saved;
- If the software displays an error message, close it and open it again. Open the protocol
 previously calibrated. There is no need to redo the calibration steps, you can use the same
 calibration parameters already saved. To do that, click next in the steps until you reach the
 last screen displayed on step 10. Click on the play button and start your test.

(1	📄 🖻 🖄 🗟 🏹 🔻 Insight Equipamentos - Monitor de Sobressalto - SysLabTool —	×
- Inne	💛 Histórico 🗸 😨 - 📙 🔘 🗞 🧭 🛞 🗖 Apresentar grupos de Condicionamento	69
Apresentação dos Estímulos Respostas Sobressalto	Monitor de Sobress K Procedimento Finalizado OK	Diagrama de Tempo Respostas SS (Gráfico) Monitor Eventos



Retrieving the data

14 When the test is finished or at any given moment that there is not a session in course, you can export full reports by clicking on "**Reports**" on the main screen. A new window will open, and you will see numerous data filters available.

	🖬 🖹 🗙 👎	Insight Equipamentos - Monitor de Sobressalto - SysLabTool	/=	X
Comano	los Configurações	Suporte		0
Abrir				
Salvar Come				
📔 Relatórios 🚽				
Arquivo				

You can use the parameters input in step 8 <u>so go to step #8</u> to filter your data. We find date filters to be the more reliable parameters, but feel free to use as many filters as you find necessary;

Filtros de Pesquisa>>> Filtros em branco são automáticamente ignorados pelo software							
Balança:	Datas:	Hora:	Outros	Adicio	nar os seguintes Campos no relati	ório:	
		_	Drama	- Obser	rvacao	•	
Valor Inicial	Valor Inicial	Valor Inicial	Sujeito:	▼ Ident Balan	ificação Iça Número Ista Basilius	^	
Valor Final:	03/05/2023	Valor Final:	Pesquisadores:	✓ Ampli Ampli	tude Pico Positivo tude Pico Negativo		
-			 Identificação: 	 Ampli Ampli Ampli Ampli 	tude Pico a Pico tude Pico Positivo Médio tude Pico Negativo Médio	T	
	uica por tentativas		Craspaiter pasquies per blocc	re de procedimentos	w = + = a	Pesquisar>>	
w organizar pesq	uisa por teritativas		organaizar pesquisa por bioco	is de procedimentos	ac – – v cso	Coddigo, >>	

 Once the desired data is displayed in the bottom half of the screen, you should click on one of the three icons in the top left of the screen - you can export data in .xls, .doc or .txt. This is the raw data.

Filtrar Pesquisa Filtros de Pesquisa>>> Filtros em branco são automáticamente ignorados pelo software							
-	Balanca:	Datas:	Hora:	Outros		Adicionar os seguintes Campos no relatório:	
	Calarigan	bullor,	110100			Observação	•
	Valor Inicial	Valor Inicial	Valor Inicial	Drogas:		Identificação	
		03/05/2023	-	Sujeito:		Balança Número Amplitude Pico Positivo	
	Valor Final:	03/05/2023	J Valor Final:	Pesquisadores:	*	Amplitude Pico Negativo Amplitude Pico à Pico	
			· · · ·	Identificação:	•	Amplitude Pico Positivo Médio Amplitude Pico Negativo Médio	-
	R Construction in					1 1/1 - A A D December	
	 Organizar pesquis 	a por tentativas		Organaizar pesquisa por biocos	de procedimentos	tesquise	

Data analysis

- **15** Data will be presented as arbitrary units. Important outcomes to be analyzed are the reactivity (startle) to all pulse and prepulse intensities and then prepulse inhibition for each combination, calculated as follow:
 - For pulse and prepulse reactivity, use the mean value of each stimulus. For example, if pulse 100 dB was presented 10 times, you should use these 10 stimuli presentation values to discover pulse 100 dB reactivity value;

- For prepulse inhibition for each combination, use (pulse alone prepulse + pulse) / pulse alone
 * 100. For example, if you want to calculate the PPI percentage for prepulse 71 dB combined with pulse 100 dB (pp71p100), you would use (p100 pp71p100)/p100 * 100;
- Finally, for % mean PPI, use the mean value of all %PPI calculated for each combination of stimulus.